

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOTECNIA

TESE

**Diversidade morfológica e propagação *in vitro* de
gérberas a partir de folha peciolada**

Tarcisio Rangel do Couto

2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E PROPAGAÇÃO *IN VITRO*
DE GÉRBERAS A PARTIR DE FOLHA PECIOLADA**

TARCISIO RANGEL DO COUTO

Sob a orientação do Professor
João Sebastião de Paula Araujo

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em
Fitotecnia**, no Curso de Pós-
Graduação em Fitotecnia, área de
Concentração em Produção Vegetal

Seropédica, RJ
Junho de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C871d Couto, Tarcisio Rangel do , 1987-
Diversidade morfológica e propagação in vitro de
gérberas a partir de folha peciolada / Tarcisio
Rangel do Couto. - 2018.
160 f. : il.

Orientador: João Sebastião de Paula Araujo.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Fitotecnia, 2018.

1. Gerbera jamesonii Bolus Ex. Hook.. 2.
Fitorregulador. 3. Recurso genético vegetal. I.
Araujo, João Sebastião de Paula , 1969-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Fitotecnia III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

TARCISIO RANGEL DO COUTO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Fitotecnia, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de Concentração em Produção Vegetal.

TESE APROVADA EM 25/06/2018.

João Sebastião de Paula Araujo. D.Sc., UFRRJ
(Orientador)

Ricardo Motta Miranda. Ph.D., UFRRJ

Pedro Correa Damasceno Júnior. D.Sc., UFRRJ

Cleiton Mateus Sousa. D.Sc., IF Goiano - Campus Ceres

Virginia Silva Carvalho. D.Sc., UENF

Dedico e ofereço aos meus
queridos pais Dalva e Antonio
Tarcisio e a minha amada esposa
Ana Sílvia.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Pai, Filho e Espírito Santo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ e ao Instituto de Agronomia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia e ao seu corpo docente e técnico-administrativo.

Ao Departamento de Fitotecnia e ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais - LCTV.

À Universidade Federal Fluminense - UFF pela liberação parcial para realização do doutorado e pelo auxílio financeiro (Programa de Qualificação - PQUFF 2014 e 2016).

Aos meus pais, Dalva e Antonio Tarcisio, que sempre me apoiaram e me incentivaram.

À minha esposa Ana Sílvia Boroni, pelo amor, apoio, incentivo e paciência. Pelas ajudas em momentos difíceis, por sempre acreditar em mim e por ser meu porto seguro.

A toda a minha família, pela compreensão e incentivo.

Ao prof. João Araujo, pela parceria, orientação e confiança.

Aos floricultores da região serrana do RJ que doaram os genótipos de gérbera para realização desta pesquisa e ao João Paulo Aguilar que auxiliou nas coletas, incentivo e apoio.

Aos amigos de trabalho do NAL/UFF pelo apoio e incentivo.

Aos amigos de república, Arnaldo de Sá e Eduardo Cordeiro, pela boa convivência e amizade.

A todos os colegas do LCTV que me ajudaram na montagem e avaliações dos experimentos.

Aos colegas da Pós-Graduação em Fitotecnia e Ciência dos Solos da UFRRJ.

Aos colegas do alojamento masculino da pós-graduação da UFRRJ, pela boa convivência.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, pela excelente formação que me proporcionou durante a graduação e mestrado e ao seu corpo docente.

Ao prof. Pedro Damasceno, por ter contribuído para essa pesquisa como membro da banca de qualificação e defesa final de doutorado, por ter me ensinado a utilizar o software R e por ter aceitado fazer parte desta banca.

Ao Prof. Ricardo Miranda, por ter contribuído para essa pesquisa como membro da banca de qualificação e defesa final de doutorado e por ter aceitado fazer parte desta banca.

À Prof.^a Virginia Carvalho, pela orientação durante a iniciação científica e mestrado, por ter aceitado fazer parte desta banca e pelas sugestões para melhoria da tese.

Ao prof. Cleiton Sousa, por ter aceitado fazer parte desta banca e pelas sugestões para melhoria da tese.

Enfim, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse alcançar essa etapa da minha vida.

RESUMO GERAL

COUTO, Tarcisio Rangel do. **Diversidade morfológica e propagação *in vitro* de gérberras a partir de folha peciolada**. 2018. 160p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

A gérberra é uma das mais importantes flores de corte comercializadas no mundo, ocupando o quinto lugar entre as flores neste ranking. As cultivares modernas de gérberra apresentam grande variedade de cores e formas da flor em decorrência do melhoramento genético, que iniciou com o cruzamento de duas espécies sul-africanas, *Gerbera jamesonii* e *Gerbera viridifolia*, originando a *Gerbera hybrida*. A forma de propagação comercial mais utilizada para esta espécie é a micropropagação, pois produz grande quantidade de mudas de forma mais rápida que a natural. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a diversidade de genótipos de gérberra com base em descritores morfológicos; estabelecer um protocolo de micropropagação de genótipos de gérberra a partir de folha peciolada e otimizar a melhor relação do balanço hormonal auxina/citocinina para multiplicação de genótipos de gérberra. Para tanto foi feita avaliação da diversidade de 14 matrizes de gérberras com base em descritores morfológicos de folhas e flores. Foi realizado o protocolo de micropropagação dos genótipos, dispendo de dois experimentos. No primeiro foi desenvolvido um protocolo compreendendo todas as fases da micropropagação, posto que: no estabelecimento *in vitro* utilizou-se folhas com pecíolo como explante; na multiplicação foram testados diferentes concentrações de BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido naftaleno acético); no enraizamento *in vitro* foram testados diferentes níveis de ANA, concentrações de sacarose e meio de cultura MS, bem como analisado o enraizamento dos genótipos nos meios MS e B&G[®] e a aclimatização. Já no segundo experimento de micropropagação, foi otimizado o balanço hormonal auxina/citocinina dos genótipos por meio de diferentes concentrações de BAP e ANA. Diante dos resultados, observou-se a formação de quatro grupos de genótipos quando testada a distância Euclidiana e Mahalanobis para dados quantitativos, e sete grupos no algoritmo de Gower quando as características qualitativas e quantitativas foram analisadas conjuntamente. A análise de componentes principais identificou que o descritor quantitativo referente à largura da flor ligulada do raio externo o que menos contribuiu para a diversidade. Constatou-se diferenças entre os genótipos para o número de brotações produzidas no final da fase de multiplicação *in vitro*. No enraizamento foi verificado que o meio MS completo, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e ausência de ANA, proporcionou a obtenção de mudas de maior tamanho e com melhor enraizamento. Também foi visto que o meio de cultura B&G[®] proporcionou melhores respostas para enraizamento e tamanho das mudas e, na fase de aclimatização, a taxa de sobrevivência dos genótipos foi alta. Por fim, a avaliação do balanço hormonal indicou a concentração ideal de BAP e ANA para cada genótipo de gérberra referente às variáveis número de brotos por explante e comprimento médio dos brotos. Neste contexto, foi possível estimar a diversidade morfológica da coleção de gérberras da UFRRJ e estabelecer um protocolo de micropropagação de genótipos de gérberra a partir de folha peciolada.

Palavras-chave: *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook, fitorregulador, recurso genético vegetal.

GENERAL ABSTRACT

COUTO, Tarcisio Rangel do. **Morphological diversity and gerberas *in vitro* propagation from petiole leaf**. 2018. 160p. Thesis (Doctor Science in Plant Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Gerbera is one of the most important cut flowers commercialized in the world, occupying the fifth place among the flowers in this ranking. The modern gerbera varieties present variety of colors and flower shapes due to genetic improvement, which began with the crossing two South African species, *Gerbera jamesonii* and *Gerbera viridifolia*, originating *Gerbera hybrida*. Micropropagation is the most common form of commercial propagation for this specie, because produces a large quantity of seedlings faster than natural. The objective of this research was to evaluate the diversity of gerbera genotypes based on morphological descriptors; establish a micropropagation of gerbera genotypes from the petiolate leaf and optimize the best hormonal balance auxin/cytokinin for the multiplication of gerbera genotypes. For both the diversity of assessment was made 14 gerberas arrays based on morphological descriptors leaves and flowers. Micropropagation of the genotypes was also carried out, with two experiments. In the first one was developed a micropropagation protocol, since: *in vitro* establishment used leaves with petiole as explant; on multiplication, diferente BAP (6-benzylaminopurine) and ANA (naphthalene acetic acid) concentrations were tested; *in vitro* rooting diferente ANA levels, sucrose concentrations and MS culture medium were tested, as well as the rooting of the genotypes in MS and B&G[®] media and acclimatization were analyzed. In the second micropropagation experiment, hormonal balance auxin/cytokine of the genotypes was optimized through different BAP and ANA concentrations. Considering the results, was observed the formation of four genotype groups when tested at Euclidian and Mahalanobis distance for quantitative data, and seven groups in Gower algorithm when the qualitative and quantitative data were analyzed jointly. The principal component analysis identified that the quantitative descriptor referring to the width of the ligated flower of the external radius which contributed least to the diversity. Differences were observed among genotypes for the number of shoots produced *in vitro* multiplication. On rooting was verified that the complete MS medium supplemented with 30 g L⁻¹ sucrose and absence ANA, provided the obtaining bigger and better rooted seedlings. Was also observed that the B&G[®] culture medium provided better responses to rooting and seedling size and in the acclimatization, the genotype survival rate was high. Finally, hormonal balance evaluation indicated ideal BAP and ANA concentration for each gerbera genotype related to the number of shoots per explant and mean length of shoots. In this context, was possible to estimate the morphological diversity of the gerbera UFRRJ collection and establish a gerbera genotypes micropropagation protocol from the petiole leaf.

Keywords: *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook, growth regulator, plant genetic resource.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	Pág.
Tabela 1. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização da coleção de 14 genótipos de <i>Gerbera</i> sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018	23
Tabela 2. Componentes principais (CP), autovalores (λ_i) e porcentagem da variância explicada pelos componentes (% VCP) das características quantitativas	34
Tabela 3. Coeficientes dos 9 componentes principais	34
 CAPÍTULO II	
Tabela 1. Análise de variância para a número de brotações obtidas após oito subcultivos (fase de multiplicação) de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	46
Tabela 2. Resumo da interação Genótipo x BAP para o número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	48
Tabela 3. Resumo da interação Genótipo x ANA para o número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	48
Tabela 4. Resumo da interação BAP x ANA para o número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	49
Tabela 5. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa da matéria fresca (MF) do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> , Seropédica/RJ, 2018	54
Tabela 6. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa da matéria fresca (MF) do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> , Seropédica/RJ, 2018	55
Tabela 7. Resumo da interação ANA x meio para o número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018.	56
Tabela 8. Resumo da interação meio x sacarose para o número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018	57
Tabela 9. Resumo da interação ANA x meio para a massa da matéria fresca obtida após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018	58

Tabela 10. Resumo da interação ANA x sacarose para a massa da matéria fresca obtida após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018	58
Tabela 11. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa da matéria fresca (MF) do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> , Seropédica/RJ, 2018	59
Tabela 12. Resumo da interação ANA x sacarose para a número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018	59
Tabela 13. Resumo da interação meio x sacarose para a número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018	60
Tabela 14. Resumo da interação ANA x sacarose para a número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018	60
Tabela 15. Resumo da interação meio x sacarose para a número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018	61
Tabela 16. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa fresca (MF) do genótipo ‘Igor’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> , Seropédica/RJ, 2018	62
Tabela 17. Resumo da interação ANA x sacarose para a número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> do genótipo ‘Igor’, Seropédica/RJ, 2018	63
Tabela 18. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR), número de brotações (NB) e massa da matéria fresca (MF) dos genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA, GR e GL, após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> , Seropédica/RJ, 2018	65
Tabela 19. Resumo da interação genótipo x meio para a número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	66
Tabela 20. Resumo da interação genótipo x meio para a número de brotações obtidas após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	66
Tabela 21. Resumo da interação genótipo x meio para massa da matéria fresca (g) obtida após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	67
Tabela 22. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de brotações (NB) e massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA), volume de raiz (VR), massa da matéria seca de raiz (MSR), massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca total (MST) dos sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização, Seropédica/RJ, 2018	71

CAPÍTULO III

Tabela 1. Resumo da análise de variância para a número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio dos brotos (CMB) de sete genótipos de gérbera após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de BAP e ANA, Seropédica/RJ, 2018	80
Tabela 2. Resumo da interação genótipo x BAP para número de brotos por explante (NBE) obtido após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	81
Tabela 3. Resumo da interação genótipo x ANA para número de brotos por explante (NBE) obtido após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	82
Tabela 4. Resumo da interação BAP x ANA para número de brotos por explante (NBE) obtido após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	82
Tabela 5. Resumo da interação genótipo x BAP para comprimento médio do broto (CMB) obtido após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	86
Tabela 6. Resumo da interação genótipo x ANA para comprimento médio do broto (CMB) obtido após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018	87
Tabela 7. Resumo da interação BAP x ANA para comprimento médio do broto obtido (CMB) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.	87

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	Pág.
Figura 1. Morfologia e características do capítulo floral de gérbera. Fonte: MAPA/RNC.	27
Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 14 genótipos de gérbera, gerado com o método de agrupamento UPGMA com base na distância Euclidiana média padronizada, a partir de características quantitativas de folhas e flores	29
Figura 3. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 14 genótipos de gérbera, gerado com o método de agrupamento UPGMA com base na distância generalizada de Mahalanobis, a partir de características quantitativas de folhas e flores	30
Figura 4. Dendrograma de dissimilaridades genética entre 14 genótipos de gérbera, gerado com o método de agrupamento UPGMA com base no algoritmo de Gower, a partir de caracteres qualitativos e quantitativos de folhas e flores	31
Figura 5. Dispersão gráfica dos escores em relação aos eixos representativos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2), de nove caracteres quantitativos em 14 genótipos de gérbera	35
Figura 6. Coleção de genótipos de gérbera da UFRRJ. (A) ‘Pacific’, (B) ‘Igloo’, (C) ‘Igor’, (D) ‘Mephisto’, (E) ‘Lionela’, (F) ‘Orca’, (G) ‘Kozak’, (H) ‘Orange Dino’, (I) GA1, (J) GA2, (K) GR1, (L) GR2, (M) GL1, (N) GL2	37
CAPÍTULO II	
Figura 1. Explante folha peciolada utilizada no estabelecimento <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera. Seropédica/RJ, 2018	41
Figura 2. Temperatura (A) e umidade relativa (B) máxima, média e mínima da sala de crescimento durante o cultivo <i>in vitro</i> de genótipos de gérbera. Os pontos das curvas representam a média semanal ao longo do tempo	42
Figura 3. Explante folha peciolada com resposta morfogênica após 30 dias de estabelecimento <i>in vitro</i> . Seropédica/RJ, 2018	45
Figura 4. Número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera	46
Figura 5. Número de brotações obtidas com as concentrações de BAP após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera	47
Figura 6. Número de brotações obtidas com as concentrações de ANA após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera	47

Figura 7. Resposta morfológica de formação de calos na combinação BAP + ANA nos genótipos de gérbera estudados. (A), (B), (C) e (E) resposta da combinação 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. (D) resposta da combinação 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	49
Figura 8. Resposta morfológica de formação de calos na combinação BAP + ANA nos genótipos de gérbera estudados. (A), (B), (C) e (E) resposta da combinação 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. (D) resposta da combinação 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	51
Figura 9. Número de brotações obtidas em cada genótipo de acordo com a combinação BAP + ANA, após oito subcultivos da fase de multiplicação <i>in vitro</i> de sete genótipos de gérbera	52
Figura 10. Número de Folhas de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de ANA e sacarose	55
Figura 11. Número de Folhas de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> de acordo com a interação significativa entre ANA x meio x sacarose	56
Figura 12. Número de Folhas e Massa Fresca de mudas de gérbera ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de sacarose	56
Figura 13. Massa da matéria fresca de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de ANA	57
Figura 14. Massa da matéria fresca de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de sacarose	57
Figura 15. Número de Folhas de mudas do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de ANA e sacarose	59
Figura 16. Número de raízes de mudas do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de sacarose	60
Figura 17. Massa da matéria fresca de mudas do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de sacarose	61
Figura 18. Número de raízes de mudas do genótipo ‘Igor’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de ANA e meio MS	62
Figura 19. Massa da matéria fresca de mudas de genótipo ‘Igor’ após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de MS e sacarose	63
Figura 20. Mudas dos genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em meio MS (100%) e 30 g L^{-1} de sacarose: (A) 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA, (B) 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA e (C) ausência de ANA	64

Figura 21. Número de folhas de mudas de sete genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes tipos de meio de cultura	65
Figura 22. Número de brotações de mudas de sete genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em diferentes tipos de meio de cultura	66
Figura 23. Mudas dos genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento <i>in vitro</i> em meio MS e B&G® Orquídeas. Da esquerda para direita os genótipos: ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA, GR e GL	68
Figura 24. Médias e erro padrão da porcentagem de sobrevivência de mudas dos genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’ e ‘Igor’ após 90 dias de aclimatização	69
Figura 25. Médias e erro padrão da porcentagem de sobrevivência de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização	69
Figura 26. Volume de raiz de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização	71
Figura 27. Massa da matéria fresca da parte aérea de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização	72
Figura 28. Massa da matéria seca da parte aérea (A) e total (B) de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização	72
Figura 29. Fases da micropropagação de gérbera. (A) Folha peciolada usada como explante; (B) Explante após 30 dias de estabelecimento <i>in vitro</i> ; (C), (D) e (E) Brotações na fase de multiplicação <i>in vitro</i> ; (F) Muda enraizada <i>in vitro</i> ; (G) Mudas em bandeja na aclimatização e (H) Muda aos 90 dias de aclimatização	74

CAPÍTULO III

Figura 1. Temperatura (A) e umidade relativa (B) máxima, média e mínima da sala de crescimento durante oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> . Os pontos das curvas representam a média diária ao longo do tempo	79
Figura 2. Média do número de brotos por explante (NBE) nos fatores genótipo (A), BAP, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B) e ANA, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C), obtidos após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	80
Figura 3. Número de brotos por explante (NBE) dos sete genótipos de gérbera nas diferentes combinações de BAP e ANA significativos, obtidos após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	83
Figura 4. Comprimento Médio do Broto (CMB) nos fatores BAP, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (A) e ANA, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B), obtido após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	86

Figura 5. Comprimento Médio do Broto (CMB) dos sete genótipos de gérbera nas diferentes combinações de BAP e ANA significativos, obtidos após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	88
Figura 6. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio do broto (CMB) do genótipo ‘Pacific’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxinas (B e D) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	90
Figura 7. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo ‘Igloo’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxina (B) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	91
Figura 8. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo ‘Igor’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxina (B) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	92
Figura 9. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo ‘Mephisto’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxina (B) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	93
Figura 10. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo GA submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxinas (B e D) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	94
Figura 11. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo GR submetida a diferentes níveis de citocininas (A e B) e auxina (C) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	95
Figura 12. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo GL submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxinas (B e D) após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i>	96
Figura 13. Concentração BAP+ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$) na micropropagação do genótipo ‘Pacific’ após oito semanas de cultivo <i>in vitro</i> . (A) 0,0+0,0; (B) 0,0+1,34; (C) 0,0+2,68; (D) 0,0+5,36; (E) 2,22+0,0; (F) 2,22+1,34; (G) 2,22+2,68; (H) 2,22+5,36; (I) 4,44+0,0; (J) 4,44+1,34; (K) 4,44+2,68; (L) 4,44+5,36; (M) 8,88+0,0; (N) 8,88+1,34; (O) 8,88+2,68; (P) 8,88+5,36; (Q) 17,76+0,0; (R) 17,76+1,34; (S) 17,76+2,68; (T) 17,76+5,36	98

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Floricultura brasileira.....	3
2.2 Floricultura no Rio de Janeiro.....	5
2.3 A cultura da gérbera.....	7
2.4 Micropropagação	10
2.5 Micropropagação de gérbera.....	12
2.6 Diversidade genética e análise multivariada.....	14
2.6.1 Distância Euclidiana.....	16
2.6.2 Distância de Mahalanobis.....	16
2.6.3 Algoritmo de Gower.....	17
2.6.4 Componentes principais.....	18
3 CAPÍTULO I. DIVERSIDADE DE GENÓTIPOS DE GÉRBERA COM BASE EM DESCRITORES MORFOLÓGICOS DE FOLHAS E FLORES	20
RESUMO.....	20
ABSTRACT.....	20
3.1 Introdução.....	21
3.2 Material e métodos.....	22
3.3 Resultados e discussão.....	29
3.4 Conclusões.....	38
4 CAPÍTULO II. PROTOCOLO DE MICROPROPAGAÇÃO DE GENÓTIPOS DE GÉRBERA A PARTIR DE FOLHA PECIOLADA: INOVAÇÃO TECNOLÓGICA	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	39
4.1 Introdução.....	40
4.2 Material e métodos.....	40
4.2.1 Estabelecimento <i>in vitro</i> dos explantes.....	41
4.2.2 Multiplicação <i>in vitro</i> dos explantes.....	42
4.2.3 Enraizamento <i>in vitro</i> das brotações.....	43

4.2.3.1 Experimento 1.....	43
4.2.3.2 Experimento 2.....	43
4.2.4 Aclimatização das mudas.....	44
4.2.5 Análises estatísticas.....	44
4.3 Resultados e discussão.....	45
4.3.1 Estabelecimento <i>in vitro</i> dos explantes.....	45
4.3.2 Multiplicação <i>in vitro</i> dos explantes.....	45
4.3.3 Enraizamento <i>in vitro</i> das brotações.....	54
4.3.3.1 Experimento 1.....	54
4.3.3.2 Experimento 2.....	65
4.3.4 Aclimatização.....	69
4.4 Conclusões.....	75
5 CAPÍTULO III. BALANÇO HORMONAL AUXINA/CITOCININA PARA MULTIPLICAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE GENÓTIPOS DE GÉRBERA.....	76
RESUMO.....	76
ABSTRACT.....	76
5.1 Introdução.....	77
5.2 Material e métodos.....	78
5.3 Resultados e discussão.....	79
5.4 Conclusões.....	99
6 CONCLUSÕES GERAIS.....	100
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
ANEXOS.....	115

1 INTRODUÇÃO GERAL

A floricultura apresenta-se como uma das formas mais especializada da agricultura, pois exige alta tecnologia, um sistema eficiente e rápido de distribuição e comercialização de seus produtos. Esta atividade apresenta alta rentabilidade por área, exige grande quantidade de mão-de-obra, sendo portanto importante fonte de geração de empregos. Por esta razão, a floricultura é uma opção de fixação do homem no campo e viabilizando as pequenas propriedades, A floricultura envolve a produção de flores e plantas ornamentais, destacando-se as flores de corte, folhagens, plantas de vaso, bem como a produção de mudas e material propagativo (LÍRIO; SILVA, 2003).

A tendência crescente desta atividade, entretanto, não está sendo acompanhada pela evolução das pesquisas científicas, que visam suprir a demanda de conhecimento para que se possam atingir níveis adequados na produção. São poucos os trabalhos realizados no Brasil, de modo que os produtores utilizam-se do empirismo ou de informações, principalmente advindas de países europeus, onde a floricultura encontra-se mais avançada. Contudo, nem sempre é possível utilizar-se destes conhecimentos, devido principalmente às diferenças climáticas, que muito interferem na produção (IBRAFLOR, 2018).

O Estado do Rio de Janeiro ocupa a quarta posição em produção de flores e plantas ornamentais no Brasil. A amplitude de climas e solos presente no Estado possibilita a implantação de cultivos diversificados, tanto de espécies de clima tropical como aquelas de clima temperado, caracterizando-se como excelente vantagem técnica sobre os outros estados brasileiros (EMATER/RJ, 2018). Dentre as flores e plantas ornamentais cultivadas no Estado, enfatiza-se a gérbera, citada como uma das mais importantes floríferas de corte do mercado internacional, destacando-se principalmente na Europa. Esta espécie tem sido mais amplamente estudada como flor de corte e planta de vaso (INFOAGRO, 2018).

O uso das técnicas de cultivo *in vitro* tem sido empregado em numerosas áreas da agricultura comercial, especialmente com plantas ornamentais, para a obtenção de plantas matrizes. A micropropagação é uma forma de multiplicação assexuada, que visa propagar rapidamente plantas sadias e em maior quantidade, a partir de pouco material vegetativo, independente da época do ano. Além disso, requer pequeno espaço físico, permitindo também a obtenção de plantas livres de bactérias, fungos e vírus, que podem afetar o seu desenvolvimento e prejudicar a produção (RAJESHBABU et al., 2014).

Uma das principais formas de cultivo *in vitro* de gérbera é a utilização da micropropagação. Essa técnica de propagação, no entanto, exige um meio individual e otimizado e condições adequadas de incubação, e tem permitido que a produção em escala comercial de gérbera seja feita de forma planejada, o que permite ao produtor atender ao mercado durante praticamente o ano inteiro. A cultura de tecidos vegetais auxilia também os programas de melhoramento genético, o manejo, o intercâmbio e a conservação de germoplasma. Logo, a introdução de técnicas biotecnológicas, como a propagação vegetativa *in vitro*, com potencial para multiplicar genótipos superiores de forma rápida, mostra-se vantajosa e tem sido dispensada grande atenção as pesquisas nesta área. Diversos estudos relacionados à micropropagação dessa espécie vêm sendo realizados com a utilização de vários tipos de fitorreguladores (auxinas, citocininas e ácido giberélico) e também o uso de diferentes tipos de explantes (KANWAR; KUMAR, 2008; JUNGHANS; SOUZA, 2013; CARDOSO; SILVA, 2013).

Considerando a grande quantidade de cores e formas das flores de gérbera, além do fato de serem plantas de elevado valor comercial, ações que envolvam a multiplicação dessa espécie via propagação vegetativa e o conhecimento dos níveis de variabilidade genética são imprescindíveis para delinear estratégias que visem à conservação em coleções de germoplasma

e o manejo sustentado, estabelecendo, com isso, as bases para se iniciar um melhoramento genético de gérbera na UFRRJ.

Nesse contexto, o objetivo geral desta pesquisa foi desenvolver a micropropagação para fornecer subsídios para a conservação da espécie em coleções de germoplasma e multiplicação de genótipos superiores, estudar as fases do cultivo *in vitro* para produção massal de mudas e conhecer a diversidade genética das plantas de gérberas pertencentes a UFRRJ. Os objetivos específicos foram: estimar a diversidade genética com base em descritores morfológicos; estabelecer *in vitro* plantas de gérberas; promover a multiplicação e enraizamento *in vitro* de gérberas; otimizar a melhor relação do balanço hormonal auxina/citocinina para multiplicação de gérberas e aclimatização das mudas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Floricultura brasileira

A floricultura brasileira, em termos empresariais, pode ser considerada a atividade mais promissora dentro do agronegócio nacional, devido às condições climáticas locais, que permite produção de diferentes tipos de flores e plantas ornamentais ao longo de todo o ano. Dados atuais da floricultura brasileira denotam que existem 8 mil produtores em atividade, sendo plantado em 2014 cerca de 13.800 hectares. O tamanho médio das propriedades é de 1,8 hectares, gerando 8 pessoas/ha de empregos diretos por ano. No Brasil são produzidas mais de 350 espécies de flores e plantas ornamentais, com mais de 3000 variedades comerciais. Entretanto o consumo pode ser considerado baixo em relação a outros países, com média de R\$ 26,50 o consumo per capita por habitante/ano (NEVES; PINTO, 2015).

O consumo interno é baixo devido às características do mercado, que são reduzido poder aquisitivo da população e número de pessoas que comprem regularmente maior, compra de produtos tradicionais e maior concentração das vendas em datas comemorativas, como dia das mães, namorados, finados, etc.. Apesar disso, o setor tem demonstrado crescimento ao longo dos últimos anos: no ano de 2010 o faturamento foi de R\$ 3,8 bilhões; no ano de 2011 o faturamento foi de R\$ 4,3 bilhões; em 2012 de R\$ 4,8 bilhões; em 2013 de R\$5,2 bilhões; em 2014 de R\$5,7 bilhões; em 2015 de R\$6,2 bilhões; em 2016 de R\$6,7 bilhões; para 2017 a perspectiva é de crescimento de 8%. Desde 2006 o segmento de flores tem registrado altas de 8% a 15% em volume e de 15% a 17% em valor (IBRAFLOR, 2018).

As ações desenvolvidas para expansão da floricultura fizeram com que a atividade se ramificasse para todo País. Atualmente a floricultura está presente em todas as Regiões, sendo que a produção de flores de clima temperado está mais concentrada nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste e as de clima tropical nas Regiões Norte e Nordeste (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). No cenário nacional, o Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor, apresentando em 2015, 2266 produtores em atividade, numa área de 6850 hectares e, com faturamento 1,8 bilhão de reais. São Paulo responde por 56% do valor de produção do setor. Isso se dá devido a dois fatores principais. Os produtores paulistas conseguem obter índices de produtividade acima da média nacional e os valores médios recebidos pelas mercadorias são, em média, mais elevados do que nos demais estados (NEVES; PINTO, 2015).

O Estado do Rio de Janeiro é o 4º maior produtor nacional, ficando atrás de São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, entretanto, em 2015 apresentou valor de mercado (faturamento) maior que esses dois últimos estados, sendo o faturamento de cerca de 195,6 milhões, dos quais 48% são provenientes da comercialização de flores e folhagens de corte, 38% de plantas ornamentais e 14% de flores e plantas de vasos. Atualmente no Estado existem 1074 produtores no setor, em uma área de 856 hectares em 56 municípios (IBRAFLOR, 2018).

De acordo com MACHADO NETO e JASMIM (2012), comercialmente as flores e plantas ornamentais apresentam a classificação em flores de corte (crisântemo, antúrio, angélica, rosas, cravo, lírio, gérbera, gladiolo, etc.), flores de vaso (violeta, gérbera, bromélia, antúrio, crisântemo, amarílis, azaleia, begônia, etc.), flores e plantas tropicais (bastão do imperador, helicônia, estrelítzia, etc.), plantas de interior para paisagismo (samambaia, Rhaps, palmeiras, etc.) e folhagens (gipsofila, cipreste, etc.).

No Brasil a área cultivada com flores e plantas ornamentais é distribuída da seguinte maneira: 50,4% para mudas, 28,8% para flores de corte, 13,2% para flores envasadas, 3,1% para folhagens em vasos, 2,6% para folhagens de corte e 1,9% para outros produtos da floricultura. As principais espécies de flores de corte cultivadas no país são: rosas (30%),

crisântemos (15%), lisianthus (12%), lírio (7%) e gérbera (6%). Quanto às flores e plantas envasadas, as cinco principais espécies são: orquídeas (14%), lírio (7,5%), crisântemo (7%), kalanchoe (6,4%), violeta (6%) e bromélia (4,5%). Para o segmento de paisagismo e jardinagem, as plantas ornamentais mais comercializadas são: árvores, arbustos e palmeiras (53%), seguidas por outras plantas de pequeno e médio portes em geral (35%), forrações (8%) e outras (4%) (IBRAFLOR, 2018).

O crescimento do setor nos últimos anos tem se estabelecido não só pelo maior consumo de flores e folhagens em vasos, mas também, ao aumento do mercado de imóveis, que utiliza grande quantidade de plantas ornamentais para projetos paisagísticos. Com relação ao consumo, considera-se que o principal mercado para floricultura brasileira é o interno. A Região Sudeste é o principal centro consumidor, tendo a maior concentração no Estado de São Paulo (50%). O Nordeste vem registrando um expressivo crescimento e a Região Norte do Brasil é possivelmente a que tem maior potencial de expansão da floricultura. Ao todo, 97% da produção são destinadas ao consumo interno e 3% é exportado para EUA, União Europeia e Japão (NEVES; PINTO, 2015).

Os principais grupos de mercadorias adquiridos internacionalmente pelo Brasil foram os de bulbos, rizomas, tubérculos e similares, destinados à propagação vegetativa, tanto para produção para consumo doméstico, quanto para reexportação, bem como os das mudas de orquídeas, e mudas de outras plantas ornamentais. Observou-se que as mudas de orquídeas importadas pelo Brasil da Holanda (67,10%), Tailândia (28,28%) e Japão (4,62%), tiveram forte destaque no período analisado, denotando o intenso crescimento da base produtiva e do consumo dessas flores no mercado doméstico. Dessa forma, ao analisar os principais países que exportam para o Brasil a Holanda figura como o principal, com 44% das importações brasileiras (cerca de US\$ 20,4 milhões) em 2014. Em seguida, Colômbia e Tailândia, ambas com 13%, Chile com 12%, Equador com 9% e os demais países com 10% (NEVES; PINTO, 2015).

Apesar de o Brasil ter desenvolvido o seu mercado internacional, a cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais é focada no abastecimento do mercado interno, com algumas exportações e um valor bem mais relevante nas importações, uma vez que os produtores do país buscam tecnologia e produtos específicos, que tem origem no mercado externo. Segundo o Instituto Brasileiro de Floricultura – IBRAFLOR (2018) os principais avanços no setor de floricultura nos últimos dez anos foram o crescimento de 10 a 15% ao ano, contra um aumento de PIB de 2 a 5% ao ano; aumento considerável da qualidade e diversidade dos produtos ofertados ao consumidor; aumento da eficiência da cadeia produtiva: menor perda (cadeia do frio), maior agilidade (logística), mais informação (embalagens, por exemplo) e menor diferença de preço produtor/consumidor (exemplo: supermercados); alinhamento das ações entre Câmara Setorial Federal e IBRAFLOR; representatividade junto ao governo, através das Câmaras Setoriais; maior acesso às linhas de crédito para custeio e investimento, com menor custo e maior prazo e maior intercâmbio com exterior (viagens técnicas, por exemplo).

O setor de floricultura também enfrenta algumas dificuldades, como por exemplo, acesso do consumidor aos produtos; acesso oficial do produtor às novas espécies; legislação (fitossanitária/comercial/tributário-produtiva) ultrapassada, ineficiente e onerosa de interpretação duvidosa e com alto grau de risco; poucas ações de marketing com continuidade; falta de mão de obra especializada; alto índice de informalidade; ausência de informações do setor; falta de padronização para alguns produtos, principalmente na área de paisagismo; baixo uso de técnicas de pós-colheita; falta de capacitação técnica/administrativa/informática dos integrantes da cadeia; transporte e acondicionamento ainda deficitários. Todos esses gargalos citados precisam ser encarados com firmeza para poder alavancar o setor (KIYUNA et al., 2002; IBRAFLOR, 2018).

O crescimento da floricultura no Brasil representa uma porção significativa para o agronegócio por causa do alto valor agregado dos produtos, além de ser uma fonte de empregos

diretos e indiretos, e fixar o homem no campo. Contudo, é necessário frisar que a projeção econômica criada pelo setor está intimamente correlacionada ao conhecimento técnico e científico, e com o aumento dos gargalos, existe a necessidade de integração de todos os envolvidos na cadeia da floricultura, mostrando que o uso de novas tecnologias é importante para o sucesso do setor, uma vez que transformações sempre irão acontecer, e por isso o produtor precisa manter bom nível de gerenciamento, profissionalismo e especialização (TORRES, 2015).

2.2 Floricultura no Rio de Janeiro

O Estado do Rio de Janeiro apresenta características climáticas que são favoráveis ao cultivo de diferentes tipos de plantas ornamentais e flores, além de ter tradição em paisagismo e jardinagem. O Estado é conhecido nacionalmente pela produção de orquídeas e bromélias, sendo a produção dessas e outras espécies concentrada principalmente na região metropolitana e serrana do Estado. O clima e solo do Estado permitem o cultivo de diversas espécies, tanto de clima tropical quanto temperado, permitindo uma vantagem sobre os outros Estados brasileiros (LÍRIO; SILVA, 2003). Segundo dados da EMATER/RJ (2018), a floricultura adicionou R\$ 579 milhões ao Produto Interno Bruto (PIB) do Rio de Janeiro em 2016. Apesar da crise econômica iniciada em 2014, a previsão é que o setor cresça de 2% a 3% nos próximos anos.

De acordo com NEVES e PINTO (2015), no Estado do Rio de Janeiro o cultivo de flores e plantas ornamentais pode ser assim dividido:

- Região Serrana (Petrópolis, Teresópolis, Nova Friburgo, Bom Jardim, Sumidouro e Duas Barras). Caracterizado pela produção de espécies de clima subtropical e temperado, como rosas, crisântemos, gérbas, gladiolos, cravos, lírios, antúrios, bromélias, plantas para jardins e orquídeas. É a principal região produtora do Estado, concentrando cerca de 50% da produção total. Ao todo são 533 produtores, sendo que desses, 220 estão localizados em Nova Friburgo e 200 em Bom Jardim, havendo, assim, uma alta concentração em duas cidades. O município de Nova Friburgo concentra praticamente a metade da área cultivada da floricultura serrana do Rio de Janeiro, especialmente na micro bacia de Vargem Alta, considerada a principal zona de produção da floricultura fluminense. O município destaca-se na produção de rosas, crisântemos, lírios, gérbas, alstromélias, cravos e gladiolos, entre outras espécies.

- Região Metropolitana. Contempla os municípios do Rio de Janeiro, Itaboraí, Itaguaí, Maricá, Magé, Niterói, Duque de Caxias, Nova Iguaçu, Tanguá, Guapimirim, Paracambi e Seropédica. É a segunda principal região produtora do Estado, concentrando cerca de 38% da produção. A região possui cerca de 410 produtores, sendo que destes, 325 estão na cidade do Rio de Janeiro. É a região de maior diversidade de produção de flores e plantas ornamentais, com produção de folhagem de corte, plantas em vasos, plantas de forração, plantas de jardim, flores de vaso e flores de corte de clima tropical. A maioria das espécies é cultivada a céu aberto ou em estruturas muito rústicas de proteção, geralmente de madeira cobertas com sombrite.

- Região da Baixada Litorânea (Saquarema, Silva Jardim, Araruama, Cachoeira do Macau, Rio Bonito, Casimiro de Abreu, São Pedro da Aldeia e Rio das Ostras). É a terceira principal região produtora do Estado, representando 4% da produção. A região possui aproximadamente 43 produtores e produz principalmente grama, plantas em vasos, plantas de jardim e plantas de forração.

- Centro-sul (Valença, Miguel Pereira, Areal, Paty de Alferes, Paulo de Frontin, Vassouras, Sapucaia, Três Rios e Paraíba do Sul). É a quarta principal região produtora do Estado, representando cerca de 3,4% da produção. A região possui aproximadamente 36 produtores e produz principalmente plantas de jardim, flores de corte de clima tropical, folhagem de corte e plantas em vasos.

- Região Noroeste. As condições climáticas da região favorecem o cultivo de orquídeas, plantas ornamentais e flores tropicais. Anteriormente apenas quatro produtores de Santo Antônio de Pádua e Varre-Sai se dedicavam à floricultura. Hoje este número saltou para 17, distribuídos também nos municípios de Bom Jesus de Itabapoana, Miracema, Itaperuna e Porciúncula.

- Demais regiões ainda produzem flores e plantas ornamentais no Estado: Sul Fluminense, Costa Verde e Norte. Juntas, essas regiões concentram cerca de 35 produtores. A produção nessas localidades são, principalmente, flores de corte de clima tropical, plantas em vasos e plantas de jardim.

A entrada de novos produtores, somados à adoção de novas tecnologias de produção - cultivo protegido, sistema de irrigação por aspersão, gotejamento e fertirrigação, a inserção de novos cultivares e o maior profissionalismo, ajudaram o Rio de Janeiro a ocupar uma posição de destaque, como polo de produção nacional de flores e plantas ornamentais (EMATER/RJ, 2018).

O mercado fluminense de flores e plantas ornamentais ocorre da seguinte maneira: para as flores de corte, em quase sua totalidade são levadas à Companhia de Abastecimento do Estado da Guanabara – CADEG (central atacadista com um mercado permanente de flores), e nesse local são compradas por donos de floricultura, decoradores, etc., e em quantidades menores varejistas e decoradores compram direto com o produtor. Já para as plantas ornamentais a comercialização se dá com a venda direta do interessado com o produtor rural, ou por meio de um intermediário. Parte da produção do Estado também é comercializada fora, nos CEASAS de Campinas e São Paulo (LÍRIO; SILVA, 2003). Existe também uma maior preocupação dos vendedores com a apresentação do produto (qualidade, embalagem e exposição), com aumento do número de pontos de venda e expressiva participação de supermercados na compra desses produtos. Outro ponto importante é a maior especialização dos atacadistas e a venda direta do produtor para o consumidor (Garden Centers) (LÍRIO; SILVA, 2003).

Quanto ao nível técnico dos produtores no Estado, alguns deles adotaram tecnologia de produção em flores e plantas ornamentais por intermédio do cultivo em áreas protegidas (estufas e telados), utilizam sistemas de irrigação e câmara fria para armazenamento de alguns produtos. Entretanto não possuem orientação técnica para melhorar e utilizar novas tecnologias e, grande parte desses produtores ainda utilizam práticas antigas e se caracterizam por mão de obra familiar (EMATER/RJ, 2004).

Em 2001, o governo do Estado do Rio de Janeiro criou a Câmara Setorial de Floricultura. Uma de suas atribuições para atingir a meta definida no Parágrafo Único do Art. 1º da Resolução SEAAPI Nº 470 era realizar o diagnóstico da Floricultura no Estado, mobilizando esforços de diferentes organizações direta e indiretamente envolvidas no setor. Esta atividade contava ainda com incentivos do programa estadual Florescer, desenvolvido pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento, com objetivo de ampliar o setor produtivo de flores ornamentais do estado do Rio de Janeiro. Através do programa o governo do Estado do Rio de Janeiro concedeu benefício fiscal no comércio interno de flores e plantas ornamentais, bem como benefícios para exportação de flores de corte (SECRETARIA DE AGRICULTURA/RJ, 2018).

O programa Florescer objetivou o desenvolvimento da cadeia produtiva de flores, de plantas ornamentais e medicinais no Estado do Rio de Janeiro, com condições facilitadas de financiamento, voltado para a implementação de novas tecnologias de produção, profissionalização e capacitação do setor produtivo e comercial, visando alcançar competitividade nos mercados interno e externo. O programa fornece no que tange às condições de financiamento do FUNDES, um prazo de pagamento de 60 meses, com juros de 2% ao ano,

fixos, capitalizados mensalmente e 20 meses de carência, de acordo com a cultura financiada (SECRETARIA DE AGRICULTURA/RJ, 2018).

Os beneficiados são os produtores rurais e suas associações e cooperativas, com o fim de investimentos e custeio de projetos de implantação, ampliação ou renovação de lavouras de flores, plantas ornamentais e medicinais em sistema irrigado e protegido. Além disso, os tributos ao setor foram reduzidos, principalmente, quando a produção se destina à exportação de flores de corte. A EMATER/RJ, com o apoio de grupos de pesquisa vinculados ao projeto, bem como com o apoio da PESAGRO-RJ (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro), UENF, UERJ, UFRRJ e UFRJ, fornece a assistência técnica necessária (SECRETARIA DE AGRICULTURA/RJ, 2018).

Segundo estudos realizados pelo SEBRAE/RJ, em análise da cadeia produtiva de flores do Rio de Janeiro, o setor de flores e folhagens ornamentais demonstra a crescente necessidade de ações articuladas capazes de dotar não só o Estado do Rio de Janeiro, como também o país, de condições para uma produção mais competitiva, quantitativa e qualitativamente. Os fatores relacionados ao sistema produtivo de plantas ornamentais ganham ainda maior relevância quando se coloca em pauta a necessidade de se encontrar novos nichos de atuação, tanto no mercado brasileiro quanto no internacional (LÍRIO; SILVA, 2003).

Quanto as limitações da floricultura no estado do Rio de Janeiro podemos citar o baixo nível técnico e desinformação dos produtores; carência de pesquisa tecnológica para o setor; falta de material instrucional e didático; carência de produtos fitossanitários específicos; reduzida visão empreendedora por partes dos produtores; malha viária precária, que dificulta a logística pós-colheita; inexistência de padrão e normas de embalagem; espaço adequado para o comércio; desqualificação da mão-de-obra local; carência de material publicitário e inexistência de ações de marketing e assistência técnica insuficiente ou pouco eficaz (LÍRIO; SILVA, 2003).

A deficiência na assistência técnica, seja por falta de qualificação ou por número insuficiente de técnicos, para suprir todos os produtores, constitui um fator muito limitante, talvez o de maior relevância dentro da agricultura como um todo, o que não é diferente no setor da floricultura. No Rio de Janeiro, em 2004, dos 686 produtores de flores e plantas ornamentais naquela época, 419 produtores não recebiam qualquer tipo de assistência técnica (61,08%), 139 produtores (20,26%) recebiam assistência técnica da EMATER/RJ e 101 produtores (14,72%) utilizavam a assistência técnica particular ou privada (EMATER/RJ, 2004). Esses números mudaram, entretanto a assistência técnica pode ser considerada insuficiente no Estado.

Problemas de diversas ordens afetam os diversos segmentos da cadeia produtiva, mas que se contornados poderão levar o estado à autossuficiência e torná-lo um grande exportador de flores e plantas ornamentais. Os maiores desafios do setor referem-se à sustentabilidade e competitividade do segmento de produção, à integração e descentralização do segmento distribuidor, à equidade de tratamento entre os agentes produtivos e, principalmente, que haja um mercado justo entre os diferentes elos da cadeia (MACHADO NETO; JASMIM, 2012).

Para que seja atingido o patamar de produção e comercialização de flores e plantas ornamentais desejados pelos governantes e a competitividade esperada pelos produtores locais, faz-se necessário que as organizações públicas e privadas se unam na forma de parcerias para buscar soluções para os gargalos evidenciados. Apesar da importância do setor para o Estado do Rio de Janeiro, existe uma carência de pesquisas e de inovações tecnológicas voltadas para a cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais no Estado.

2.3 A cultura da Gérbera

O cultivo de gérbera se baseia principalmente como flor de corte e planta de vaso, devido à grande quantidade de cores que as flores podem apresentar. Em todo o mundo, as cores mais populares de flores de gérbera são rosa (40%), vermelho (20%), amarelo (10%), branco (10%), laranja (10%) e outros (INFOAGRO, 2018). Os países que mais se destacam no mercado internacional de gérbera são a Holanda, Alemanha, França, Israel, Colômbia e Estados Unidos. A gérbera é uma das principais flores de corte na Europa. No Brasil, a produção concentra-se principalmente no estado de São Paulo (BENEMANN et al., 2014). Para Damasceno et al. (2010), dentre os vários tipos de flores de corte existente, a gérbera destaca-se por ter importância comercial, pois apresenta-se como um produto de alto valor agregado, estando entre as cinco mais importantes do mundo.

Tratando-se do cultivo de flores de corte, a gérbera ganha em importância, por ser uma flor ideal para buquês, arranjos, enfeites e decorações, especialmente por sua variedade de cores e tamanhos. Também é necessário mencionar o crescimento e a importância da cultura de gérbera envasada. Baseada no tipo de inflorescência, a preferência do consumidor está entre 20 a 40% para as flores dobradas, 20 a 40% para semidobradas, e 30 a 60% para flores simples. No que diz respeito a cor da parte central da inflorescência, a demanda é de 20 a 30% para as flores com disco preto e de 70 a 80% para cor verde. As gérberas são especialmente conhecidas por sua ampla gama de cores e formas, resultado de programas de melhoramento genético e técnica de micropropagação (SEVERINO, 2007).

Cerca de 80% do total de gérberas de vaso comercializadas no país são originárias da região de Holambra (SP), e passam pelo Veiling-Leilão de Flores e Plantas Ornamentais. O mercado paulista absorve em torno de 65% de todo o volume produzido, portanto há um grande mercado potencial em outros estados para ser explorado (VEILING HOLAMBRA, 2018). No Estado do Rio de Janeiro a produção de gérbera é feita comercialmente na região Serrana, com quase a totalidade dos produtores, nos municípios de Nova Friburgo, Bom Jardim, Petrópolis e Duas Barras. Existem dois produtores na cidade do Rio de Janeiro, um em Jacarepaguá e outro em Guaratiba e também um produtor no Centro-sul do Estado, na cidade de Valença (EMATER/RJ, 2017).

A gérbera é originária de Transvaal da África do Sul, também conhecida como margarida do Transvaal em alguns países. A planta é chamada de gérbera em homenagem a Traugott Gerber, um médico e naturalista alemão colecionador de plantas. Pertence à ordem Asterales, família Asteraceae (Compositae), tribo Mustisieae, subtribo Mustisiinae. O gênero é composto por cerca de quarenta espécies, sendo a mais importante a *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook (MANNING et al., 2016). Dessa espécie existem várias cultivares. Seu nome científico foi dado por um colecionador de plantas chamado Jameson, que descobriu a gérbera no Transvaal. Esta espécie também é utilizada na medicina tradicional chinesa para tratar os sintomas da gripe e para o tratamento de reumatismo (NAZ et al., 2012).

Atualmente a maioria das cultivares plantadas comercialmente são oriundas de hibridações entre *Gerbera jamesonii* x *G. viridifolia*, outra espécie sul africana. O híbrido resultante é conhecido como gérbera híbrida (*Gerbera hybrida* Hort). Tanto a *Gerbera jamesonii* quanto a *Gerbera hybrida* são diploides, possuem $2n = 2x = 50$ cromossomos e o capítulo composto por flores femininas e hermafroditas (CARDOSO et al., 2009).

A gérbera é uma espécie herbácea perene, cujo cultivo pode durar vários anos, embora comercialmente seja cultivada por dois ou três anos de acordo com as técnicas de cultivo. O sistema radicular inicial é pivotante, mas como ele se desenvolve, pode formar muitas raízes secundárias tornando-se ramificado. As folhas são em roseta, alongadas com 40 centímetros em média e fendidas na borda. Do pecíolo de algumas delas evoluem os brotos florais que desenvolvem pedúnculos com uma inflorescência terminal em capítulo (SEVERINO, 2007).

O capítulo floral é formado, do exterior para o interior, por várias filas concêntricas de flores femininas liguladas, e ao centro as flores hermafroditas. As flores liguladas são de forma e espessura variadas e de ampla gama de cores, segundo as cultivares mais plantadas, e normalmente têm diâmetro que varia de 6,0 a 10,5 cm e haste de 30,5 a 46,0 cm. O fruto é um aquênio com nervuras com leve coloração marrom escuro ou marrom e cada fruto contém uma semente (INFOAGRO, 2018).

O ambiente tem efeito sobre a gérbera, sendo que a temperatura influencia na emissão e crescimento de folhas e na precocidade da floração. A baixa temperatura no inverno provoca anomalias e aborto floral, devido à baixa taxa fotossintética e baixa absorção de nutrientes. A temperatura média para um bom desenvolvimento está entre 17 °C e 25 °C, no período diurno, e entre 13 °C e 21 °C no noturno (GUISELINI et al., 2010).

A umidade do ar não apresenta influência para a cultura, porém altas umidades podem provocar aparecimento de doenças fúngicas (INFOAGRO, 2018). As plantas não toleram irradiância solar direta acima de 60.000 lux, 240 a 280 W/m² (radiação solar incidente). Em regiões com alta insolação é recomendável o uso de sombreamento (50 a 70%) para aumentar o tamanho e número de flores, da coloração verde da folha e o aspecto geral da planta (GUISELINI et al., 2010).

A gérbera é considerada uma planta de dia curto, o que significa que seus botões florais se formam durante este período. A alta intensidade luminosa associada à temperatura elevada favorece o crescimento. Entretanto, uma intensidade excessiva, ou mudanças repentinas nesta intensidade luminosa podem provocar queimaduras na folhagem. Uma luminosidade mais alta também resulta em crescimento mais compacto, hastes mais curtas e uma cor mais intensa nas flores (SEVERINO, 2007).

Quanto ao tipo de solo, a planta se adapta melhor a solos leves, aerados e profundos. Como a planta mostra sensibilidade a falta de aeração nas raízes, deve-se evitar solos compactados ou muito argilosos. O pH do solo recomendado para o cultivo deve ficar entre 5,5 e 6,5 e com maiores quantidades de matéria orgânica. Para o cultivo em substrato, esse deve apresentar boa aeração e facilitar a infiltração de água e o pH deve ser de 5,8 a 6,2 (LUDWIG et al., 2013).

A propagação da gérbera pode ser sexuada (semente) ou assexuada (propagação vegetativa ou micropropagação). A propagação por sementes é realizada principalmente para obtenção de novas cultivares, devido a diminuição do vigor com as sucessivas autofecundações. Comercialmente é utilizada a propagação assexuada, pois permite a obtenção de grande quantidade de mudas e manutenção das características da planta mãe (CARDOSO et al., 2009).

Há uma enorme quantidade de cultivares com vários lançamentos no mercado ano após ano. Na seleção das cultivares de gérbera são considerados um número de fatores tais como a cor da inflorescência, se elas possuem formato individuais, semi duplo ou duplo, de acordo com o número, arranjo e tamanho das coroas das flores. O desempenho de cultivares bem como as características morfológicas e genéticas vem sendo estudados, nos quais todas variações estão relacionadas às causas genéticas (NAZ et al., 2012; BENEMANN et al., 2014).

De acordo com Veiling Holambra (2018), para melhorar a comercialização da gérbera, foi elaborado um padrão de qualidade para flor de corte e planta de vaso para o mercado nacional e para exportação. Os critérios são de acordo com a uniformidade do produto quanto ao diâmetro da flor, altura da haste (pedúnculo) e aparência do produto (classificação em A1 ou A2). Essa classificação caracteriza a qualidade do lote de gérberas e se utilizada deve ser estabelecida conforme limites de tolerância para defeitos graves e leves. Os defeitos graves são aqueles que podem continuar a evoluir com o processo de comercialização, por exemplo, o dano provocado por oídio ou míldio nas hastes presentes na caixa de comercialização, recebem a classificação A1 quando até três hastes estiverem presentes e A2 quando até cinco estiverem presentes. O produtor deverá selecionar o produto, eliminando os defeitos antes do

embalamento, assegurando requisitos mínimos de qualidade, abaixo do qual o produto não poderá ser comercializado.

2.4 Micropropagação

A cultura de tecidos é definida por um conjunto de técnicas que utilizam um explante (pequeno fragmento isolado da planta) inoculado em meio nutritivo, sendo esse material incubado em condições assépticas, sob condições controladas de luminosidade e temperatura. Nas últimas décadas desenvolveu-se e teve como consequência o aparecimento de novas tecnologias *in vitro*, que auxiliaram, além de outras técnicas, o melhoramento vegetal convencional. A cultura de tecidos aplicada a vegetais abrange diversas metodologias fundamentadas no cultivo *in vitro*, que permitem uma multiplicação rápida – micropropagação - e facilita o armazenamento de germoplasma em local asséptico (JUNGHANS; SOUZA, 2013). A micropropagação, além de manter a uniformidade entre as gerações seguintes da planta-mãe, também preserva o estado do material, reduzindo a exposição a doenças. Nos últimos anos, essa técnica ganhou maior impulso na aplicação comercial no campo da biotecnologia vegetal e floricultura (VERMA; ANAND, 2006).

A teoria da totipotencialidade afirma que a célula vegetal contém o potencial necessário para originar um organismo completo; nesse caso, uma planta completa (MODH et al., 2002). Ao utilizar esse princípio, a cultura de tecidos vegetais é tida como uma ferramenta básica para os processos biotecnológicos. De modo que, existem três fatores que afetam a regeneração da planta *in vitro*: o genótipo, a fonte de explante e a condição da cultura, uma combinação eficiente desses fatores implica no sucesso da propagação vegetativa *in vitro* de uma planta. Dentro da cultura de tecidos vegetais, a de maior sucesso e mais amplamente aplicada é a micropropagação, que refere-se a propagação a partir do uso de explante de pequeno tamanho, por exemplo, ápices caulinares, segmentos nodais e embriões zigóticos (RAY et al., 2005; SHARMA; SRIVASTAVA, 2005; NHUT et al., 2007).

A micropropagação é a técnica que permite a produção de plantas em larga escala, indicada para multiplicar clones elites. O estabelecimento da cultura *in vitro* depende da eficiência do processo de assepsia e adaptação dos explantes ao meio de cultura (NAZ et al. (2012). A micropropagação pode ser conduzida por meio da proliferação de gemas pré-existentes ou por meio da organogênese ou da embriogênese somática. Os processos de formação de órgãos ou embriões, respectivamente organogênese e embriogênese, podem ocorrer de forma direta, quando são formados diretamente a partir das células do explante utilizado, ou indireta, quando ocorre uma fase de calo (aglomerados de células desorganizadas) antes da formação dos mesmos (ARAGÓN et al., 2010).

A micropropagação auxilia na preservação das espécies, tendo como principais vantagens o manuseio de grande número de indivíduos em espaço reduzido e sob condições assépticas, sendo uma ferramenta importante para a obtenção de plantas livres de pragas e doenças, proporcionando a produção de um número significativo de novas mudas uniformes e com características idênticas a da planta mãe (THAKUR et al., 2004).

As brotações são induzidas em um meio de cultura enriquecido com citocininas e enraizadas em um meio contendo auxina ou sem fitorregulador. Dentre as citocininas, a mais utilizada é a benzilaminopurina (BAP) para multiplicação a fase de multiplicação. As auxinas mais utilizadas para a indução de raízes *in vitro* são o ácido indol-3-acético (AIA), ácido naftaleno-acético (ANA) e o ácido indol-butírico (AIB), sendo esses normalmente utilizados em baixas concentrações no meio de cultura (JUNGHANS; SOUZA, 2013).

Certas espécies enraízam com dificuldade, ou não enraízam, mesmo na presença de auxinas. Para algumas espécies dispensa-se o uso de auxinas no seu enraizamento, pois possuem níveis endógenos desse hormônio suficiente para estimular o enraizamento, não

necessitando de adição de auxina. Assim, verifica-se que na micropropagação, a adição de fitorreguladores ao meio de cultura é de extrema importância, pois reproduz o que ocorre naturalmente na planta. Diferentes combinações de concentrações destas substâncias propiciam um melhor crescimento e desenvolvimento do explante, que pode ser uma folha, um embrião, broto, segmento nodal, entre outros (BARBOSA et al., 1994; MODH et al., 2002; GONZÁLEZ-OLMEDO et al., 2005; SOUZA et al., 2010).

De acordo com MURASHIGE et al. (1974) e THORPE (1994), um protocolo completo de micropropagação, pode ser dividido em diferentes fases, de acordo com os procedimentos e objetivos de cada pesquisa. As fases são:

- Fase 0 – Indexação da planta matriz: Preparo da planta para introdução do material vegetal *in vitro*; a planta deve ser cultivada de preferência em casa de vegetação, com condições controladas. Pode-se tentar melhorar a aptidão fisiológica das plantas matrizes utilizando fitorreguladores ou outros tratamentos, como por exemplo usando agrotóxicos para proteção contra pragas e doenças.

- Fase I – Compreende a desinfestação e introdução do material vegetal (explante) em cultivo *in vitro*. O explante deve ser selecionado em função da disponibilidade do material, principalmente aqueles com gemas pré-existentes, dos níveis de contaminação e do grau de juvenilidade do tecido vegetal, podendo ser obtidos de diversas partes da planta, tais como raízes, hipocótilos, epicótilos, cotilédones, folhas e flores, grãos de pólen, embriões, óvulos, nós e gemas axilares ou apicais (KUMAR; KANWAR, 2006; NHUT et al., 2007).

Os procedimentos e agentes desinfetantes utilizados são os mais diversificados. Segundo CARDOSO e SILVA (2013) os produtos mais utilizados são soluções a base de hipoclorito de sódio ou de cálcio, água oxigenada, cloreto de benzalcônio, coquetéis de fungicidas e antibióticos, e até mesmo, combinações dos vários produtos. A maior dificuldade nessa fase reside na obtenção de explantes vegetais descontaminados sem conduzi-los a morte. Os antibióticos, alguns deles tóxicos para a célula vegetal, têm espectros de ação específica, e na maioria dos casos interferem no crescimento também do vegetal cultivado. O mesmo pode ser dito em relação aos fungicidas. O cloreto de benzalcônio, apesar de pouco tóxico aos vegetais, apresenta menor eficiência na desinfestação em relação aos outros produtos. Um dos produtos mais utilizados e apontado entre os mais eficientes na desinfestação de explantes vegetais é o hipoclorito de sódio.

- Fase II – Multiplicação *in vitro* – Compreende a indução e multiplicação de brotos. Neste caso, em função da resposta fisiológica do material vegetal utilizado, faz-se uso das mais diversas combinações de fitorreguladores.

- Fase III – Enraizamento e alongamento das brotações - compreende o enraizamento e alongamento dos brotos obtidos na fase II. O enraizamento e crescimento das plantas normalmente é feito sob condições *in vitro*, e dependendo da espécie com ou sem adição de fitorregulador. Esta fase também pode ser realizada sob condições *ex vitro*.

- Fase IV - Aclimatização – Transferência para condições de casa de vegetação; o objetivo desta fase é assegurar a sobrevivência das plantas sob condição *ex vitro*. Após a etapa de enraizamento *in vitro* as mudas são aclimatizadas normalmente em ambiente com baixa luminosidade e alta umidade. A aclimatização envolve o transplantio da muda o que, geralmente, é uma fase crítica e que pode ser fator limitante para o processo de micropropagação de algumas espécies. Vários fatores estão envolvidos na morte ou sobrevivência das mudas durante a aclimatização, tais como o genótipo, estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico para autotrófico (anormalidades fisiológicas e estruturais, menor controle da perda de água), infecção por patógenos e o estresse pela alteração na radiação. O ambiente de cultivo pode afetar e conduzir a diferentes atividades enzimáticas, resultando em várias mudanças nos processos metabólicos da planta (OLIVEIRA et al., 2000; CHAKRABARTY; DATTA, 2008; ZHANG et al., 2009; CHANDRA et al., 2010).

O conjunto de todas as fases formam um protocolo completo de micropropagação. Adicionalmente, uma fase V poderia ser incluída nas biofábricas, visando a certificação das mudas micropropagadas produzidas após a aclimatização e antes de serem comercializadas.

2.5 Micropropagação de gérbera

Nos últimos anos, tem aumentado o interesse pelas gérberas, pois suas flores apresentam boa durabilidade e uma gama de cores que podem satisfazer aos mercados mais exigentes. Nesse contexto, pesquisas com suas diferentes formas de propagar vêm sendo realizadas, buscando encontrar a melhor alternativa para a propagação comercial dessa espécie (PRASAD, 2014).

A propagação por sementes ou assexuada (divisão de touceiras) não é recomendada para a propagação comercial de gérbera de corte, pois suas sementes originam plantas com desuniformidade devido a alogamia na espécie e a divisão de touceiras dissemina e acumula doenças por meio de sucessivas gerações. Diante desses entraves, a micropropagação torna-se o principal método de propagação desta espécie (AKTER et al., 2012).

Para o estabelecimento *in vitro* e regeneração de plantas, gérberas já foram propagadas por organogênese direta ou indireta usando vários explantes incluindo, botões florais, folha, capítulo, brácteas florais e inflorescência (BARBOSA et al., 1994; ZHANG, 2002; ASWATH; WAZNEEN, 2004). O meio MS tem sido utilizado com sucesso nos trabalhos nas fases de estabelecimento, multiplicação, bem como no enraizamento (VERMA; ANAND, 2006).

Explantes de capítulos florais foram utilizados em diversas pesquisas com micropropagação de gérbera. As vantagens de se trabalhar com esse tipo de explante são: facilidade de manuseio no isolamento e esterilização *in vitro*, e não é destrutivo. Nesse caso, as plantas matrizes podem vir a emitir novas flores que servirão como fonte de explantes. Várias outras partes florais, como inflorescência, pedúnculo e brácteas florais podem ser usadas para a propagação vegetativa *in vitro*, porém em menor número (MODH et al., 2002; RAY et al., 2005; NHUT et al., 2007; AKTER et al., 2012).

O ápice caulinar foi utilizado em diversos trabalhos como fonte inicial *in vitro*, e a partir de seu estabelecimento, serviu como fonte de explantes para posterior recultivo. Os meristemas envolvidos são de raiz, flor e de ápice caulinar (ASWATH; CHOUDHARY, 2002). É possível também induzir a brotação adventícia a partir de explantes oriundos de folhas jovens e pecíolos de plantas de gérbera. Normalmente constata-se a formação de calos (XI; SHI, 2003; KUMAR; KANWAR, 2006).

Cultura de suspensão celular e regeneração de calos têm grande aplicação na biotecnologia, sendo em geral iniciada a partir de calo friável e é percebido facilmente durante o processo de embriogênese somática. A embriogênese somática é um processo que pode ocorrer com uma única célula ou um grupo de células, iniciando um caminho que leva a regeneração de embriões não-zigóticos, capazes de regenerar uma nova muda. A gérbera também pode ser propagada por meio dessa técnica (SHARMA; SRIVASTAVA, 2005; HASBULLAH et al., 2007; KUMAR; KANWAR, 2007; HASBULLAH et al., 2011).

Pesquisas também têm sido feitas visando otimização de protocolo da propagação vegetativa *in vitro* de diferentes cultivares de gérbera (ARELLO et al., 1991; BARBOSA et al., 1993; ORLIKOWSKA et al., 1999; SATO et al., 2001; SOUSA; MIRANDA, 2006; SOUSA et al., 2006; HASBULLAH et al., 2008; HUSSEIN et al., 2008).

O tempo para obtenção de muda de gérbera micropropagada depende do protocolo empregado, por exemplo, variando conforme o tipo de explante, combinação dos fitorreguladores, etc. Após a aclimatização, que normalmente é feita em casa de vegetação, a muda está pronta para ser comercializada e plantada. Por ser enraizada, a muda de gérbera micropropagada apresenta rápido pegamento e crescimento pós-plantio e de acordo com as

condições ambientais locais e tratos culturais, após 7-12 semanas as plantas começam a emissão e produção de flores. Uma planta de gérbera pode produzir em média 42 flores/ano (DENG; BHATTARAI, 2018).

Diversos trabalhos relataram o uso de diferentes tipos de explantes e concentrações de fitorreguladores durante a micropropagação de gérberas.

GANTAIT et al. (2010), utilizaram ápice caulinar na micropropagação da gérbera ‘Sciela’ e notaram melhor taxa de multiplicação de brotos nas concentrações de 6,66 μM de BAP e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA.

PADUCHURI et al. (2010), trabalhando com gérbera de vaso, utilizaram folhas como explante inicial para regeneração a partir de calos. O protocolo ideal foi utilizando os fitorreguladores BAP (8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$) + cinetina (4,65 $\mu\text{mol L}^{-1}$) + ANA (10,74 $\mu\text{mol L}^{-1}$) + 2,4-D (11,31 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

SHABANPOUR et al. (2011), relataram que para se obter uma alta taxa de multiplicação *in vitro* de brotações de gérbera, deve-se utilizar explantes a partir de capítulo floral jovem e as seguintes concentrações dos fitorreguladores: BAP 17,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e AIA 0,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

SON et al. (2011) utilizaram capítulos florais jovens para micropropagação de gérbera ‘Bonnie’ e perceberam a maior taxa de multiplicação dos brotos quando foi utilizado os fitorreguladores BAP 13,32 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e ANA 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

NAZ et al. (2012), testaram ápice caulinar e gemas axilares como explantes para micropropagação de gérbera, e verificaram melhor resposta para indução de brotações utilizando 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 2,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ AIA e perceberam que o ápice caulinar obteve maior quantidade de brotações formadas em relação às gemas axilares.

BHARGAVA et al. (2013), testando capítulo floral jovem na micropropagação de gérbera ‘Harley’, observaram que a maior taxa de multiplicação de brotos foi obtida quando foi utilizado os fitorreguladores BAP 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e cinetina 9,30 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Kadu (2013), utilizou gema axilar do rizoma de planta adulta como explante inicial e conferiu maior taxa de multiplicação dos explantes quando foi testado BAP 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e ANA 2,66 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

MOHAMED e ÖZZAMBAK (2014) testaram ápice caulinar e capítulo aberto como explantes iniciais na micropropagação das gérberas ‘Ameretto’, ‘Red Bull’ e ‘Yanara’. Esses autores conferiram que o ápice caulinar demonstrou maior taxa de brotação quando foi utilizado 22,20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP para cultivar Red Bull, enquanto as outras cultivares apresentaram calos nessa concentração.

Prasad (2014), utilizou pedúnculo floral para indução de calos e regeneração de plantas durante o cultivo *in vitro* de plantas de gérbera, e relatou que para indução dos calos deve-se utilizar 6,78 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 2,4-D e para regeneração 1,71 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA.

SHYLAJA et al. (2014), testaram capítulos florais semiabertos na micropropagação de gérbera, e confirmaram maior taxa de multiplicação de brotos utilizando os fitorreguladores BAP 13,32 mg L^{-1} + ANA 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

CHUNG et al. (2016), utilizaram pecíolo para regeneração *in vitro* da gérbera ‘Gold Eye’, e verificaram que houve maior número de plantas formadas quando usaram os fitorreguladores BAP 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e AIA 0,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

FRÓMETA et al. (2017), promoveram a micropropagação de gérbera cv. E-5 em biorreatores de imersão temporária (BIT), e relataram a proliferação de brotos em menor tempo que a micropropagação convencional quando utilizaram os fitorreguladores BAP 4,44 mg L^{-1} e ANA 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

WINARTO E YUFDY (2017) em suas pesquisas, testaram diferentes explantes (ápice caulinar, folhas jovens, pecíolos e pétalas) na micropropagação de gérbera e constataram

melhor resposta para taxa de multiplicação utilizando o explante ápice caulinar e os fitorreguladores thidiazuron (TDZ) 6,81 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e BAP 1,11 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

2.6 Diversidade genética e análise multivariada

A diversidade genética é a soma de informações genéticas contidas nos genes de plantas, animais e microrganismos. Todo indivíduo contém uma quantidade particular de informações. O valor da diversidade está relacionado com a variedade de diferentes genes que podem ser expressos pelos organismos com características potencialmente úteis (COSTA JUNIOR et al., 2016).

A existência de variabilidade genética na população é condição básica para que um programa de melhoramento genético obtenha sucesso (SINGH et al., 2014). TEODORO et al. (2015) destacam que o sucesso de um programa de melhoramento depende da variabilidade da população a ser trabalhada. Para a formação de população-base, recomenda-se o intercruzamento entre cultivares superiores e divergentes. A divergência genética entre genótipos pode ser avaliada a partir de características agrônômicas, morfológicas e, ou moleculares, resultando em múltiplas informações de cada genótipo (CRUZ et al., 2012).

A diversidade genética entre grupos de progenitores é avaliada com o objetivo de identificar as combinações híbridas de maior efeito heterótico, sendo que em suas gerações segregantes, se tenha a maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores. A divergência genética, com base em evidências científicas, também é de grande importância no contexto de evolução das espécies, uma vez que fornece informações sobre recursos disponíveis e auxilia na localização e intercâmbio dos mesmos (CRUZ et al., 2012). Além disso, o estudo da divergência genética é importante para o monitoramento de bancos de germoplasma, pois obtêm-se informações úteis para preservação e uso dos acessos (TSIVELIKAS et al., 2009).

A divergência genética está relacionada ao grau de distanciamento entre populações quanto ao conjunto de caracteres que lhes são peculiares. Na maioria dos casos, a distância genética está positivamente correlacionada com a heterose, considerando-se, dessa forma, que a magnitude da heterose é proporcional à distância genética entre os parentais (VIEIRA et al., 2007). Segundo CRUZ et al. (2012), a heterose manifestada em híbridos intervarietais é função dos efeitos da dominância dos genes para o caráter em questão e do quadrado da diferença de frequência gênica dos genitores.

O uso de descritores morfológicos consiste na adoção de descritores herdáveis visíveis e mensuráveis, que, a princípio, são expressos em todos os ambientes. Embora o volume de informações genéticas provenientes de marcadores moleculares tenha aumentado para os estudos de diversidade genética, continua-se com uso de características fenotípicas (CRUZ et al., 2012).

Existem várias maneiras de classificar as variáveis, a mais comum considera as variáveis quantitativas e qualitativas, sendo mais utilizadas as variáveis quantitativas para o estudo de diversidade, estas, são características que podem ser medidas em escala real, abrangem, geralmente, distribuição contínua, sendo determinadas por poligenes de pequenos efeitos e influenciadas pelo ambiente. Já as variáveis qualitativas são as que não possuem valores quantitativos, mas, são definidas várias categorias ou classes, representando uma classificação dos indivíduos (CRUZ et al., 2012).

Diversas metodologias multivariadas podem ser empregadas no estudo de divergência genética, entre as quais se podem destacar as análises de agrupamento por otimização e hierarquização, e as análises de dispersão, via componentes principais e variáveis canônicas. A escolha do método mais adequado tem sido determinado de acordo com os objetivos do pesquisador, pela facilidade de análise e pela forma que os dados foram obtidos (AMARAL JÚNIOR et al., 2010).

Os métodos de agrupamento têm por finalidade separar um grupo original de observações em vários subgrupos, de forma a obter homogeneidade dentro dos subgrupos e heterogeneidade entre eles. Entre estes métodos, os hierárquicos e os de otimização são empregados em grande escala pelos melhoristas de plantas. As metodologias citadas anteriormente são feitas com base nas medidas de dissimilaridade tais como, distância euclidiana, distância de Mahalanobis e diferentes medidas de similaridade para caracteres moleculares (GONÇALVES et al., 2008).

2.6.1 Distância Euclidiana

A distância Euclidiana é, sem dúvida, a medida de distância mais utilizada para a análise de agrupamentos. Considerando o caso mais simples, no qual existem “n” indivíduos, onde cada um dos quais possuem valores para “p” variáveis, a distância Euclidiana entre eles é obtida mediante o Teorema de Pitágoras, para um espaço multidimensional, sendo equivalente ao comprimento da hipotenusa do triângulo retângulo projetado (CRUZ et al., 2012).

Seja X_{ij} a observação referente a j -ésima característica ($j = 1, 2, \dots, n$) no i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, p$), define-se, segundo CRUZ et al. (2012), a distância Euclidiana entre dois genótipos i e i' por meio da expressão:

$$d_{ii'} = \sqrt{\sum_j (X_{ij} - X_{i'j})^2}$$

Inconvenientes associados à distância Euclidiana dizem respeito ao fato de que a mesma é alterada com a mudança da escala das medições, com o número de caracteres estudados e não leva em conta o grau de correlação entre eles. Para contornar o problema de escala, tem sido recomendada a padronização dos dados, e, para contornar a influência do número de caracteres, utiliza-se a distância Euclidiana média, que foi descrita por CRUZ et al. (2012), como segue:

$$X_{ij} = \frac{x_{ij}}{s(x_j)} \quad d_{ii'} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_j (X_{ij} - X_{i'j})^2}$$

em que $S(X_j)$ é o desvio padrão dos dados do j -ésimo caracter, então é a distância Euclidiana média baseada em dados padronizados e n é o número de caracteres analisados.

As estimativas de $d_{ii'}$ evidenciam o grau de dissimilaridade entre os genótipos analisados. Por meio do desempenho médio e dos valores de $d_{ii'}$, é possível identificar, dentre os selecionados, aqueles mais divergentes. Esses genótipos podem ser recomendados como progenitores destinados a hibridações nas etapas iniciais de um programa de melhoramento (AMARAL JÚNIOR et al., 2010).

A distância Euclidiana pode ser utilizada em situações em que não se dispõe de dados experimentais com repetições, como por exemplo, dados oriundos de banco ativo de germoplasma, impossibilitando a estimação das variâncias e covariâncias residuais (AMARAL JÚNIOR et al., 2010). Diversos trabalhos relataram o uso da distância Euclidiana para estimar a divergência genética, como os descritos para as culturas: açaí (OLIVEIRA et al., 2007), adubo verde - *Trifolium rio-grandense* (CONTERATO et al., 2010), amendoim forrageiro (OLIVEIRA; VALLS, 2003), cupuaçuzeiro (ALVES et al., 2003), eucalipto (CASTRO et al., 2013), gérbera (CARDOSO et al., 2009), mandioca (ZUIN et al., 2009), maracujá (CASTRO et al., 2011), milho (MITTELMANN et al., 2011) e trigo (SINGH et al., 2014).

2.6.2 Distância de Mahalanobis

A medida mais utilizada, para a quantificação das distâncias entre duas populações, quando existe experimentos com repetição de dados, é a distância de Mahalanobis (D^2). A distância de Mahalanobis foi criada em 1936 por Prasantha C. Mahalanobis, sendo baseada na correlação entre as variáveis. Sua escala é invariante, isto é, não depende da escala de medida. Na estatística multivariada, esta distância é muito rica em informações. É usada em análises de agrupamento e outras técnicas de classificação. Além disso, é utilizada para detectar valores atípicos, especialmente no desenvolvimento de modelos de regressão linear (MAESSCHALCK et al., 2000).

A similaridade entre as unidades amostrais (tratamentos, indivíduos, populações), com relação a um conjunto de características correlacionadas, e a distância entre quaisquer pares de unidades amostrais, deve considerar o grau de dependência entre as variáveis. (MAESSCHALCK et al., 2000). Quando se dispõe de vários caracteres, o valor de D^2 pode ser, alternativamente, estimado a partir das médias dos dados originais e da matriz de covariâncias residuais (matriz de dispersão), ou a partir dos dados transformados (CRUZ et al., 2012).

Para dados originais, a estimação da distância de Mahalanobis foi descrita por CRUZ et al. (2012):

$$D_{ii}^2 = \delta' \Psi^{-1} \delta$$

Em que:

D_{ii}^2 : é a distância de Mahalanobis entre as linhas i e i' ;

Ψ^{-1} : matriz de variâncias e covariâncias residuais;

δ' : $[d_1 \ d_2 \ \dots \ d_v]$, sendo $d_j = Y_{ij}$; e

Y_{ij} : é a média do i -ésimo linhas em relação a j -ésima variável.

Para o cálculo D^2 , supõe-se a existência de distribuição multinormal n -dimensional e a homogeneidade da matriz de covariância residual das unidades amostrais, restringindo-se, portanto o seu uso. No entanto, considerável robustez para a violação dessas hipóteses já foi demonstrada, o que faz da distância generalizada de Mahalanobis uma opção de grande utilidade, principalmente pelo fato de D^2 ter grande analogia com outras técnicas multivariadas (MAESSCHALCK et al., 2000).

Conforme AMARAL JÚNIOR et al. (2010), a distância de Mahalanobis, considera a variabilidade de cada unidade amostral, sendo recomendada para dados provenientes de delineamento experimentais, e, principalmente, quando as variáveis são correlacionadas. Quando as correlações entre as variáveis forem nulas, considera-se as variáveis padronizadas, e a distância de Mahalanobis é equivalente à distância euclidiana.

Para dados transformados, a estimação da distância de Mahalanobis foi definida por CRUZ et al. (2012). Sejam Z_{i1k} , Z_{i2k} , ... e Z_{ink} n combinações lineares das variáveis originais X_{i1k} , X_{i2k} ... e X_{ink} , estimadas de modo que suas variâncias residuais sejam iguais a 1,0 e as covariâncias residuais sejam nulas. Assim, a distância generalizada de Mahalanobis pode ser estimada a partir das variáveis transformadas, sendo, neste caso, expressa de maneira análoga ao quadrado da distância Euclidiana, ou seja:

$$D_{ii}^2 = \delta' I \delta = \delta' I \delta = \sum_j (z_{ij} - z_{i'j})^2$$

em que:

$z_{ij} = 1/r \sum_k z_{ijk}$: média do i -ésimo progenitor em relação à j -ésima variável, com variância residual igual a 1;

I : matriz identidade ($n \times n$) que expressa a matriz de dispersão entre as variáveis transformadas;

$\delta' = [d_1 \ d_2 \ \dots \ d_n] ; e$

$d_j = z_{ij} - z_{i'j}$: diferença entre os progenitores i e i' em relação à j -ésima variável.

Para se obter um conjunto de variáveis não correlacionadas a partir de um conjunto de variáveis originais, utilizam-se os coeficientes de ponderação fornecidos pelo processo de condensação pivotal aplicado na matriz de dispersão ψ (AMARAL JÚNIOR et al., 2010).

A técnica de condensação pivotal consiste em justapor, à direita da matriz de dispersão que está operando, a matriz-identidade. Posteriormente, transformam-se, por operações nas linhas, os elementos de cada coluna, de forma que ela tenha 1 na diagonal e zeros abaixo da diagonal, ou seja, é obtida uma matriz triangular superior em um processo sistemático (CRUZ et al., 2012).

A sequência de elementos nas linhas da matriz justaposta à direita, após cada condensação, corresponde aos coeficientes de transformação linear das variáveis originais em variáveis não correlacionadas, e o elemento da diagonal, que foi transformado na unidade, corresponde à variância daquela variável não correlacionada (CRUZ et al., 2012).

Para avaliação da diversidade genética, a distância generalizada de Mahalanobis foi utilizada em diversas culturas, tais como, em alho (SILVA et al., 2014), cajuzinho (SILVA et al. 2014), cebola (WAMSER et al., 2012), feijão comum (BONETT et al., 2006), feijão-de-vagem (ABREU et al., 2004), girassol (AMORIM et al., 2008), meloeiro (NUNES et al., 2011), milho (COIMBRA et al., 2010), *Passiflora* (ARAÚJO et al., 2008), pimenta e pimentão (SUDRÉ et al., 2006) e tomate (KARASAWA et al., 2005).

2.6.3 Algoritmo de Gower

CRUZ et al. (2012) apontam os procedimentos para estimar medidas de dissimilaridade com base em variáveis quantitativas (distâncias Euclidiana ou de Mahalanobis), binárias (índice de Jaccard, Nei e Li etc.) e multicategóricas (Cole-Rodgers). Nesse sentido, observaram-se várias discrepâncias em relação aos agrupamentos e às inferências em relação à quantificação da variabilidade entre os genótipos de um banco de germoplasma. Uma técnica que permite a análise simultânea de dados quantitativos e qualitativos foi proposta por GOWER (1971). Este método permite que valores da matriz de distância fiquem compreendidos entre 0 e 1, sendo necessário a padronização das variáveis quantitativas e qualitativas.

A variação existente entre indivíduos, grupos de indivíduos ou população são responsáveis pela determinação da diversidade genética existente entre os mesmos. Essa variação pode ser percebida por meio de caracteres quantitativos como: altura da planta; massa de frutos, comprimento, diâmetro de fruto e etc., e também por meio de caracteres qualitativos como: coloração e forma de frutos (MELÃO et al., 2015).

Em 1971, Gower propôs uma técnica que permite a análise de dados quantitativos e qualitativos simultaneamente, por meio de um algoritmo que estima a similaridade entre dois indivíduos utilizando dados com distribuições contínuas e discretas. Para tanto, uma tabela com os dados qualitativos e quantitativos deve ser organizada, sendo posteriormente obtida uma matriz de similaridade genética entre os acessos por meio do algoritmo seguindo a metodologia de Gower, fazendo assim análise conjunta dos dados.

De acordo com AMARAL JÚNIOR et al. (2010), esse algoritmo é expresso por:

$$S_{ijk} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}}$$

Em que, K = o número de variáveis ($k = 1, 2, \dots, p$); i e j = dois indivíduos que representem o genótipo; W_{ijk} = peso dado à comparação ijk , atribuindo valor 1 para comparações válidas e valor 0 para comparações inválidas (quando o valor da variável está

ausente em um ou ambos indivíduos); S_{ijk} = contribuição da variável k na similaridade entre os indivíduos i e j , com valores entre 0 e 1. Para uma variável qualitativa (nominal), se o valor da variável k é o mesmo para ambos os indivíduos, i e j , então $S_{ijk} = 1$, caso contrário, é igual a 0; para uma variável quantitativa (contínua) $S_{ijk} = 1 - |x_{ik} - x_{jk}| / R_k$ onde x_{ik} e x_{jk} são os valores da variável k para os indivíduos i e j , respectivamente, e R_k é o intervalo (valor máximo menos valor mínimo), da variável k na amostra. A divisão por R_k elimina as diferenças entre escalas das variáveis, produzindo um valor dentro do intervalo $[0, 1]$ e pesos iguais.

Se a variável é qualitativa, S_{ijk} assume valor 1, quando há concordância positiva ou negativa para a característica k entre os indivíduos i e j ; e em caso contrário quando a variável é quantitativa tem-se:

$$S_{ij} = \frac{|Y_{ik} - Y_{jk}|}{R_k}$$

onde:

R_k = amplitude de variação da variável k , assumindo valores 0 e 1 ou inteiros entre estes.

O valor de w_{ijk} é um peso usado para definir as contribuições dos S_{ijk} 's individuais. Nesse aspecto, quando o valor da variável k é ausente em um ou ambos os indivíduos, $w_{ijk} = 0$, em caso contrário, igual a 1.

Vários trabalhos relataram o uso dessa metodologia de Gower para avaliar a diversidade genética de plantas, como por exemplo, no estudo de germoplasma de abacaxizeiro (MELÃO et al., 2015), abacaxizeiro ornamental (COSTA JÚNIOR et al., 2016), bananeira (MATTOS et al., 2010), braquiária (TORRES et al., 2015), mamoeiro (QUINTAL et al., 2012), mandioca (LEDO et al., 2009), maracujazeiro (MACHADO et al., 2015), pimenta (COSTA et al., 2015), soja (SILVA et al., 2016) e tomateiro (ROCHA et al., 2010).

2.6.4 Componentes principais

A Análise de Componentes Principais (ACP) é uma técnica estatística poderosa que pode ser utilizada para redução do número de variáveis e para fornecer uma visão estatisticamente privilegiada do conjunto de dados. A ACP fornece as ferramentas adequadas para identificar as variáveis mais importantes no espaço das componentes principais (VICINI; SOUZA, 2005). BARROSO e ARTES (2003) apresentaram três objetivos da metodologia de ACP: redução da dimensionalidade dos dados, obtenção de combinações interpretáveis das variáveis e descrição da estrutura de correlação das variáveis. Um dos objetivos desta técnica é a redução da dimensionalidade das “ p ” variáveis envolvidas no estudo em umas poucas “ k ” variáveis, sem perda substancial de informação. A interpretação e a visualização dos resultados podem ser facilitadas quando ocorre a passagem de um espaço multidimensional, proporcionado pelas “ p ” variáveis, para um espaço bi ou tridimensional, mantendo um elevado grau de explicação. Outra vantagem da redução refere-se ao fato de os componentes principais não estarem correlacionados, podendo ser interpretados independentemente.

A utilização da ACP tem sido um dos métodos mais amplamente utilizados no melhoramento genético de plantas, uma vez que, além da distribuição gráfica da divergência entre os genótipos, ela possibilita a identificação dos caracteres menos e mais representativos para explicar a variação total. O emprego desta técnica para estudos sobre divergência genética em plantas, tem sido realizada com o propósito de controlar os acessos em bancos de germoplasma, identificar genitores divergentes para hibridação, estabelecer relação entre diversidade genética e geográfica, estimar a variabilidade total disponível em grupos geneticamente relacionados, avaliar a uniformidade em cultivos e verificar a importância de cada caráter e promover a eliminação daqueles que contribuem pouco, em termos de variação, no grupo de indivíduos avaliados (BARROSO E ARTES, 2003).

A ACP consiste em transformar um conjunto original de variáveis em outro conjunto de dimensão equivalente, mas com propriedades importantes, que são de grande interesse em certos estudos de melhoramento vegetal, por exemplo. Cada componente principal é uma combinação linear das variáveis originais. Além disso, são independentes entre si e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo da informação, em termos de variação total, contida nos dados iniciais (CRUZ et al., 2014).

O primeiro componente é definido como o de maior importância, uma vez que retém a maior parte da variação total encontrada nos dados originais. Em geral, os primeiros componentes principais em estudos da divergência genética têm sido utilizados quando esses envolvem pelo menos 80% da variação total. Nos casos em que este limite não é atingido nos dois primeiros componentes, a análise é complementada com a dispersão gráfica em relação ao terceiro e quarto componentes. Com relação ao descarte de caracteres, tem sido comum descartar o caráter de maior coeficiente (em valor absoluto) a partir do último componente até aquele cujo autovalor não exceda 0,7 (PAIVA et al., 2010).

A viabilidade de utilização dos componentes principais em estudos sobre divergência genética dependerá da possibilidade de resumir o conjunto de variáveis originais em poucos componentes, o que significará ter uma boa aproximação do comportamento dos indivíduos (progenitores) (VICINI; SOUZA, 2005).

Com base no princípio de que a importância ou variância dos componentes principais decresce do primeiro para o último, tem-se que os últimos componentes explicam uma fração muito pequena da variância total. Então, a variável de maior coeficiente no componente de menor autovalor deve ser a menos importante para explicar a variância total e, portanto, passível de descarte (PAIVA et al., 2010).

Além de possibilitar o estudo da diversidade genética de um grupo de progenitores, a técnica dos componentes principais tem a vantagem de possibilitar a avaliação da importância de cada caráter estudado sobre a variação total disponível entre os genótipos avaliados. O interesse nesta avaliação reside na possibilidade de se descartar caracteres que contribuem pouco para a discriminação do material avaliado, reduzindo, dessa forma, mão-de-obra, tempo e custo despendidos na experimentação (CRUZ et al., 2014). Segundo VICINI e SOUZA (2005), quando se dispõe de grande número de descritores, é possível que muitos deles sejam redundantes, tornando-se útil a eliminação, porque, além de pouco informativos, ocorre acréscimo no trabalho de avaliação e não incluem informação adicional.

A indicação de genótipos para combinações híbridas deve ser feita com base no potencial dos genótipos e na magnitude de suas dissimilaridades. Dessa forma, se há interesse em um determinado genótipo, em virtude de seu bom desempenho em relação a uma determinada característica, recomenda-se seu cruzamento com outros genótipos em função da maior distância gráfica apresentada em relação a esses. Assim, garante-se a maior variabilidade disponível para as gerações segregantes (AZEVEDO et al., 2003).

A análise da divergência genética através da utilização de componentes principais vem sendo realizada em diversos trabalhos, como por exemplo, com as culturas abóbora (TSIVELIKAS et al., 2009), amendoim (SANTOS et al., 2000), cana-de-açúcar (AZEVEDO et al., 2003), capim elefante (DAHER et al., 1997), coqueiro-anão (JUCÁ et al., 2002), feijão-caupi (BERTINI et al., 2010) e *Paspalum* (STRAPASSON et al., 2000).

3 CAPÍTULO I

DIVERSIDADE DE GENÓTIPOS DE GÉRBERA COM BASE EM DESCRITORES MORFOLÓGICOS DE FOLHAS E FLORES

RESUMO

A gérbera é uma planta importante no mercado mundial de plantas ornamentais. Dada a grande concorrência nesse mercado, a obtenção de genótipos diferenciados é uma necessidade constante, sendo assim, informações sobre a diversidade desta espécie podem auxiliar programas de melhoramento, visando a seleção de novos genótipos promissores. Objetivou-se estimar a diversidade entre genótipos de gérbera (*Gerbera* sp.) da UFRRJ com base em características morfológicas de folhas e flores e utilizar os componentes principais para identificação dos descritores menos discriminantes. Plantas matrizes de 14 genótipos de gérbera foram trazidos da Região Serrana do Rio de Janeiro para a UFRRJ. As plantas foram mantidas no Setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia, Seropédica/RJ. Para a análise dos descritores, o delineamento experimental empregado foi inteiramente ao acaso, com 14 tratamentos (genótipos) e dez repetições. As avaliações foram feitas de junho a agosto de 2017. Os genótipos foram caracterizados mediante descritores do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/RNC). Foram avaliados nove características quantitativas e 39 qualitativas de folhas e flores. Os dados foram submetidos à análise multivariada: estimativas de dissimilaridade entre os acessos por meio da distância de Mahalanobis, Euclidiana e algoritmo de Gower com geração de dendrograma; análise de agrupamento através do método UPGMA; a validação foi determinada pelo Coeficiente de Correlação Cofenético (CCC); e foi feita a análise dos componentes principais para verificação de descarte dos descritores menos discriminantes. Os dados foram analisados no programa R. Foi verificada a diversidade morfológica dos genótipos de gérbera por meio da distância Euclidiana e Mahalanobis, que formaram quatro grupos no dendrograma gerado de acordo com os descritores quantitativos e pelo algoritmo de Gower, com formação de sete grupos no dendrograma, de acordo com os descritores quantitativos e qualitativos analisados conjuntamente. Utilizando os componentes principais foi possível identificar o descritor que menos contribuiu para diversidade: largura da flor ligulada do raio externo.

Palavras-chave: *Gerbera* sp., dissimilaridade, análise multivariada, recursos genéticos vegetais.

GERBERA GENOTYPES DIVERSITY BASED ON MORPHOLOGICAL DESCRIPTORS OF LEAVES AND FLOWERS

ABSTRACT

Gerbera is an important plant in the world market for ornamental plants. Given the great competition in this market, the obtaining of differentiated genotypes is a constant necessity, so information on the diversity of this species can help breeding programs, aiming the selection of new promising genotypes. The objective was to estimate the diversity between gerbera genotypes (*Gerbera* sp.) of UFRRJ based on morphological characteristics of leaves and flowers and to use the main components to identify less discriminating descriptors. Plants of 14 gerbera genotypes were brought from the Mountainous Region of Rio de Janeiro to UFRRJ. The plants were kept in the Horticulture Sector of the Department of Plant Science, Seropédica/RJ. For the analysis of the descriptors, the experimental design was completely random, with 14 treatments (genotypes) and 10 repetitions. Evaluations were carried out from

June to August 2017. Genotypes were characterized by descriptors of the Brazilian Ministry of Agriculture (MAPA / RNC). Nine quantitative and 39 qualitative characteristics of leaves and flowers were evaluated. The data were submitted to the multivariate analysis: estimates of dissimilarity between the accesses through distance of Mahalanobis, Euclidean and Gower algorithm with generation of dendrogram; clustering analysis using the UPGMA method; validation was determined by Coefficient of Correlation (CCC); and analysis of the main components was carried out to verify the discard of less discriminating descriptors. The data were analyzed in the R program. The morphological diversity of the gerbera genotypes was verified through the Euclidian and Mahalanobis distance, which formed four groups in the dendrogram generated according to the quantitative descriptors and by the Gower algorithm, with formation of seven groups in the dendrogram, according to the quantitative and qualitative descriptors analyzed jointly. Using the main components it was possible to identify the descriptor that contributed least to diversity: width of the ligated flower of the external radius.

Key words: *Gerbera* sp., dissimilarity, multivariate analysis, plant genetic resources.

3.1 INTRODUÇÃO

A floricultura apresenta-se como uma atividade de alta rentabilidade por área, exige grande quantidade de mão-de-obra, sendo importante fonte de geração de empregos. Por esta razão, a floricultura é uma opção de fixação do homem no campo e viabiliza os pequenos produtores a terem mais lucro (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). Dentre as flores e plantas ornamentais, enfatiza-se a gérbera, citada como uma das mais importantes floríferas do mercado internacional, destacando-se em todo mundo pela diversidade da coloração da flor (SONG et al., 2012). A gérbera é uma planta perene, herbácea e da família Asteraceae originária da África-do-Sul. O gênero é composto por mais de quarenta espécies, no entanto a mais importante é a *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook (MANNING et al., 2016). Esta espécie tem sido mais amplamente estudada como flor de corte e planta de vaso e também é utilizada na medicina tradicional chinesa para curar a gripe e para o tratamento de reumatismo (NAZ et al., 2012).

Há uma enorme quantidade de diferentes cultivares que são lançadas no mercado nacional e internacional todos os anos. O desempenho agrônômico de novas cultivares, bem como as características fenotípicas e genotípicas vem sendo estudadas, nos quais muitas variações estão relacionadas às causas genéticas (GONG; DENG, 2012). As cultivares mais utilizadas são resultantes da hibridação entre a *Gerbera jamesonii* x *Gerbera viridifolia* (espécie nativa sul-africana). O híbrido resultante do cruzamento é conhecido por *Gerbera hybrida* e dele existem alguns milhares de cultivares, espalhadas pelo mundo, com grande variabilidade de flor, forma e cores (KLOSS et al., 2005).

Tanto a *Gerbera jamesonii* quanto a *G. hybrida* são alógamas, diploide ($2n=50$ cromossomos), por isso comercialmente é utilizada a propagação assexuada devido a alogamia, pois permite a obtenção de grande quantidade de mudas e manutenção das características da planta mãe. Suas flores mostram boa durabilidade e uma ampla variedade de cores, sendo a cor da flor uma das principais características morfológicas de interesse agrônômico, por isso, a característica deve ser considerada em programas de melhoramento genético (CARDOSO et al., 2009; GONG; DENG, 2010).

A gérbera híbrida é uma da planta importante no mercado mundial de ornamentais. No Brasil, a produção está concentrada em São Paulo (Holambra) e uma parcela na região serrana do Rio de Janeiro. No entanto, a produção brasileira é inteiramente dependente da importação, pois o melhoramento e o desenvolvimento de cultivares desta espécie vêm sendo realizados na Holanda, Dinamarca, França, Alemanha, Japão, Israel e Estados Unidos (BENEMANN et al., 2014). No Brasil existem 707 cultivares registradas no MAPA/RNC.

A caracterização morfológica permite diferenciar os acessos existentes na coleção auxiliando na futura exploração da variabilidade genética. Viabiliza ainda na obtenção programada e sistemática de dados baseada na avaliação de características capazes de descrever e diferenciar os acessos existentes. Em geral, são considerados caracteres da folha, flor, fruto e semente (SILVA et al., 2016). Segundo WAMSER et al. (2012), a caracterização de germoplasma é um elo importante entre a conservação e utilização dos recursos genéticos vegetais.

Não há muitos trabalhos sobre divergência genética em gérbera, visto que a maioria dos genótipos melhorados vêm sendo tradicionalmente obtidos por empresas privadas (BENEMANN et al., 2014). Uma aplicação prática e rápida do tipo de análise realizada no presente estudo é auxiliar a tomada de decisão para a realização de cruzamentos entre os genótipos mais divergentes, uma vez que é esperado o maior efeito heterótico entre os acessos geneticamente mais contrastantes.

Sob a hipótese da distinção e caracterização de genótipos para início do melhoramento genético de gérbera (*Gerbera* sp.) da UFRRJ, objetivou-se com o presente estudo estimar a diversidade morfológica entre genótipos desta espécie, com base em características quantitativas e qualitativas de folhas e flores e análise dos componentes principais para verificar a identificação e possível descarte dos descritores menos discriminantes.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os genótipos de gérbera foram obtidos por meio de parceria da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ com floricultores da região Serrana do estado do Rio de Janeiro, os quais forneceram 14 genótipos durante a renovação de suas lavouras (após quatro anos de produção).

A coleta das plantas foi realizada em três dias diferentes durante o mês de agosto de 2014 nos municípios da região Serrana do Rio de Janeiro. Na ocasião, os genótipos foram removidos manualmente do solo com o auxílio de enxada e identificados de acordo com a orientação dos floricultores.

Dos 14 genótipos obtidos, oito foram identificadas como as cultivares ‘Kozak’, ‘Orca’, ‘Pacific’, ‘Lionela’, ‘Igor’, ‘Igloo’, ‘Orange Dino’ e ‘Mephisto’. Os demais, devido ao desconhecimento dos floricultores, foram identificados pela cor da flor e ordem de coleta como: “gérbera amarela 1 - GA1”, “gérbera rosa 1” - GR1, “gérbera laranja 1 - GL1”, “gérbera amarela 2 - GA2”, “gérbera rosa 2” - GR2, “gérbera laranja 2 - GL2”.

No município de Nova Friburgo foram coletados os genótipos ‘Kozak’, ‘Lionela’, ‘Igor’, ‘Orange Dino’, GA1 e GL1. Em Bom Jardim os genótipos ‘Orca’, ‘Pacific’, GR1 e GA2. E em Duas Barras os genótipos ‘Igloo’, ‘Mephisto’, GR2 e GL2.

Após a coleta, as plantas matrizes foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas para o Setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia do Instituto de Agronomia da UFRRJ, Seropédica/RJ, para a realização da limpeza e plantio dos rizomas.

A limpeza das plantas foi feita com a retirada de solo do rizoma e posteriormente as raízes e folhas foram retiradas com tesoura de poda, de modo que o rizoma ficasse livre para as gemas brotarem. Os rizomas foram divididos por meio de corte com auxílio de tesoura de poda, plantados em vasos de polietileno com diâmetro de 25 cm e adicionados de cinco litros de substrato Biomix® Flores e Folhagens, onde permaneceram por 10 meses em ambiente protegido (casa de vegetação).

As plantas foram mantidas sem restrição hídrica, mediante irrigação por nebulização automática controlada por sensores de temperatura e umidade, assim, a irrigação foi acionada por 10 minutos a cada duas horas e o sistema de ventilação ativado sempre que a temperatura fosse superior a 30 °C.

Depois de 10 meses, as plantas matrizes foram transferidas para outra casa de vegetação e plantadas diretamente no solo (canteiro) no espaçamento 25 x 25 cm. As plantas foram mantidas no delineamento experimental inteiramente ao acaso, com 14 tratamentos (genótipos) e 10 repetições. A irrigação foi feita diariamente de forma manual e as plantas foram adubadas mensalmente com o adubo Bokashi (50 g/planta).

Para a caracterização dos genótipos, foram utilizados os descritores propostos pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/RNC, 2003). As avaliações foram feitas entre junho/agosto de 2017 e iniciaram na ocasião de florescimento assim que atingiram o estágio comercial, ou seja, quando as duas fileiras de flores do disco estavam abertas. Os genótipos foram caracterizados mediante as normas para a execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de gérbera (MAPA/RNC, 2003). Foram avaliados um total de 48 características quantitativas e qualitativas de folhas e flores de plantas de gérbera (Anexos).

As nove características quantitativas mensuradas em milímetros foram comprimento da folha (CF), largura da folha (LF), comprimento do pedúnculo (CP), diâmetro do capítulo (DC), altura do involúcro do capítulo (AIC), diâmetro do involúcro do capítulo (DIC), comprimento da flor ligulada do raio externo (CFLE), largura da flor ligulada do raio externo (LFLE) e diâmetro do disco (DD). Os dados foram obtidos com auxílio de paquímetro e fita métrica.

Para avaliação dos dados qualitativos, foram atribuídos códigos sequenciais numéricos de acordo com descritores para gérbera (MAPA/RNC, 2003), e considerados 39 caracteres descritos na Tabela 1 e morfologia do capítulo floral de gérbera (Figura 1).

Tabela 1. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização da coleção de 14 genótipos de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	ausente ou muito fraco	1
	fraco	3
	médio	5
	forte	7
	muito forte	9
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	ausente ou muito esparsa	1
	esparsa	3
	média	5
	densa	7
	muito densa	9
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	pouco profundas	3
	médias	5
	profundas	7
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	claro	3
	médio	5
	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
	moderadamente agudo	3
	em ângulo reto	5
	obtusos	7
	arredondado	9

6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	ausente ou muito fraca	1
	fraca	3
	média	5
	forte	7
	muito forte	9
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
	presente	2
9. Capítulo: tipo	simples	1
	semidobrado	2
	dobrado	3
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	pequeno	3
	médio	5
	grande	7
11. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	regular	1
	irregular	2
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	separada	1
	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	fraca	3
	média	5
	forte	7
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	abaixo	1
	no mesmo nível	2
	acima	3
16. Flor ligulada do raio	externo: forma	1
	estrito elíptica	2
	estrito obovada	
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	fortemente encurvado	1
	moderadamente encurvado	2
	reto	3

	moderadamente reflexo	4
	fortemente reflexo	5
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	fortemente encurvado	1
	moderadamente encurvado	2
	reto	3
	moderadamente reflexo	4
	fortemente reflexo	5
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	côncavo	1
	reto	2
	convexo	3
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
	pouco profunda	3
	média	5
	profunda	7
	muito profunda	9
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
	presente	2
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	uma	1
	duas	2
24. Apenas cultivares de uma cor: Flor ligulada do raio externo: distribuição da cor	ausente	1
	mais clara em direção à base	2
	mais clara em direção ao ápice	3
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
	presentes	2
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade	basal	1
	ausente presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	ausente	1
	presente	2
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
	presente	2
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	ausente	1
	presente	2
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada	branco	1
	amarelo	2

do raio externo: coloração secundária	alaranjado	3
	rosa	4
	vermelho	5
	roxo	6
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	branco	1
	branco-amarelado	2
	verde-amarelado	3
	verde	4
	amarelo	5
	alaranjado	6
	rosa	7
	vermelho	8
	roxo	9
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
	presente	2
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	branco	1
	amarelo	2
	alaranjado	3
	rosa	4
	vermelho	5
	roxo	6
	marrom	7
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	branco	1
	amarelo	2
	alaranjado	3
	rosa	4
	vermelho	5
	roxo	6
	marrom	7
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	branco	1
	amarelo	2
	alaranjado	3
	rosa	4
	vermelho	5
	roxo	6
	marrom	7
36. Estigma: coloração principal	branco	1
	amarelo	2
	alaranjado	3
	rosa	4
	vermelho	5
	roxo	6
	marrom	7
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
	alaranjado	2
	rosa	3
	vermelho	4

	roxo	5
	marrom	6
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais clara	1
	igual	2
	mais escura	3
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1
	presentes	2

Tipo de Capítulo.



Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B).

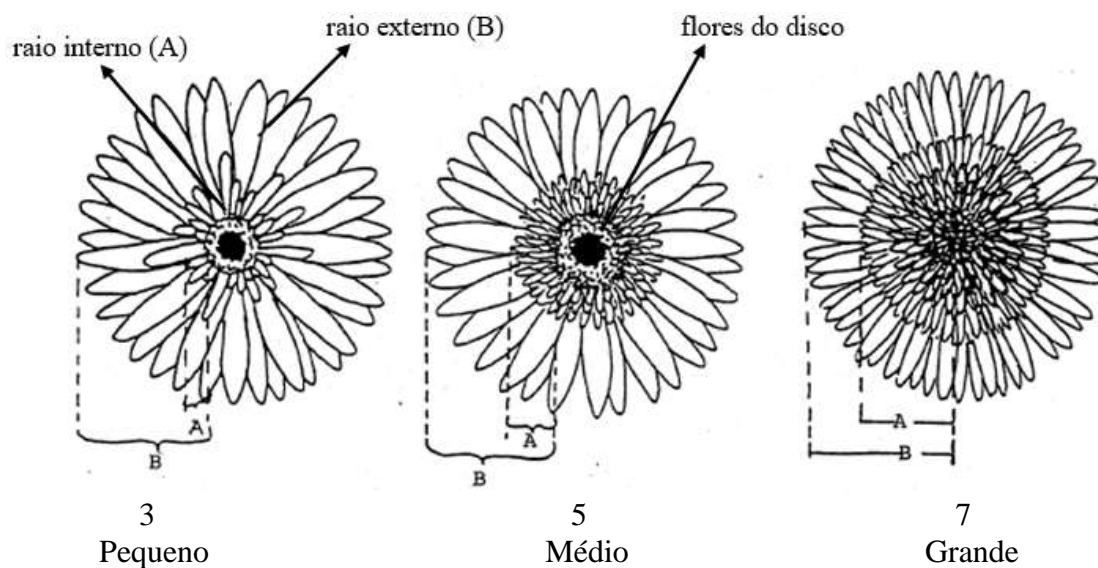
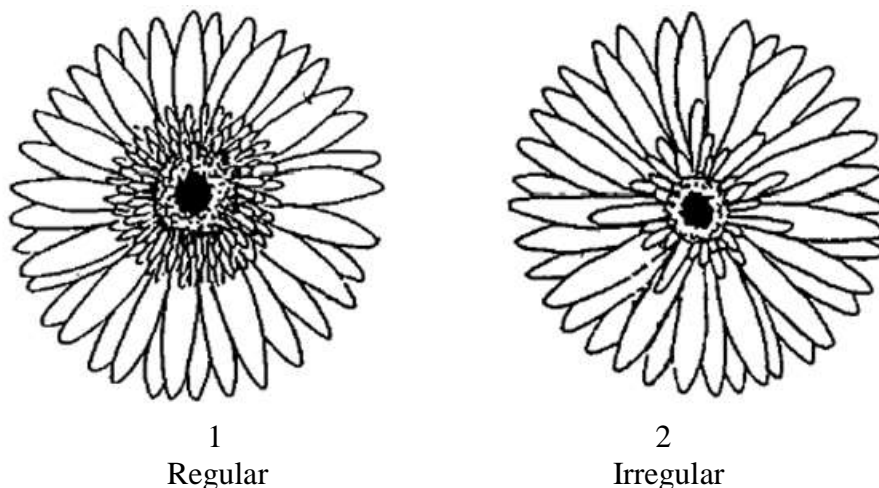
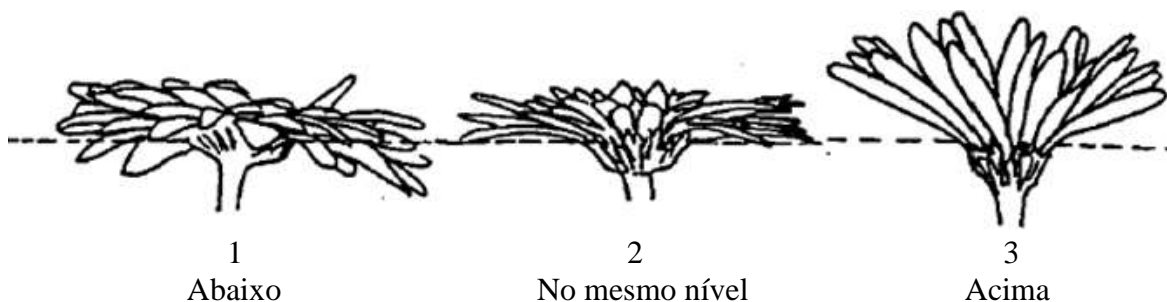


Figura 1. Morfologia e características do capítulo floral de gérbera. Fonte: MAPA/RNC. (Continua).

Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno.



Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro.



Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres.

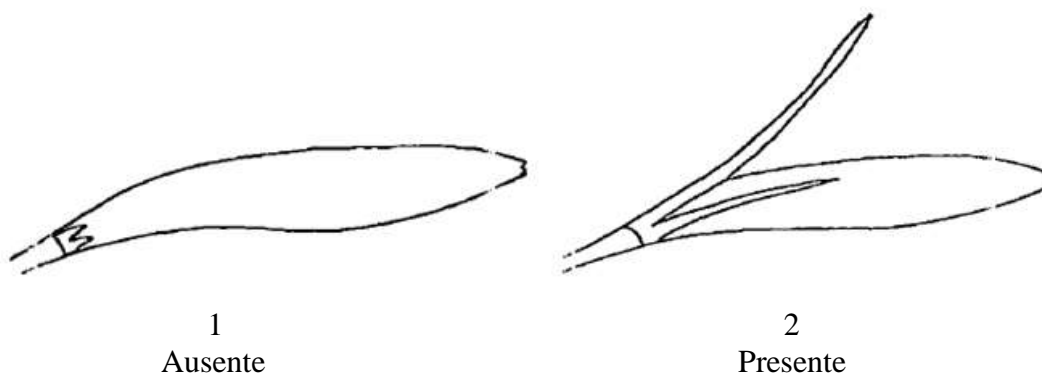


Figura 1. Continuação.

Os dados foram submetidos à análise multivariada, assim, inicialmente foi realizada análise de diversidade morfológica para cada grupo de descritores (quantitativos e qualitativos). Para os descritores quantitativos, a matriz de dissimilaridade foi obtida a partir da distância Euclidiana média padronizada e distância de Mahalanobis. Para a avaliação da diversidade pela

distância de Mahalanobis, utilizando dados com repetição, foi feita a análise multivariada da variância (MANOVA) e teste de Shapiro-Wilk.

Para os dados quantitativos e qualitativos analisados conjuntamente, a matriz de dissimilaridade foi obtida por meio do algoritmo de Gower.

A partir de cada uma das matrizes de dissimilaridade, procedeu-se à análise de diversidade morfológica pelo método de agrupamento Unweighted Pair-Group Methods Method Using an Arithmetic Average (UPGMA), conforme CRUZ et al. (2012).

Para testar a eficiência do método de agrupamento, foi calculado o coeficiente de correlação cofenético (CCC) (SOKAL; ROHLF, 1962), pois quanto maior este valor, maior é a eficiência do método em questão.

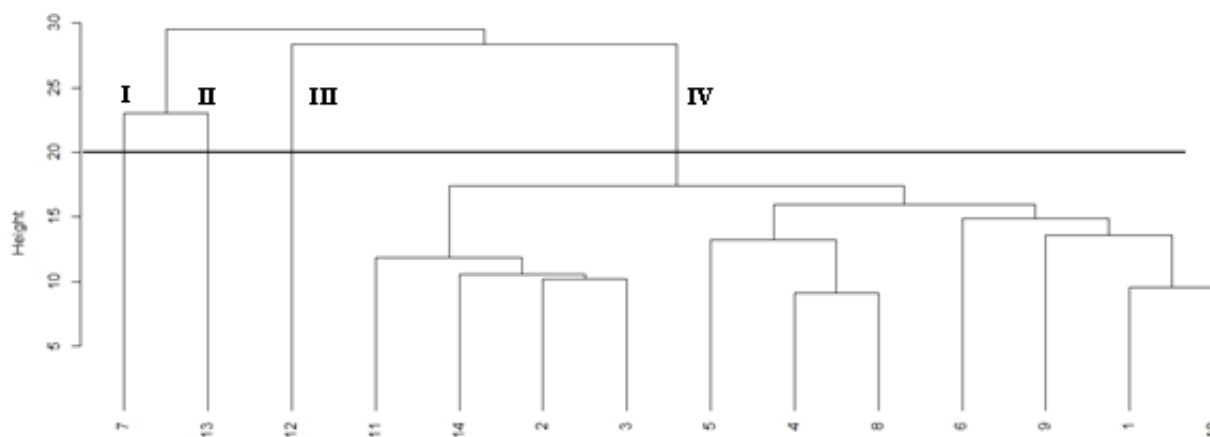
Os dados quantitativos também foram analisados pelos componentes principais para verificação de descarte dos descritores com pouca influência na discriminação dos genótipos estudados.

Os dados foram analisados no software R (versão 3.3.2), utilizando o pacote Clusters e o pacote Vegan para análise dos componentes principais.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 14 genótipos de gérbera formaram quatro grupos quando estudados com o uso dos descritores quantitativos pelo método UPGMA e por meio da matriz gerada pela distância Euclidiana obteve-se o agrupamento apresentado no dendrograma da Figura 2.

O coeficiente de correlação cofenético foi de 0,84 para a associação entre a matriz de distância e o dendrograma dos descritores quantitativos. Assim, estima-se que houve um bom ajuste entre as matrizes originais de distâncias e as derivadas das distâncias gráficas, de acordo com SOKAL e ROHLF (1962), que propuseram que esse ajuste adequado é avaliado pelos valores de correlação cofenético superiores a 0,80. Para a determinação dos grupos do dendrograma, foi realizado um corte a distância de 20, proporcionando a formação de quatro grupos (Figura 2).



Legenda: 1-‘Pacific’, 2-‘Igloo’, 3-‘Igor’, 4-‘Mephisto’, 5-‘Lionela’, 6-‘Orca’, 7-‘Kozak’, 8-‘Orange Dino’, 9-GA1, 10-GR1, 11-GL1, 12-GA2, 13-GR2, 14-GL2.

Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 14 genótipos de gérbera, gerado com o método de agrupamento UPGMA com base na distância Euclidiana média padronizada, a partir de características quantitativas de folhas e flores.

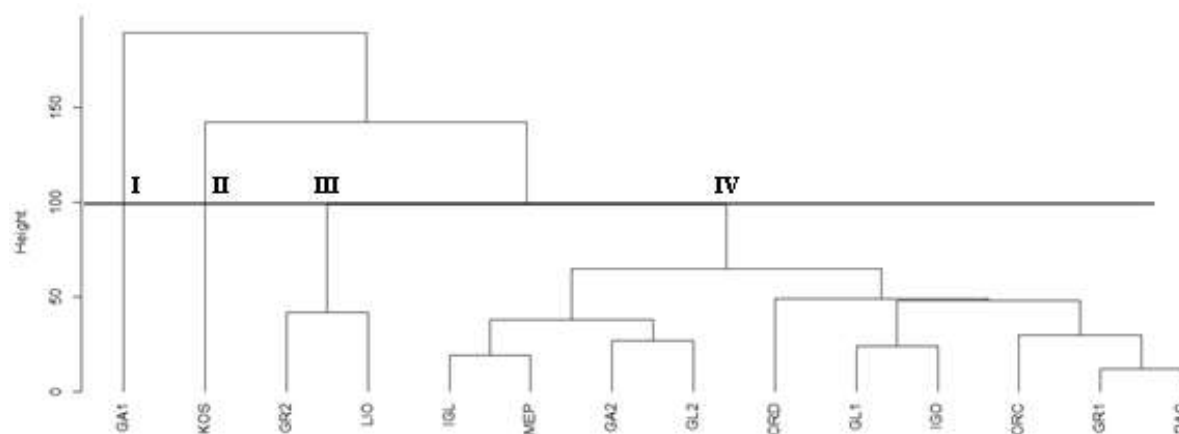
O primeiro grupo foi representado pelo genótipo ‘Kozak’. O segundo grupo ficou com o genótipo GR2. O terceiro grupo foi representado pelo genótipo GA2. E o quarto grupo reuniu GL1, GL2, ‘Igloo’, ‘Orca’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, ‘Orange Dino’, ‘Orca’, GA1, ‘Pacific’, GR1 com 78,55% dos genótipos.

Segundo BARROS et al. (2005), grupos formados por apenas um genótipo apontam na direção de que tais genótipos sejam mais divergentes em relação aos demais, como pode ser observado neste trabalho. Neste caso, observou-se que pela distância Euclidiana três dos 14 genótipos apresentaram-se divergentes para as características quantitativas avaliadas.

CARDOSO et al. (2007) também analisando a divergência genética de um conjunto de gérbas, sendo seis híbridos comerciais e sete acessos de *Gerbera* sp. de origem desconhecida, com base em caracteres morfológicos de flores e folhas (características quantitativas), concluíram que foi possível distinguir que os genótipos formaram grupos distintos por meio da distância Euclidiana e assim verificaram os mais contrastantes.

Os 14 genótipos de gérbas formaram quatro grupos quando estudados com o uso dos descritores quantitativos pelo método UPGMA e por meio da matriz gerada pela distância de Mahalanobis obteve-se o agrupamento apresentado no dendrograma da Figura 3. Houve efeito significativo entre os genótipos para todos os caracteres avaliados de acordo com a MANOVA e teste de Wilks.

O coeficiente de correlação cofenético foi de 0,79 para a associação entre a matriz de distância e o dendrograma dos descritores quantitativos. Para a determinação dos grupos do dendrograma, foi realizado um corte a distância de 100, proporcionando a formação de quatro grupos (Figura 3).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, KOS-‘Kozak’, LIO-‘Lionela’, ORD-‘Orange Dino’, ORC-‘Orca’, GA1-gérbera amarela 1, GR1-gérbera rosa 1, GL1-gérbera laranja 1, GA2-gérbera amarela 2, GR2-gérbera rosa 2 e GL2-gérbera laranja2.

Figura 3. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 14 genótipos de gérbas, gerado com o método de agrupamento UPGMA com base na distância generalizada de Mahalanobis, a partir de características quantitativas de folhas e flores.

O primeiro grupo reuniu o genótipo GA1. Este genótipo possuiu a maior largura das folhas quando comparado aos outros genótipos. O segundo grupo ficou com ‘Kozak’. Este genótipo exibiu o diâmetro do capítulo maior que os demais analisados. O terceiro grupo reuniu os genótipos GR2 e ‘Lionela’, representando 14,3% dos genótipos e o quarto grupo reuniu os genótipos ‘Igloo’, ‘Mephisto’, GA2, GL2, ‘Orange Dino’, GL1, ‘Igor’, ‘Orca’, GR1 e ‘Pacific’, representando 71,4 % dos genótipos.

Ao se comparar os dendrogramas da distância Euclidiana e Mahalanobis, observou-se que as formações dos grupos foram próximas para as características quantitativas avaliadas, e

três genótipos entre os 14 estudados apresentaram-se divergentes, mostrando a existência da diversidade morfológica dos genótipos de gérbera.

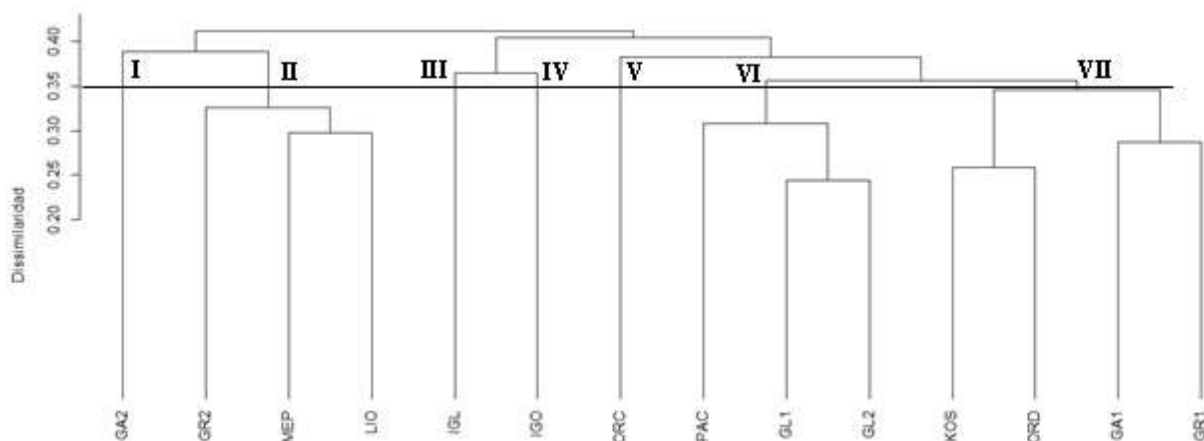
AMORIM et al. (2007) em suas pesquisas sobre a diversidade genética entre 15 genótipos de girassol (família Asteraceae), por meio de 12 características morfológicas, constataram que a distância generalizada de Mahalanobis indicou um alto grau de divergência genética, que os genótipos foram agrupados em três grupos e que foi possível identificar materiais divergentes e com características complementares para o desenvolvimento de novas cultivares superiores.

A determinação da diversidade genética de uma população qualquer pode ser realizada por um método específico, a partir de variáveis binárias, qualitativas ou quantitativas, ou ainda por uma combinação de métodos. Os dados podem resultar de combinações de tipos de variáveis diferentes, que podem ser variáveis quantitativas (por exemplo: altura da planta, peso do fruto, rendimento, etc.) e qualitativas (como cor e formato de fruto, porte da planta, etc.) (GONÇALVES et al., 2008).

A primeira sugestão para o cálculo da distância genética entre duas observações foi proposta por GOWER (1971), conhecida por algoritmo de Gower. Esta técnica permite a análise simultânea de variáveis categóricas e contínuas por meio de um algoritmo que determina a similaridade entre dois indivíduos utilizando simultaneamente dados com distribuições contínuas e discretas. Esse tipo de análise tem sido utilizada em trabalhos que descreveram o uso em várias espécies (ROCHA et al., 2010). Entretanto, para gérbera ainda não existem relatos na literatura do emprego do algoritmo de Gower.

Os 14 genótipos de gérbera formaram quatro grupos quando estudados com o uso dos descritores quantitativos pelo método UPGMA e por meio da matriz gerada pela distância de Mahalanobis obteve-se o agrupamento apresentado no dendrograma da Figura 4.

O coeficiente de correlação cofenético foi de 0,64 para a associação entre a matriz de distância e o dendrograma dos descritores quantitativos e qualitativos. Para a determinação dos grupos do dendrograma, foi realizado um corte a distância de 0,35, considerando-se o ponto de mudança abrupta, proporcionando a formação de sete grupos (Figura 4).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, KOS-‘Kozak’, LIO-‘Lionela’, ORD-‘Orange Dino’, ORC-‘Orca’, GA1-gérbera amarela 1, GR1-gérbera rosa 1, GL1-gérbera laranja 1, GA2-gérbera amarela 2, GR2-gérbera rosa 2 e GL2-gérbera laranja 2.

Figura 4. Dendrograma de dissimilaridades genética entre 14 genótipos de gérbera, gerado com o método de agrupamento UPGMA com base no algoritmo de Gower, a partir de caracteres qualitativos e quantitativos de folhas e flores.

O grupo I foi formado pelo genótipo GA2. Este genótipo possui flor de formato simples e apresentou o menor valor de comprimento das folhas em relação aos outros genótipos.

Também mostrou menor diâmetro do capítulo em relação aos demais. Neste caso, esta característica deve ser levada em consideração, pois o mercado de flores tem preferência por capítulo grande. GA2 também demonstrou diferenças qualitativas, como menor intensidade do verde da folha; lóbulos do perianto do disco floral de cor marrom, enquanto a maioria dos genótipos exibiram a cor amarela e estigma de cor marrom, enquanto os outros genótipos mostraram o estigma de cor amarela.

O grupo II reuniu os genótipos GR2, ‘Mephisto’ e ‘Lionela’, com 21,45% dos genótipos. Este grupo incluiu dois genótipos de cor rosa, GR2 (flor formato semidobrada) e ‘Mephisto’ (flor formato simples) e um genótipo de cor amarela (‘Lionela’ - flor formato simples). Embora um dos genótipos do grupo ter apresentado cor diferente, percebeu-se a proximidade pela característica cor escura do disco do capítulo.

O grupo III foi formado pelo genótipo ‘Igloo’. Este genótipo possui flor de formato semidobrado e exibiu o menor valor de largura das folhas em comparação aos outros genótipos. Quanto às características qualitativas, identificou-se com coloração antociânica na base do pedúnculo ausente ou muito fraca, ao contrário dos demais genótipos; a posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo do capítulo foram em separada, enquanto dos demais genótipos foram em contato; o perfil em seção transversal na porção transversal da flor ligulada do raio externo mostrou-se em convexo, enquanto dos demais genótipos foram côncavo ou reto; a coloração principal da face do raio externo da flor ligulada do raio externo foi branco-amarelado, enquanto os demais genótipos demonstraram a cor branca, rosa, amarelo ou alaranjado.

O grupo IV foi formado pelo genótipo ‘Igor’. Este genótipo possui flor de formato semidobrado e demonstrou menor valor de largura da flor ligulada do raio externo em relação aos demais genótipos avaliados.

O grupo V foi formado pelo genótipo ‘Orca’. Este genótipo possui flor de formato simples e manifestou a cor branca como coloração principal da face do raio externo da flor ligulada do raio externo, diferente do encontrado na maioria dos outros genótipos.

Grupo VI pelos genótipos ‘Pacific’, GL1 e GL2, com 21,45% de representação dos genótipos. Este grupo incluiu dois genótipos de cor alaranjada, GL1 (flor formato simples) e GL2 (flor de formato semidobrado) e um genótipo de cor “chá” (‘Pacific’). Embora um dos genótipos do grupo ter exibido cor diferente, averiguou-se a proximidade pelas demais características qualitativas avaliadas.

E o grupo VII reuniu os genótipos ‘Kozak’, ‘Orange Dino’, GA1 e GR1, representando a maior quantidade de genótipos reunidos (28,5%). Este grupo incluiu dois genótipos de cor alaranjada, ‘Kozak’ e ‘Orange Dino’, ambas de formato semidobrada, um genótipo de cor amarela (GA1), com flor de formato simples e um de cor rosa (GR1), com flor de formato semidobrado. A proximidade da característica diâmetro do disco e qualitativas de folhas e pedúnculo, incluíram estes genótipos no mesmo grupo.

A dissimilaridade entre os genótipos de gérbera, estabelecida pelo método UPGMA com base na análise conjunta de descritores quantitativos e qualitativos, separou os genótipos em sete grupos, evidenciando a existência da diversidade morfológica entre os 14 genótipos avaliados.

YUNIARTO et al. (2018) destacaram que para a análise da diversidade genética de gérbera a partir de características morfológicas de folhas e flores, foi preciso observar principalmente o tipo de flor (simples, semidobrada e dobrada) e complementar com a análise da cor das pétalas da flores e dados agronômicos como número de hastes por ano e tempo de duração da flor, para posterior recomendação de cruzamento entre os indivíduos.

No contexto geral, percebe-se uma melhor formação dos genótipos no agrupamento, ou seja, uma maior homogeneidade dentro dos grupos e elevada heterogeneidade entre os grupos utilizando-se os dados conjuntamente quando comparados com os dados separadamente, por

isso por incluir na análise maior número de características, o algoritmo de Gower mostrou-se eficiente na análise da diversidade dos genótipos de gérbera deste estudo.

Essa mesma metodologia, também foi utilizada por RODRÍGUEZ et al. (2005) para estudar conjuntamente variáveis qualitativas e quantitativas, oriundas de 28 descritores morfoagronômicos em *Brassica napus* L. Os autores concluíram que a análise conjunta dos dados permitiu uma boa estimação da variabilidade.

MELÃO et al. (2015), estudando a divergência genética, com base em caracteres morfoagronômicos, entre 19 acessos de abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*), utilizando o algoritmo de Gower para análise conjunta (descritores quantitativos e qualitativos), apuraram que a análise conjunta foi eficiente na representação da variabilidade genética entre os acessos avaliados, pois proporcionou a formação de grupos mais uniformes.

COSTA JÚNIOR et al. (2016) realizaram uma avaliação de dois híbridos de abacaxizeiro ornamental usando descritores morfológicos quantitativos e qualitativos e constataram que o algoritmo de Gower foi eficiente na formação dos grupos dos híbridos, contrastando com os parentais, podendo assim, recomenda-los como novas cultivares.

TORRES et al. (2015) estimaram a divergência genética entre ecótipos de *Urochloa brizantha*, utilizando de descritores quantitativos (distância Euclidiana), qualitativos (distância de Cole-Rodgers) e sua análise conjunta (algoritmo de Gower) a fim de selecionar os promissores para liberação como cultivares desta espécie. Os autores concluíram que houve divergência genética entre os ecótipos de *U. brizantha*, sobretudo em relação aos descritores quantitativos, e com base nos agrupamentos dos descritores quantitativos e qualitativos (Gower) foi possível a observação de grupos para formação de genótipos promissores. SILVA et al. (2016) concluíram que o algoritmo de Gower foi eficiente na avaliação simultânea dos descritores qualitativos e quantitativos de diferentes cultivares de soja plantada no verão e no inverno.

De acordo com ABREU et al. (2004), a concordância entre as técnicas multivariadas e as de agrupamento é importante no estudo de diversidade genética, pois possibilita a recomendação de cruzamento entre genitores mais divergentes possível, a fim de ampliar a base genética e, conseqüentemente, o aumento da variabilidade. Entretanto, essa recomendação deve levar também em consideração o comportamento *per se* de cada genótipo, sendo de maior relevância aqueles que exibam desempenho superior para as características agrônômicas de interesse.

De acordo com SINGH et al. (2014), a análise conjunta dos dados quantitativos e qualitativos pode fornecer uma melhor compreensão da diversidade genética do banco de germoplasma e também verificar se a evidência total está dentro dos limites de confiança dos elementos de cada conjunto de dados. Segundo os mesmos autores, uma caracterização mais completa dos genótipos e dos padrões da diversidade genética contribui na determinação de estratégias futuras para o melhoramento e facilita a introgressão de diversidade no germoplasma estudado.

Pode-se também analisar a diversidade genética com base em estatísticas multivariadas por meio de representações dos genótipos em dois ou mais planos. Uma possibilidade é o uso de componentes principais. Além disso, o uso de metodologias distintas permite melhor compreensão da divergência genética entre os genótipos (PAIVA et al., 2010).

Com base nos resultados obtidos para os componentes principais na análise dos descritores quantitativos, seus respectivos autovalores e porcentagens da variância explicada por cada um (Tabela 2), dos 9 componentes principais, um (11,12%) incluiu variância inferior a 0,7 (autovalor inferior a 0,7).

Tabela 2. Componentes principais (CP), autovalores (λ_i) e porcentagem da variância explicada pelos componentes (% VCP) das características quantitativas.

CP	λ_i^*	% VCP	% VCP Acumulada
CP1	10.51	0.4806	0.4806
CP2	7.6355	0.2536	0.7342
CP3	5.5182	0.1325	0.8666
PC4	3.70047	0.05956	0.9262
PC5	2.26103	0.02224	0.94843
PC6	2.15249	0.02015	0.96859
PC7	2.0679	0.0186	0.9872
PC8	1.58757	0.01096	0.99815
PC9	0.65236	0.00185	1

* Valores em negrito indicam os autovalores superiores a 0,7.

O descritor que tiver maior coeficiente, em valor absoluto, a partir do último componente principal é passível de descarte (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficientes dos 9 componentes principais.

Característica ¹	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
CF	0.43664	0.00533	-0.406	-0.2031	-0.4979	0.12601	-0.5558	-0.1736	0.01823
LF	0.22514	-0.0058	0.02867	-0.7129	0.45571	-0.1933	-0.1644	0.40907	-0.0282
CP	0.30158	0.16751	-0.6113	-0.0089	-0.0608	-0.0069	0.67772	0.1952	-0.0776
DC	0.72601	0.28978	0.4939	0.32375	0.00442	-0.0978	0.03863	0.10766	0.1324
AIC	-0.072	0.10596	-0.0782	-0.0232	-0.1269	-0.9349	0.00398	-0.2887	0.05883
DIC	0.32486	-0.4744	0.1465	-0.2212	0.17794	0.07628	0.27702	-0.6495	-0.2509
CFLE	-0.1066	0.78767	0.01576	-0.1601	0.18429	0.16946	-0.049	-0.3803	-0.3641
LFLE	-0.0098	0.13871	-0.1323	-0.1171	0.25638	0.14857	0.06461	-0.317	0.87004
DD	0.13583	-0.1095	-0.4139	0.5067	0.62706	-0.0808	-0.3463	-0.0497	-0.1391

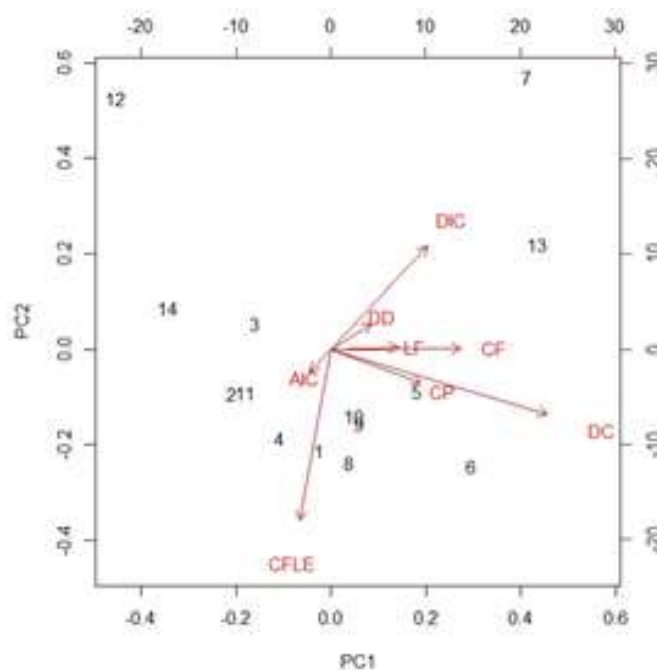
¹ Comprimento da Folha (CF), Largura da Folha (LF), Comprimento do Pedúnculo (CP), Diâmetro do Capítulo (DC), Altura do involúcro do capítulo (AIC), Diâmetro do Invólucro do Capítulo (DIC), Comprimento da Flor Ligulada do Raio Externo (CFLE), Largura da Flor Ligulada do Raio Externo (LFLE) e Diâmetro do Disco. Em negrito, os seis menos importantes para explicar a variação total. * Valor em negrito indica o descritor com maior valor absoluto do componente principal.

Pelo critério sugerido por CRUZ et al. (2014), conclui-se que o descritor de menor importância para explicar a variação total LFLE. Este descritor, de um total de nove, é considerado dispensável ou redundante, por mostrar alta correlação com os demais descritores.

Como os dois primeiros componentes possuem uma variação acumulada de 73,42% nesse estudo, a dispersão gráfica foi realizada em duas dimensões. Os componentes principais foram estimados de modo a dispor os genótipos em um gráfico utilizando a dispersão dos valores dos referidos genótipos, em relação aos eixos representativos e sem a inclusão da variável descartada. A dispersão dos escores referentes à posição de cada genótipo, em eixos cartesianos é exibida na Figura 5.

A análise de dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais evidencia que os genótipos 'Kozak', GA2 e GR2 foram os mais distantes e participaram de grupos distintos (Figura 5). Esses genótipos também formaram grupos distintos na avaliação da diversidade medida por meio da distância Euclidiana e com relação a distância de Mahalanobis somente 'Kozak' formou grupo distinto. As formações dos outros grupos ficaram próximas da distância

Euclidiana e mais divergente da distância de Mahalanobis. E, ao se comparar os grupos formados pelo agrupamento UPGMA do algoritmo de Gower com os grupos dos componentes principais, notou-se que dois genótipos mostraram semelhanças entre os resultados, como por exemplo, GA2 e ‘Orca’ que formaram um único grupo.



Legenda: 1-‘Pacific’, 2-‘Igloo’, 3-‘Igor’, 4-‘Mephisto’, 5-‘Lionela’, 6-‘Orca’, 7-‘Kozak’, 8-‘Orange Dino’, 9-GA1, 10-GR1, 11-GL1, 12-GA2, 13-GR2, 14-GL2. Comprimento da Folha (CF), Largura da Folha (LF), Comprimento do Pedúnculo (CP), Diâmetro do Capítulo (DC), Altura do involúcro do capítulo (AIC), Diâmetro do Invólucro do Capítulo (DIC), Comprimento da Flor Ligulada do Raio Externo (CFLE) e Diâmetro do Disco.

Figura 5. Dispersão gráfica dos escores em relação aos eixos representativos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2), de nove caracteres quantitativos em 14 genótipos de gérbera.

Após o descarte do descritor LFLE, observou-se na Figura 5 que os descritores remanescentes contribuíram para análise da diversidade morfológica dos genótipos de gérbera, com destaque para DIC, DC e CFLE. Com base nesses resultados, utilizando descritores quantitativos, recomendam-se para serem mantidos em experimentos futuros os oito descritores presentes na Figura 5, principalmente o diâmetro do capítulo, que é uma característica muito importante para o mercado de gérberas – preferência por flores maiores.

Uma característica que deve ser levada em consideração é o comprimento do pedúnculo. De acordo com SING et al. (2017), essa característica quantitativa é muito importante quando se estuda a análise da diversidade de gérberas. Assim, experimentos futuros com os genótipos de gérbera também deverão incluir esse descritor, principalmente pelo fato da ingressão de novos genótipos na coleção.

STRAPASSON et al. (2000), trabalhando com germoplasma de *Paspalum* sp., utilizaram a análise de componentes principais para descartar os descritores considerados redundantes ou não discriminantes, e concluíram que o método permitiu redução de 53, 68 e 43% dos descritores reprodutivos, vegetativos e agrônômicos, respectivamente, do conjunto inicialmente considerado.

A importância da utilização de técnicas multivariadas (componentes principais) na identificação de caracteres quantitativos, evidencia o fato de que realmente devem ser avaliados com base em um estudo prévio da sua contribuição para a variabilidade. O interesse nessa

avaliação reside na possibilidade de se descartarem caracteres que contribuam pouco para a discriminação dos genótipos avaliados, reduzindo, dessa forma, mão-de-obra, tempo e custos despendidos na experimentação agrícola (CRUZ et al., 2012). A técnica de componentes também foi utilizada como auxílio na avaliação da diversidade genética em outras culturas: abóbora (TSIVELIKAS et al., 2009), cana-de-açúcar (AZEVEDO et al., 2003), coqueiro-anão (JUCÁ et al., 2002) e trigo (SINGH et al., 2014).

RODRIGUES et al. (2002) analisaram a variabilidade genética de um banco de germoplasma de feijão através de descritores morfológicos, utilizando a análise multivariada (distância Euclidiana e componentes principais) para identificar descritores ineficientes ou redundantes. BERTINI et al. (2010) avaliando a divergência genética de genótipos de feijão-caupi por meio de descritores quantitativos e qualitativos, utilizaram os componentes principais e relataram que foi possível identificar genótipos superiores quanto aos descritores analisados.

SANTOS et al. (2000) procederam à classificação de genótipos intraespecíficos de amendoim quanto aos descritores agromorfológicos e isoenzimáticos com auxílio da análise dos componentes principais. 23 descritores foram analisados, dentre esses, 11 foram morfológicos, nove agrônômicos e três proteico-enzimáticos. Baseado nas evidências da análise dos componentes principais, comprovaram que vários descritores poderiam ser descartados por serem considerados redundantes e que não contribuiriam para identificação da espécie.

A análise de componentes principais é uma técnica de análise intermediária e deve ser usada em parceria com outros métodos de análise multivariada, em grandes investigações científicas (DAHER et al., 1997). O uso de parentais com maior divergência genética para maximizar a heterose dos híbridos, incrementa a probabilidade de um indivíduo superior na população segregante.

Desse modo, com base nos agrupamentos obtidos pela distância Euclidiana, distância de Mahalanobis, algoritmo de Gower e componentes principais, hibridações podem ser recomendadas, de modo que evite o cruzamento entre genótipos próximos fenoticamente.

Experimentos de diversidade genética futuros, visando o cruzamento entre os genótipos (Figura 6), deverão incluir além dos descritores estabelecidos pelo MAPA/RNC, os dados agrônômicos propostos por SINGH et al. (2017), sendo eles: número de folhas, número de hastes produzidas (dias/mês/ano) e duração do capítulo floral (dias). Para complementar ainda os estudos com a espécie, recomenda-se a análise do parâmetro qualidade da flor, de acordo com VEILING HOLAMBRA (2018), a análise do comportamento dos genótipos em relação a doenças e pragas, bem como a utilização de marcadores moleculares.



Figura 6. Coleção de gérbéras da UFRRJ. (A) ‘Pacific’, (B) ‘Igloo’, (C) ‘Igor’, (D) ‘Mephisto’, (E) ‘Lionela’, (F) ‘Orca’, (G) ‘Kozak’, (H) ‘Orange Dino’, (I) GA1, (J) GA2, (K) GR1, (L) GR2, (M) GL1, (N) GL2.

3.5 CONCLUSÕES

A caracterização morfológica de folhas e flores foi eficiente para estimar a diversidade existente entre os genótipos de gérbera da coleção da UFRRJ.

Verificou-se que a distância Euclidiana e de Mahalanobis foram ferramentas eficientes na avaliação da diversidade dos genótipos de gérbera a partir dos descritores quantitativos de folhas e flores.

Verificou-se que o algoritmo de Gower foi uma ferramenta importante na avaliação da diversidade dos genótipos de gérbera a partir dos descritores quantitativos e qualitativos analisados conjuntamente.

A análise de componentes principais proporcionou a identificação e descarte do descritor redundante e que menos contribuiu para diversidade morfológica: largura da flor ligulada do raio externo.

4 CAPÍTULO II

PROTOKOLO DE MICROPROPAGAÇÃO DE GENÓTIPOS DE GÉRBERA A PARTIR DE FOLHA PECIOLADA: INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

RESUMO

A gérbera (*Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook), pertencente à família Asteraceae, é considerada uma das flores de corte mais populares do mundo, devido a diversidade de cores e formas das flores. O método de propagação vegetativa *in vivo* é feito pelo uso de estacas de rizoma, no entanto, a multiplicação por meio deste método é muito lenta para ser comercialmente viável. A propagação vegetativa *in vitro* é comumente usada para obtenção de novas mudas de forma mais rápida e em larga escala. Um protocolo de micropropagação é composto pelas fases de estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de micropropagação de gérberas. Para a fase de estabelecimento *in vitro* foi utilizado o meio MS e após 30 dias foi avaliada a resposta morfogênica dos explantes. Na fase de multiplicação foi montado o experimento em DIC em fatorial 7x3x3, sendo os tratamentos constituídos por sete genótipos de gérbera, três concentrações de BAP - 6-benzilaminopurina (2,22; 4,44 e 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e três concentrações de ANA - ácido 1-naftalenoacético (0,0; 2,68 e 5,37 $\mu\text{mol L}^{-1}$) com quatro repetições. Após oito subcultivos (30 dias para cada), foi feita a avaliação do número de brotações por explante. No enraizamento *in vitro*, diferentes composições de meio de cultura foram testadas visando a otimização desta fase e foi avaliado a sobrevivência das mudas na fase de aclimatização. Sete genótipos de gérbera pertencentes ao banco de germoplasma da UFRRJ foram estabelecidos *in vitro* utilizando folhas com pecíolo como explante inicial. Na fase de multiplicação, a combinação 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foi a mais eficiente para produção de brotações para todos os genótipos. O meio B&G[®] Orquídeas foi eficiente para promover o enraizamento *in vitro* de todos os genótipos. E na fase de aclimatização foi verificada alta porcentagem de sobrevivência das mudas dos genótipos sob condições *ex vitro*.

Palavras-chave: *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook, cultivo *in vitro*, enraizamento, aclimatização.

GERBERA GENOTYPES PROTOCOL MICROPROPAGATION FROM LEAF PETIOLE: TECHNOLOGICAL INNOVATION

ABSTRACT

Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook), belonging to the Asteraceae family, is considered one of the most popular cut flowers in the world, due to the diversity of colors and shapes of flowers. The vegetative method propagation *in vivo* is done by the use of rhizome cuttings, however, multiplication by this method is too slow to be commercially viable. Vegetative *in vitro* propagation is commonly used to obtain new seedlings more quickly and on a large scale. A micropropagation protocol consists of the stages of establishment, multiplication, rooting and acclimatization. The objective of this work was to establish a gerbera micropropagation protocol. For the *in vitro* establishment, the MS medium was used and after 30 days the morphogenic response explants was evaluated. In the multiplication, the experiment was set up in DIC factorial 7x3x3, with the treatments consisting of seven gerbera genotypes, three BAP - 6-benzylaminopurine concentrations (2,22; 4,44 and 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and three ANA - 1-naphthaleneacetic acid concentrations (0,0; 2,68 and 5,37 $\mu\text{mol L}^{-1}$) with four

repetitions. After eight subcultures (30 days for each), the number of shoots per explant was evaluated. On rooting *in vitro*, different compositions of culture medium were tested for optimization of this phase and the survival of the seedlings in the acclimatization was evaluated. Seven genotypes belonging to the germplasm bank of UFRRJ were established *in vitro* using leaves with petiole as the initial explant. In the multiplication, the combination 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA was the most efficient for shoots production for all genotypes. The medium B&G[®] was efficient to promote *in vitro* rooting of all genotypes. In the acclimatization, a high survival percentage of genotype seedlings was verified under *ex vitro* conditions.

Key words: *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook, *in vitro* culture, rooting, acclimatization.

4.1 INTRODUÇÃO

A gérbera é uma planta herbácea, pertencente à família Asteraceae e originária da África do Sul. As folhas têm formato em roseta e das gemas axilares na base do pecíolo de algumas delas evoluem os brotos florais que desenvolvem pedúnculos com inflorescência terminal em capítulo. Nos últimos anos, houve um crescente interesse pelos tipos de corte, pois suas flores mostram boa durabilidade e uma variação de cores que satisfaz os mercados mais exigentes (INFOAGRO, 2018).

Rosa, alaranjada, branca, amarela e vermelha são as cores em ordem de preferência, e a crescente tendência na diversidade é apresentada em mais de 300 variedades que são lançadas a cada ano. Em função da variedade de cores, evidencia-se como cultura de elevado valor comercial, tanto para o mercado interno quanto para a exportação, com destaque nos principais centros de comercialização (REN et al., 2018).

Existem dois métodos para a propagação da gérbera: sexual e vegetativo. Por ser uma espécie de polinização cruzada, a propagação via semente não é muito interessante comercialmente, pelo fato de haver segregação na progênie o que torna a produção desta pouco interessante dada à variação produzida. Por isso, o emprego da micropropagação tem sido crescente para essa espécie, tornando-se uma alternativa bastante viável para sua propagação assexual. O método mais indicado para o estabelecimento inicial da cultura é o que emprega ápice meristemático. Entretanto, ele demanda um grande número de plantas adultas, que são destruídas para o fornecimento de explantes iniciais (KUMARI et al., 2018; PAWŁOWSKA et al., 2018). Dessa forma, a utilização de explantes como folhas com pecíolo, representa uma alternativa de propagação vegetativa *in vitro* de gérbera.

A micropropagação possui várias etapas, desde a escolha da planta-mãe até a formação do clone. Primeiramente é necessário escolher uma planta que possua características desejáveis para serem clonadas, sendo que duas das principais delas são a adaptabilidade ao clima local e boa produtividade. Em seguida, se faz necessário a desinfestação do material vegetal e esterelização do meio nutritivo que virá a ser utilizado. Posteriormente, faz-se a multiplicação dos propágulos, enraizamento e aclimatização em ambiente *ex vitro* (SHYLAJA et al., 2014). Para que todas essas etapas sejam realizadas, são utilizados protocolos. Sendo que estes são procedimentos padrões para propagar uma espécie *in vitro*.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de micropropagação de genótipos de gérbera usando folhas com pecíolo como explante inicial.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de cultivo *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – LCTV, Departamento de Fitotecnia – DFITO, Instituto de Agronomia – IA da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Seropédica-RJ. Os experimentos

de aclimatização foram conduzidos em casa de vegetação com cobertura de plástico (100 µm) e Sombrite® 70% no Setor de Horticultura - DFITO - IA - UFRRJ. O clima da região de Seropédica é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen, com verão quente e chuvoso e inverno seco. A temperatura média é de 23,5 °C, e pluviosidade média anual de 1354 mm.

4.2.1 Estabelecimento *in vitro* dos explantes

O material vegetal utilizado como explante foi obtido de sete plantas matrizes de genótipos de gérbera ('Pacific', 'Igloo', 'Igor', 'Mephisto', 'Kozak', gérbera amarela - "GA", gérbera rosa - "GR", gérbera laranja - "GL") mantidas em casa de vegetação no Setor de Horticultura - IA - DFITO.

Foram selecionadas, de plantas adultas, folhas jovens com pecíolo com tamanho de aproximadamente 5 a 9 cm e com aparência saudável, sem manchas e sem sinais de pragas e doenças (Figura 1). De todos os genótipos utilizados foram extraídas folhas de 15 plantas diferentes (repetições), e quatro folhas/planta, sendo 60 explantes por genótipo e total de 840 explantes.

Após serem retiradas, as folhas foram colocadas em frasco com água e levadas ao laboratório, em seguida, lavadas em água corrente, imersas em solução com detergente neutro por 10 minutos sob agitação, enxaguadas em água corrente. Posteriormente, foram transferidas para câmara de fluxo laminar e submetidas à desinfestação com álcool 70% por 1 minuto, seguido por hipoclorito de sódio comercial (Qboa®) a 0,75% e 3 gotas de Tween® 20 por 15 minutos, enxaguadas uma vez em água destilada autoclavada, submergidas em solução de Virkon S® a 0,50% por 10 minutos e quatro enxagues em água destilada autoclavada nos tempos de 5, 5, 10 e 10 minutos.



Figura 1. Explante folha peciolada utilizado no estabelecimento *in vitro* de sete genótipos de gérbera. Seropédica/RJ, 2018.

Os explantes foram inoculados em frasco de vidro (120 x 25 mm) contendo 15 mL meio de cultura constituído pela formulação salina de MS e as vitaminas de White (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Phytotechnology Laboratories[®]), 30 g L⁻¹ de sacarose P.A (Isofar[®]), na consistência sólida com 7,5 g L⁻¹ de Agar (Vetec[®]), e o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar e autoclavagem por 15 minutos a 1,0 atm. e 121 °C.

Os frascos foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo de 16:8 (luz:escuro), irradiância de 35 µmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas (OSRAM[®], luz do dia). A temperatura e umidade foi averiguada por um termogrômetro (Instrutherm[®]) e registrada diariamente (Figura 2). A temperatura média foi de 25,60 °C e a umidade relativa média foi 61,83%. Após 30 dias foi feita a avaliação da resposta morfogênica e a porcentagem de contaminação.

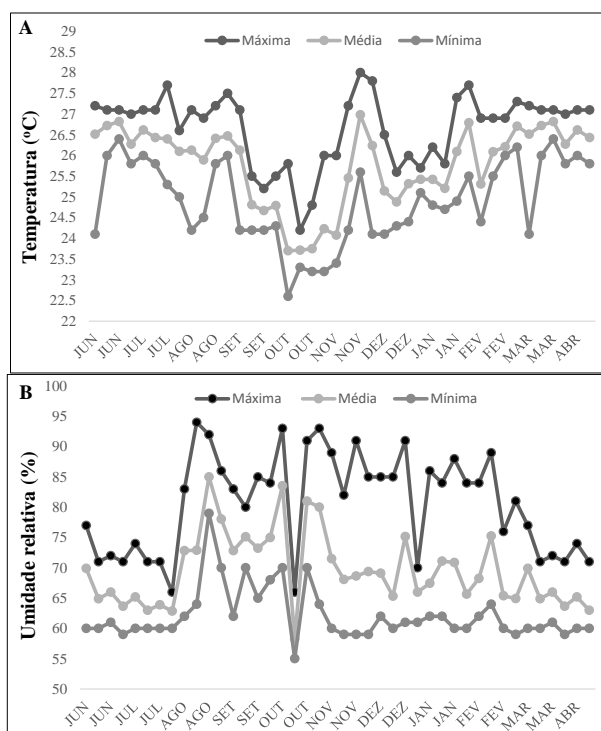


Figura 2. Temperatura (A) e umidade relativa (B) máxima, média e mínima da sala de crescimento durante o cultivo *in vitro* de genótipos de gérbera. Os pontos das curvas representam a média semanal ao longo do tempo.

4.2.2 Multiplicação *in vitro* dos explantes

Após a fase de estabelecimento *in vitro*, iniciou-se a fase de multiplicação. Nesta fase, foi montado o experimento em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 7x3x3, sendo os tratamentos constituídos por sete genótipos de gérbera ('Pacific', 'Igloo', 'Igor', 'Mephisto', GA, GR, GL), três concentrações de BAP - 6-benzilaminopurina (2,22; 4,44 e 8,88 µmol L⁻¹) e três concentrações de ANA - ácido 1-naftalenoacético (0,0; 2,68 e 5,37 µmol L⁻¹) com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por um frasco de vidro (90 x 70 mm) com 30 mL de meio de cultura e contendo um explante.

O meio de cultura utilizado foi constituído pela formulação salina de MS e as vitaminas de White (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Phytotechnology Laboratories[®]), 30 g L⁻¹ de sacarose P.A (Isofar[®]), suplementado com as diferentes combinações dos fitorreguladores propostos, na consistência sólida com 7,5 g L⁻¹ de Agar (Vetec[®]), e o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar e autoclavagem por 15 minutos a 1,0 atm. e 121 °C.

Os subcultivos foram realizados a cada 30 dias e em cada subcultivo as “massas” de brotações foram separadas com auxílio de bisturi e transferidas, de acordo com a quantidade produzida, para outros frascos de vidro (65 x 125 mm) com 40 mL de meio de cultura conforme o tratamento. A cada subcultivo foi trocado o frasco de vidro com um meio de cultura novo, mantendo a mesma composição e os tratamentos propostos.

Objetivando favorecer o desenvolvimento de brotações, em cada subcultivo foi realizada a quebra da dominância apical das brotações. Este procedimento foi feito por meio da inserção da lâmina do bisturi no centro da brotação para a destruir o meristema apical. Para os calos, em cada subcultivo, estes foram transferidos de um frasco para outro. Durante a fase de multiplicação os frascos foram mantidos em sala de crescimento nas mesmas condições anteriores. A temperatura e umidade foi averiguada por um termoigrômetro (Instrutherm®) (Figura 1). Após oito subcultivos foram avaliados o número de brotações formadas (taxa de multiplicação) de cada genótipo e a porcentagem de contaminação.

4.2.3 Enraizamento *in vitro* das brotações

Foram realizados dois experimentos de enraizamento *in vitro*: o experimento 1 com brotações oriundas do terceiro subcultivo com três genótipos de gérbera. O experimento 2 com brotações oriundas do quinto subcultivo com sete genótipos de gérbera.

4.2.3.1 Experimento 1

No terceiro subcultivo, sob condições de fluxo laminar, as brotações que continham três a quatro folhas foram retiradas com auxílio de bisturi e transferidas para meio de enraizamento de acordo com o tratamento.

Para cada genótipo (‘Pacific’, ‘Igloo’ e ‘Igor’), foi montado um experimento em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 3x2x2, sendo três concentrações de ANA – ácido 1-naftalenoacético (0,0; 2,68 e 5,37 $\mu\text{mol L}^{-1}$), duas concentrações de sais do meio MS (50% e 100%) e duas concentrações de sacarose P.A (Isifar®) (15 e 30 g L^{-1}). Cada tratamento teve cinco repetições e a unidade experimental foi representada por um frasco de vidro (120 x 68 mm) com 30 mL de meio de cultura e cinco brotações. Foi utilizado o meio MS e as vitaminas de White (Phytotechnology Laboratories®), pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar (7,5 g L^{-1} de ágar Vetec®) e autoclavagem por 15 minutos a 1,0 atm. e 121 °C. Os frascos ficaram em sala de crescimento nas mesmas condições descritas anteriormente. Após 30 dias de cultivo *in vitro* foram contabilizados o número de folhas, o número de raízes e a massa da matéria fresca das mudas.

4.2.3.2 Experimento 2

No quinto subcultivo, sob condições de fluxo laminar, as brotações que continham três a quatro folhas foram retiradas com auxílio de bisturi e transferidas para meio de enraizamento de acordo com o tratamento.

Foi montado o experimento em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 7x2, sendo sete genótipos de gérbera e dois tipos de meio de cultura: MS e B&G® Orquídeas. Cada tratamento teve 10 repetições e a unidade experimental foi representada por um frasco (130 x 90 cm) com 50 mL de meio de cultura e 10 brotações.

Foi utilizado o meio MS (Phytotechnology Laboratories®), contendo 30 g L^{-1} de sacarose P.A. (Isifar®), pH ajustado para 5,8 antes da adição de ágar (7,5 g L^{-1} de ágar Vetec®) antes da autoclavagem por 15 minutos a 1,0 atm. e 121 °C. O meio B&G® Orquídeas suprimento é um meio de cultura pronto para uso que contém sacarose e carvão ativado na sua composição. Para esse meio foi usando 8,0 g L^{-1} de ágar (Vetec®) e o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem por 15 minutos a 1,0 atm. e 121 °C.

Os frascos ficaram em sala de crescimento nas mesmas condições descritas anteriormente. Após 30 dias de cultivo *in vitro* foram contabilizados o número de folhas, número de brotações por muda, número de raízes e a massa da matéria fresca das mudas.

4.2.4 Aclimatização das mudas

Após serem mantidas por 30 dias em meio de cultura de enraizamento, as mudas foram transferidas para bandejas de polipropileno contendo substrato Tropstrato HT[®] e foram mantidas em casa de vegetação sem restrição hídrica, mediante irrigação por nebulização automática controlada por sensores de temperatura e umidade, assim, a irrigação era acionada por 2 minutos sempre que a umidade reduzisse para menos de 70% e o sistema de ventilação era ativado sempre que a temperatura fosse superior a 30 °C.

As mudas foram retiradas dos frascos e lavadas cuidadosamente para remoção dos resíduos de meio de cultivo aderido ao sistema radicular. Foi utilizado bandeja de 68 células com capacidade de 32 mL de substrato por célula.

Para os genótipos oriundos do experimento 1 de enraizamento *in vitro*, o experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados com os três tratamentos (genótipos de gérbera) e com oito blocos (repetições). Cada parcela constituiu-se por 10 mudas. Depois dos primeiros 30 dias, as mudas foram adubadas quinzenalmente com 3 mL do fertilizante mineral misto B&G[®] Rosas (10 mL L⁻¹) diluído em água destilada. Após 90 dias de aclimatização as mudas foram avaliadas quanto a porcentagem de sobrevivência e transplantadas para solo (canteiro) em ambiente protegido.

Para os genótipos oriundos do experimento 2 de enraizamento *in vitro*, o experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados com os sete tratamentos (genótipos de gérbera) com 10 blocos (repetições). Cada parcela constituiu-se por oito mudas. Depois dos primeiros 30 dias, as mudas foram adubadas quinzenalmente com 3 mL do fertilizante mineral misto B&G[®] Rosas (10 mL L⁻¹) diluído em água destilada.

Após 90 dias de aclimatização as mudas foram avaliadas quanto a porcentagem de sobrevivência, determinado pela contagem das mudas de cada genótipo que sobreviveram após os 90 dias de aclimatização; número de folhas (NF), número de brotações (NB); a massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA), obtida após pesagem em balança analítica. Para obtenção da massa da matéria seca, a parte aérea e as raízes foram separadas, acondicionadas em saco de papel e colocadas em estufa de circulação forçada de ar (EletroLab[®] - modelo EL403/630), onde permaneceram por 72 horas a uma temperatura de 65 °C. Depois da secagem, a massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca radicular (MSR) foram obtidas após pesagem em balança analítica; a massa da matéria seca total (MST) foi obtida pela soma da MSPA e MSR; o volume de raiz (VR) foi obtido com auxílio de uma proveta com volume inicial de água conhecido. Após a separação da parte aérea, as raízes foram completamente submersas na proveta, sendo considerado seu volume total o deslocamento da água na proveta.

4.2.5 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, averiguando-se a normalidade pelo teste de Lilliefors e a homogeneidade pelos teste Shapiro-Wilk. Não havendo restrições e quando verificada a significância nas interações ou nos fatores, foi aplicado o teste de média de Tukey, adotando-se 5% de probabilidade.

Foi utilizado o software Sisvar (FERREIRA, 2014) para as análises estatísticas e o programa Excel 2013 para elaboração dos gráficos.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Estabelecimento *in vitro* dos explantes

Após 30 dias de estabelecimento *in vitro*, os genótipos de gérbera apresentaram alta taxa de sobrevivência (acima de 85%).

Embora alguns genótipos tenham apresentado contaminações, o protocolo de desinfestação utilizado neste trabalho foi o mais eficiente quando comparado a experimentos executados anteriormente, em que variou-se o tipo de explante (capítulo floral jovem, capítulo floral aberto, meristema apical de brotação) e desinfetante (dióxido de cloro, água oxigenada e hipoclorito de cálcio) (dados não mostrados).

Para minimizar a contaminação microbiana, inúmeros protocolos de desinfestação de gérbera são relatados por diversos autores. Diferentes métodos, produtos e tempos de exposição aos explantes tendem a depender do tipo e origem dos mesmos. Em geral, a maioria das pesquisas utilizaram produtos à base de cloro ou mercúrio como os principais compostos ativos. Embora a maioria dos trabalhos tenham indicado o método de esterilização, poucos informaram sobre a eficiência do método, dificultando a comparação da eficiência de cada metodologia ou produto utilizado (REZENDE et al., 2008; ALTAF et al., 2009; SHABANPOUR et al., 2011; AKTER et al., 2012).

Os explantes que apresentaram resposta morfogênica em todos os genótipos foram transferidos para meio de multiplicação (figura 3).



Figura 3. Explante folha peciolada com resposta morfogênica após 30 dias de estabelecimento *in vitro* de sete genótipos de gérbera. Seropédica/RJ, 2018.

4.3.2 Multiplicação *in vitro* dos explantes

Os subcultivos foram realizados num período padrão a cada 30 dias, segundo MURASHIGE et al. (1974). Tais autores confirmaram que um período de cultivo *in vitro* de plantas de gérbera superior a nove semanas pode resultar na deterioração dos tecidos vegetais.

A tabela 1 mostra a ANOVA para o número de brotações obtidas após oito subcultivos dos genótipos de gérbera nas diferentes combinações de BAP e ANA.

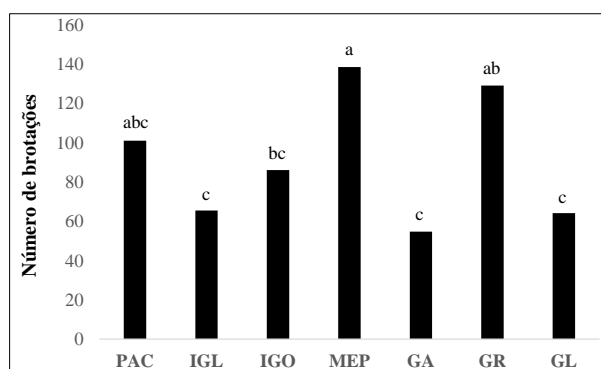
Tabela 1. Análise de variância para a número de brotações obtidas após oito subcultivos (fase de multiplicação) de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Fontes de Variação	GL	SQ	QM
Genótipo (GEN)	6	234994,325397	39165,720899*
BAP	2	843277,071429	421638,535714*
ANA	2	218829,309524	109414,654762*
GEN x BAP	12	94740,650794	7895,054233*
GEN x ANA	12	146425,579365	12202,131614*
BAP x ANA	4	767570,976190	191892,744048*
GEN x BAP x ANA	24	472264,301587	19677,679233*
Erro	189	15040,750000	79,580688
Total	251	2793142,964286	
CV (%)			9,77
Média Geral			91,32

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); SQ – Soma de quadrados; QM – Quadrado médio.

De acordo com a análise de variância (Tabela 1) após oito subcultivos (fase de multiplicação *in vitro*) foi possível observar diferença significativas entre os genótipos de gérbera e as diferentes concentrações dos fitorreguladores BAP e ANA.

Ao se analisar o fator genótipo (GEN), constatou-se diferença significativa (Figura 4).

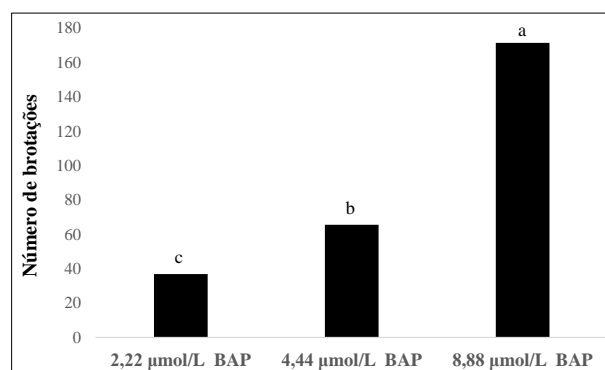


Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 4. Número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro* de sete genótipos de gérbera.

O genótipo ‘Mephisto’ produziu a maior quantidade média de brotações durante a fase de multiplicação *in vitro*, sendo estatisticamente igual a GR e ‘Pacific’. Este resultado demonstra que os genótipos de gérbera tiveram taxa de multiplicação diferente com a mesma concentração de fitorregulador.

Para o fator BAP as respostas das concentrações também foram diferentes (Figura 5).

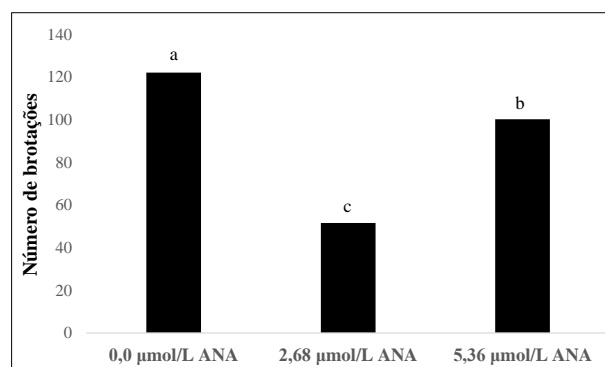


As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 5. Número de brotações obtidas com as concentrações de BAP após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro* de sete genótipos de gérbera.

A figura 5 mostrou que a concentração de BAP ($8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$) evidenciou a maior média de quantidade de brotações após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro*. Deve-se atentar que nesta concentração foi produzido mais que o dobro de brotações da concentração $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP.

Com relação ao fator ANA (Figura 6), observou-se que a concentração $0,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ exibiu a maior quantidade média de brotações, ou seja, a ausência de ANA não demonstrou diminuição da taxa de multiplicação.



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 6. Número de brotações obtidas com as concentrações de ANA após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro* de sete genótipos de gérbera.

A tabela 2 apresenta o resultado da interação Genótipo x BAP.

Tabela 2. Resumo da interação Genótipo x BAP para o número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro* de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP	4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP	8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP
‘Pacific’	38,75 bC	81,25 bB	183,10 cA
‘Igloo’	23,34 cC	44,67 cB	128,50 eA
‘Igor’	47,00 abB	45,75 cB	165,50 dA
‘Mephisto’	52,75 aC	135,17 aB	227,84 bA
GA	21,34 cC	33,00 dB	109,84 fA
GR	48,67 abC	80,25 bB	258,50 aA
GL	26,42 cC	39,42 cdB	126,75 eA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 2, observou-se diferenças entre os genótipos dentro de cada concentração de BAP. Na concentração de 2,22 e 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o genótipo ‘Mephisto’ apresentou o maior número de brotações. Já na concentração de 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi o genótipo GR que produziu a maior quantidade de brotações.

Verificou-se que em todos os genótipos a concentração de 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP foi a que proporcionou a maior quantidade de brotações após os oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro*. A concentração de 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP foi a que menos contribuiu para a produção de brotação dos genótipos.

A tabela 3 apresenta o resultado da interação Genótipo x ANA.

De acordo com a tabela 3, observou-se diferenças entre os genótipos dentro de cada concentração de ANA. Com ausência de ANA o genótipo GR apresentou o maior número de brotações. Na concentração de 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o genótipo ‘Igor’ exibiu a maior quantidade de brotações e, na concentração de 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o genótipo ‘Mephisto’ produziu a maior quantidade de brotações.

Tabela 3. Resumo da interação Genótipo x ANA para o número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro* de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA
‘Pacific’	119,25 cA	70,84 abB	113,00 cA
‘Igloo’	91,50 dA	33,42 dC	71,58 eB
‘Igor’	112,67 cA	71,92 aB	73,67 eB
‘Mephisto’	168,25 bB	61,00 bC	186,50 aA
GA	75,58 eA	46,50 cB	42,10 fB
GR	215,67 aA	41,92 cdC	129,84 bB
GL	72,08 eB	35,75 cdC	84,75 dA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Dentro de cada genótipo observou-se resposta diferente aos níveis de ANA. Em ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, GA e GR a ausência de ANA proporcionou a maior produção de brotações após oito subcultivos. Já em ‘Mephisto’ e GL a concentração de 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ produziu a maior quantidade de brotações.

SHABBIR et al. (2012) utilizaram folha como explante na micropropagação da gérbera ‘Sunglow’, e também notaram a redução do número de brotações nos tratamentos em que foram adicionados ANA. Os autores mostraram ainda que o BAP aumentou o número de brotações, e

estimulou a divisão celular, pois ele pode ser necessário para regular a síntese das proteínas envolvidas na formação do fuso meiótico.

A tabela 4 apresenta o resultado da interação BAP x ANA.

Tabela 4. Resumo da interação BAP x ANA para o número de brotações obtidas após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro* de sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA
2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP	79,96 cA	30,71 bB	0,00 cC
4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP	149,42 aA	34,14 bB	13,35 bC
8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP	137,03 bB	90,00 aC	287,25 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 4, observou-se diferenças significativas na produção de brotações dentro das combinações de BAP e ANA. Na ausência de ANA, a concentração de 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP produziu a maior quantidade de brotações. E as concentrações de 2,68 e 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA combinadas com 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP produziram a maior quantidade de brotações.

Analisando cada concentração de BAP, verificou-se que nas concentrações de 2,22 e 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a maior produção de brotações foi na ausência de ANA e, na combinação de 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA foi observado somente formação de calos. Esta resposta foi constatada em todos os genótipos estudados (Figura 7). Na combinação de 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA também foi observado maior formação de calos do que brotações (Figura 7). E a combinação 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA apresentou a maior quantidade de brotações entre todas as combinações.

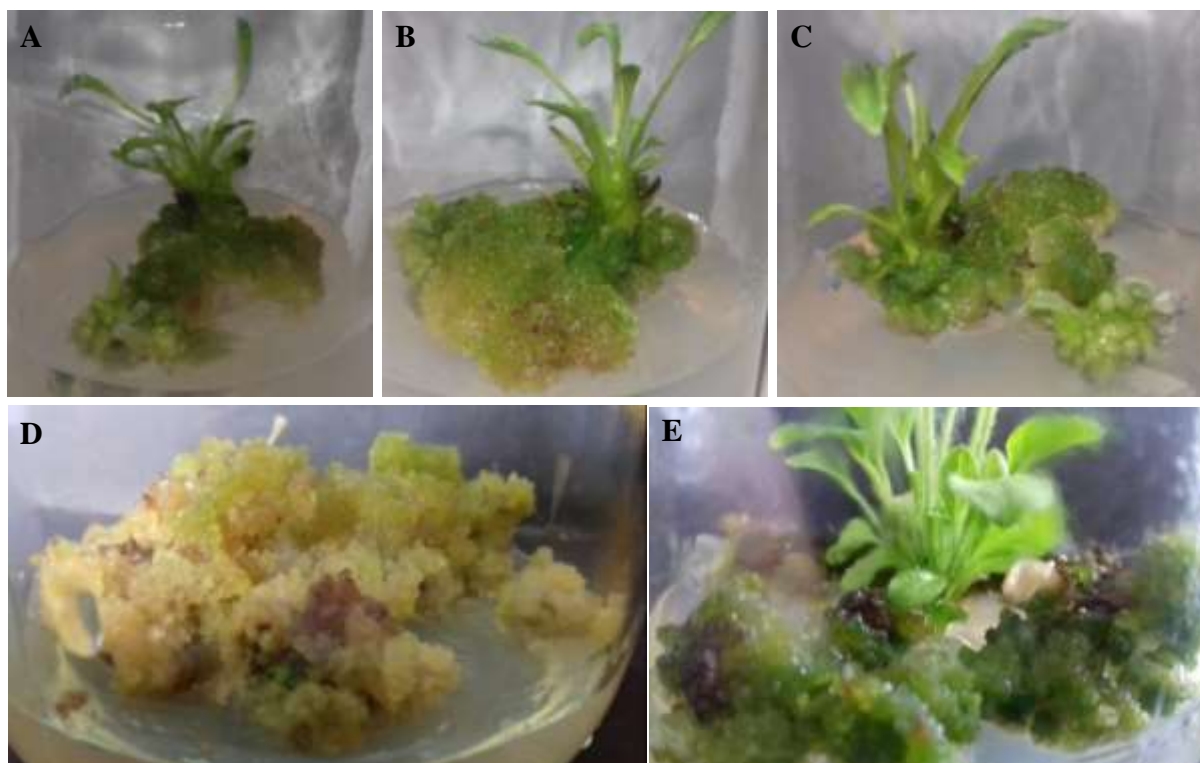


Figura 7. Resposta morfogênica de formação de calos na combinação BAP + ANA nos sete genótipos de gérbera estudados. (A), (B), (C) e (E) Resposta da combinação 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. (D) Resposta da combinação 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA.

Vários fatores envolvidos na regeneração de brotações devem ser considerados, incluindo o estágio de desenvolvimento das folhas, fitorreguladores no meio de cultura e relação genótipo dependente (WINARTO; YUFDY, 2017). Existem várias pesquisas relatando a micropropagação de gérbera, com variação de tipos de explante, porém, poucos trabalhos relatam o uso da folha junto com pecíolo, como foi feito nas condições desse trabalho, sendo o mais usual o uso separado da folha e pecíolo, com foco principalmente para a embriogênese somática.

A organogênese é caracterizada pela produção de uma estrutura unipolar em conexão vascular com o tecido vascular pré-existente e ocorre com o subsequente desenvolvimento de um primórdio de gema vegetativa ou raiz (KERBAUY, 2008). Essa expressão pode acontecer de forma direta ou indireta. No primeiro caso, a partir do explante primário, dá-se a formação de um órgão ou meristemóide. A forma indireta, por sua vez, ocorre a partir da desdiferenciação do explante, resultando na formação de calos, que podem ser definidos como a proliferação de massas de células não diferenciadas, conduzindo à formação de meristemas morfogênicos que originam raízes ou brotos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A resposta morfogênica obtida com o explante de gérbera utilizado foi a indução e proliferação de gemas adventícias. Segundo HASBULLAH et al. (2008), na região basal do pecíolo das folhas dessa espécie identifica-se elementos vasculares que contém células competentes para diferenciação ou desdiferenciação quando ativadas pelos fitorreguladores. Neste caso, de acordo com GUERRA et al. (2017), dependendo da concentração do fitorregulador empregado, essas células parenquimáticas próximas dos feixes vasculares tornam-se meristemáticas e grupos celulares (meristemóides) se desenvolvem de forma direta, que induz a formação de brotos. Essa resposta foi notada na maioria dos tratamentos utilizados nesta pesquisa (Figura 8).

No entanto, conforme GUERRA et al. (2017), a desdiferenciação das células parenquimáticas e a organização dos meristemóides também pode ser induzida pelos fitorreguladores a originar calos, sendo esta a forma indireta constatada em todos genótipos, dependendo da combinação entre os fitorreguladores BAP e ANA, como descrito anteriormente.

RAHMAN et al. (2014) utilizaram em seus estudos capítulo floral jovem, pedúnculo floral e folha como explantes na micropropagação da gérbera com flor vermelha. Os autores declararam que o tratamento com $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP apontou a maior taxa de multiplicação e que não houve diferença entre os tipos de explantes utilizados. Resultados dos autores corroboraram com a presente pesquisa na obtenção de calos no tratamento com auxina, porém é importante destacar que neste estudo foi utilizado folha com pecíolo como explante.

AKTER et al (2012), utilizaram em suas pesquisa vários explantes de gérbera (capítulo floral jovem, pecíolo, pedúnculo floral e folha) para micropropagação. Esses autores perceberam que todos explantes também formaram calos nos tratamentos com BAP + ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$): $2,22 + 2,68$; $2,22 + 5,36$. Dentre os explantes, relataram a maior taxa de multiplicação naqueles oriundos de capítulo floral jovem.



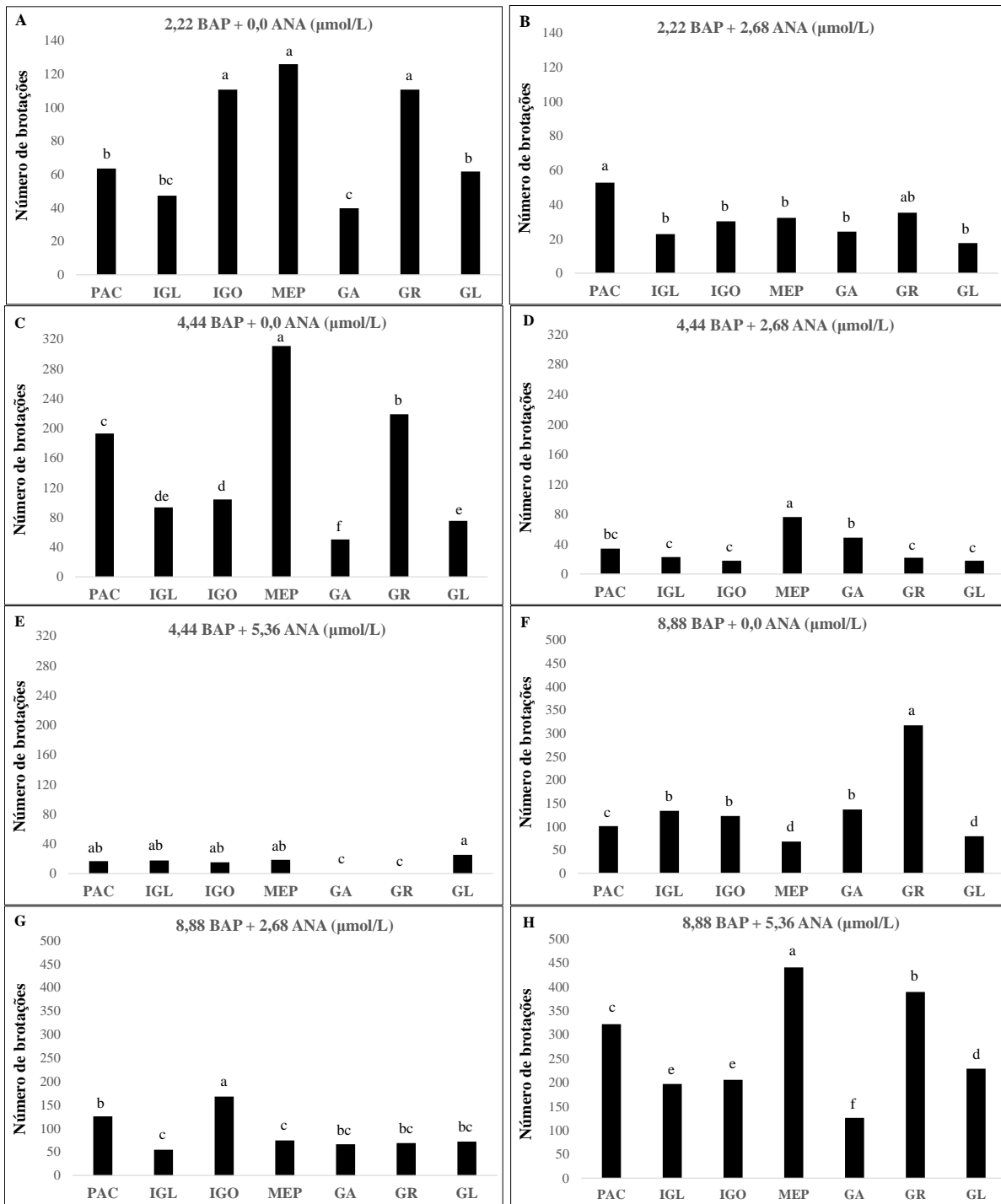
Figura 8. Resposta morfológica de indução e proliferação de gemas adventícias no explante folha peciolada dos sete genótipos de gérbera estudados.

Com relação a interação Genótipo x BAP x ANA, a figura 9 apresenta a produção de brotações significativas de cada genótipo de acordo com a combinação do fitorregulador.

A figura 9(A) mostrou que os genótipos 'Igor', 'Mephisto' e GR foram superiores quanto a produção de brotações na ausência de ANA e na concentração de $2,22 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. Na figura 9(B), observou-se que 'Pacific' foi superior aos demais na produção de brotações, porém a quantidade produzida foi muito inferior quando comparado a figura 9(A). Como foi descrito anteriormente, na combinação de $2,22 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + $5,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ ANA verificou-se somente a formação de calos.

Nas figuras 9(C), (D) e (E) observou-se que a maior produção de brotações foi obtida quando foi utilizado $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e ausência de ANA, com superioridade do genótipo 'Mephisto'. Quando essa concentração de BAP foi combinada com $2,68$ e $5,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA, a produção de brotações reduziu drasticamente e, na figura 9(E) os genótipos GA e GR somente produziram calos.

Nas figuras 9(F), o genótipo GR foi superior aos demais. Na 9(G) 'Igor' foi superior, porém, com menor quantidade de brotações que na figura 9(G). A combinação de BAP + ANA apresentada na figura 9(H) foi a que apresentou a maior quantidade média de brotações entre todos os sete genótipos e com superioridade de 'Mephisto'.



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 9. Número de brotações obtidas em cada genótipo de acordo com a combinação BAP + ANA, após oito subcultivos da fase de multiplicação *in vitro*.

Prasad (2014) estabeleceu um protocolo de micropropagação de gérbera via embriogênese somática a partir de explantes oriundos de pedúnculo floral e folhas. Para indução de calos, testou diferentes combinações de AIB (ácido indol-butírico), ANA e 2,4-D e observou que explantes de folhas exibiram maior porcentagem de formação de calos do que explantes oriundos de pedúnculo floral na concentração de $6,78 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 2,4-D. Para indução e formação de brotações, testou diferentes concentrações de BAP e cinetina e confirmou a maior

taxa de multiplicação na concentração de $6,66 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. Essa concentração com maior taxa de multiplicação é próxima da utilizada nas condições dessa pesquisa.

Resultados semelhantes foram encontrados por ASWATH e CHOUDHARY (2002), que estabeleceram um protocolo de micropropagação das gérberas AV101 e AV108 (Shri Ramco Biotech Ltda, Índia) via embriogênese somática a partir de folhas. Na fase de obtenção dos calos, os autores verificaram que não houve diferença entre os genótipos em questão e que a maior porcentagem de formação de calos foi obtida na concentração de $1,77 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e $21,48 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Para indução à brotação, testaram diferentes combinações de BAP e ANA e descreveram que os genótipos manifestaram diferentes repostas às combinações dos fitorreguladores, mas que o tratamento com $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e $10,75 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foi o que proporcionou a maior formação de brotos e que não houve diferença entre os genótipos nessa combinação.

HUSSEIN et al. (2008) utilizaram como explante folha com pecíolo de plantas já estabelecidas *in vitro* para micropropagação da gérbera 'SHTC3' (SHTC Company, Egito), e declararam que a concentração de $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP proporcionou a maior taxa de produção de brotos. Essa concentração de BAP também foi a mais eficiente na produção de brotações nas condições deste trabalho.

De acordo com os dados investigados nesta pesquisa, os fitorreguladores induziram os explantes à formação de calos, mas para a maioria dos tratamentos o estímulo induziu a formação de brotações.

KUMAR e KANWAR (2006) visaram a indução de calos para regeneração de gérberas via embriogênese somática, e utilizaram como explantes pétalas de capítulo floral aberto, pecíolo e folhas. Os autores perceberam a maior porcentagem de indução de calos nos explantes oriundos de pétalas de capítulo floral em meio MS suplementado com 2,4-D. Entretanto, para indução das brotações a partir dos calos, os explantes oriundos de folhas demonstraram a maior taxa de formação de brotos no tratamento com $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e $2,85 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA (ácido indol-acético).

HASBULLAH et al. (2008) utilizaram os explantes folhas, pecíolos e raízes de plantas estabelecidas *in vitro* para regeneração de gérberas. Para formação de calos, notaram que os explantes originados de folhas apresentaram maior taxa em meio MS suplementado com BAP e 2,4-D. Para indução de brotações, os explantes oriundos de pecíolos formaram mais brotos em meio suplementado com $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e $2,68 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Essa concentração também produziu brotações nas condições desse experimento, atentando-se para o fato de ter sido utilizado folha com pecíolo como explante.

PARVIN et al. (2017) testaram a indução e formação de calos de diferentes tipos de explantes de gérbera (capítulo floral jovem, capítulo floral aberto, folha, pecíolo e pedúnculo floral) em diferentes composições de fitorreguladores. Os autores encontraram a maior taxa de contaminação nos explantes oriundos de capítulo floral aberto. A maior taxa de formação de calos foi encontrada em explantes oriundos de capítulo floral jovem em meio MS suplementado com $13,31 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Por outro lado, KUMARI et al. (2018) também testou a indução e formação de calos a partir de folhas e relatou a maior taxa de formação na ausência de citocinina ($4,52 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 2,4-D + $5,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA + $9,84 \mu\text{mol L}^{-1}$ AIB).

A citocinina sozinha mostrou resposta significativa nas condições desta pesquisa e proporcionou a produção de brotações. Por outro lado, quando foi adicionado a auxina constatou-se uma maior produção de brotações, mostrando o efeito positivo da mesma.

GEORGE et al. (2008) mostraram que as auxinas (AIB, ANA e 2,4-D) estimulavam diretamente as fases iniciais do alongamento celular, fazendo com que as células responsivas transportassem ativamente íons de hidrogênio para fora da célula e diminuíssem o pH em torno das células. Esta acidificação da região da parede celular ativa proteínas de afrouxamento de

parede conhecidas como “expansões” para permitir o deslizamento de microfibrilas de celulose na parede celular e quebra de ligações em polissacarídeos de parede, permitindo que estas se estiquem mais facilmente e aumentem o crescimento da brotação mais rapidamente.

As auxinas controlam dois processos principais em colaboração com as citocininas, isto é, o ciclo celular e a divisão celular por um lado e o alongamento celular por outro. A relação auxina/citocinina representa um sinal importante na formação do fenótipo celular e também no surgimento e manutenção do processo de divisão celular. A ativação do alongamento celular pela auxina é mediada pelo aumento do efluxo de prótons. Divisões celulares normais requerem sincronia entre a fase S e a divisão celular, sugerindo que os níveis de auxina e citocinina nas culturas precisam ser cuidadosamente combinados (GEORGE et al., 2008).

ORLIKOWSKA et al. (1999) utilizaram folha com pecíolo como explante inicial e avaliaram a multiplicação *in vitro* das cultivares de gérbera ‘Boy’, ‘Mariola’, ‘Rebecca’, ‘Amber’, ‘Ferrari’, ‘Sundance’ e ‘Tamara’ em diferentes combinações de fitoreguladores. Os autores concluíram que existe a relação genótipo-dependente entre as cultivares e que todos os genótipos exibiram maior taxa de multiplicação nas combinações de 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 0,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA, sendo que ‘Mariola’ foi mais produtivo que os demais. Assim, mostraram o maior efeito da indução de brotações devido a presença da auxina.

4.3.3 Enraizamento *in vitro* das brotações

4.3.3.1 Experimento 1

Para cada genótipo de gérbera (‘Pacific’, ‘Igloo’ e ‘Igor’) foi feita uma ANOVA e observaram-se diferenças significativas para as variáveis biométricas (Tabelas 5, 11 e 16). Houve 100% de enraizamento e sobrevivência das mudas nos tratamentos testados.

A tabela 5 mostra o resumo da ANOVA do genótipo ‘Pacific’ para os fatores ANA, sacarose e meio de cultura.

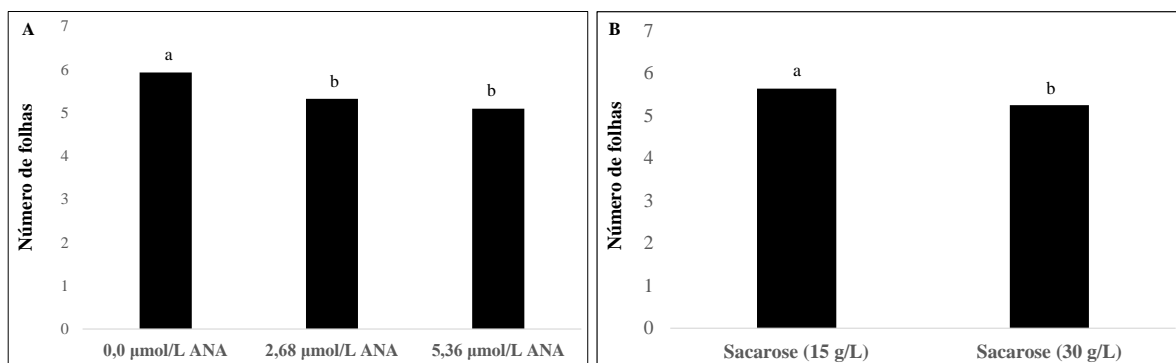
Tabela 5. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa da matéria fresca (MF) do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento *in vitro*, Seropédica/RJ, 2018.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio		
		NF	NR	MF
ANA	2	2,248613*	5,036396*	0,449811*
Meio	1	0,085556 ^{ns}	1,632432 ^{ns}	0,048910 ^{ns}
Sacarose (SAC)	1	1,332870*	0,938315 ^{ns}	0,130926*
ANA x Meio	2	0,522015 ^{ns}	3,972478*	0,076226*
ANA x SAC	2	1,568193*	0,940395 ^{ns}	0,213892*
Meio x SAC	1	0,669942 ^{ns}	2,877547*	0,000061 ^{ns}
ANA x Meio x SAC	2	1,235526*	1,317353 ^{ns}	0,039859 ^{ns}
Erro	25	0,264494	0,657881	0,1011
Total	35			
CV (%)		9,44	16,55	16,74
Média Geral		5,45	4,90	0,7506

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); ns – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$).

Em relação à variável número de folhas - NF por muda, observou-se que foi significativa para os fatores ANA, sacarose, ANA x sacarose e a interação ANA x meio x sacarose.

Para NF, notou-se que a ausência de auxina exibiu a maior quantidade de folhas nas mudas (Figura 10A) e, que a concentração de 15 g L⁻¹ de sacarose também proporcionou maior NF (Figura 10B).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 10. Número de Folhas de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de ANA (A) e sacarose (B).

A tabela 6 apresenta a interação ANA x sacarose.

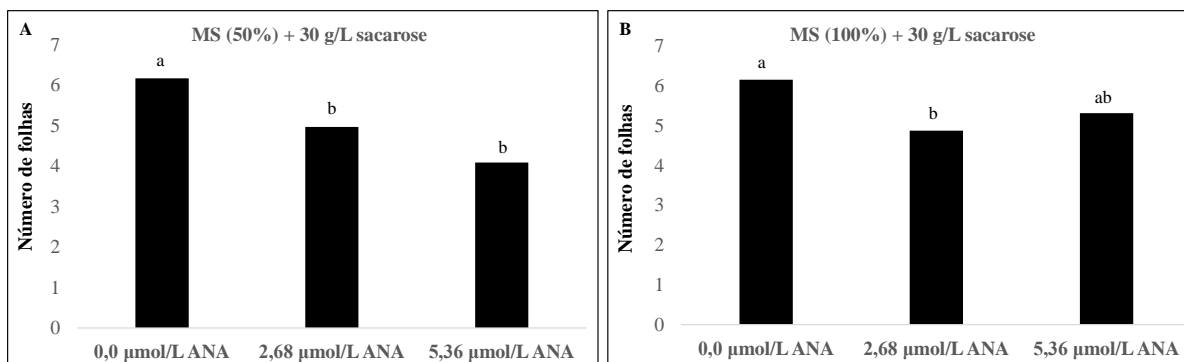
Tabela 6. Resumo da interação ANA x Sacarose para o número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 µmol L ⁻¹ ANA	2,68 µmol L ⁻¹ ANA	5,36 µmol L ⁻¹ ANA
15 g L ⁻¹ Sacarose	5,71 bA	5,72 aA	5,50 aA
30 g L ⁻¹ Sacarose	6,16 aA	4,92 bB	4,69 bB

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 6, observou-se que o maior número de folhas foi obtido na ausência de ANA e na concentração de 30 g L⁻¹ de sacarose.

A figura 11 apresenta as interações significativas de ANA x Meio x Sacarose para NF do genótipo ‘Pacific’. Verificou-se que tanto para a metade da concentração de sais do MS (50%) quanto para 100 %, o maior número de folhas foi obtido na ausência da auxina (Figura 11 A e B).

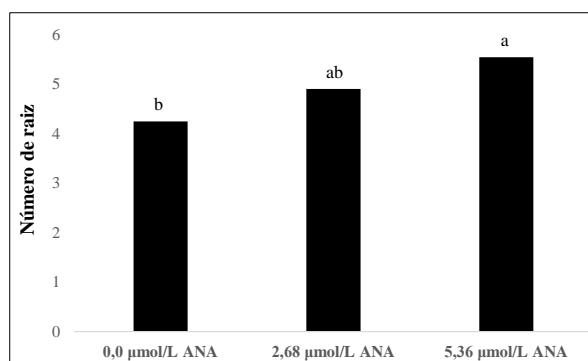


As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 11. Número de Folhas de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* de acordo com a interação significativa entre ANA x meio x sacarose.

Em relação à variável número de raízes - NR por muda, observou-se que foi significativa para os fatores ANA, sacarose, ANA x meio e a interação meio x sacarose.

Para o fator ANA, observou-se que a variável NR apresentou superioridade na concentração de 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA (Figura 12).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 12. Número de raízes de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de ANA.

A tabela 7 apresenta o resultado da interação ANA x meio.

Tabela 7. Resumo da interação ANA x meio para o número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA
MS (50%)	4,34 aA	5,06 aA	4,67 bA
MS (100%)	4,17 aB	4,75 aB	6,42 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 7, verificou-se que na maior concentração de ANA foi encontrado o maior número de raízes, porém, essas raízes eram muito espessas. As mudas que estavam em meio MS completo apresentaram mais raízes que àquelas em meio MS parcial.

A tabela 8 apresenta o resultado da interação meio x sacarose.

Tabela 8. Resumo da interação meio x sacarose para o número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018.

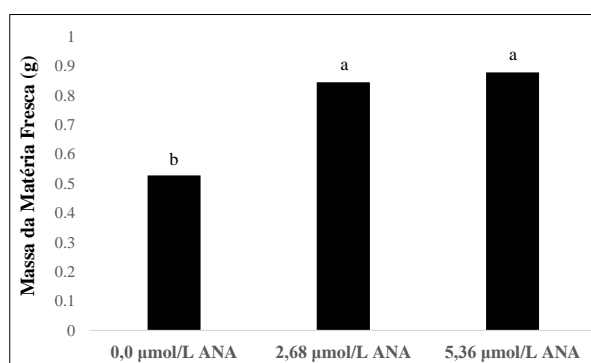
Tratamentos	Sacarose 15 g L ⁻¹	Sacarose 30 g L ⁻¹
MS (50%)	4,24 bB	5,13 aA
MS (100%)	5,24 aA	4,99 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme a tabela 8, o NR foi maior nas mudas que estavam em meio MS (100%) quando combinado com sacarose 15 g L⁻¹, e sem diferença quando combinado com sacarose 30 g L⁻¹.

Quanto a variável massa da matéria fresca - MF por muda, constatou-se que a mesma foi significativa para os fatores ANA, sacarose, ANA x meio e ANA x sacarose.

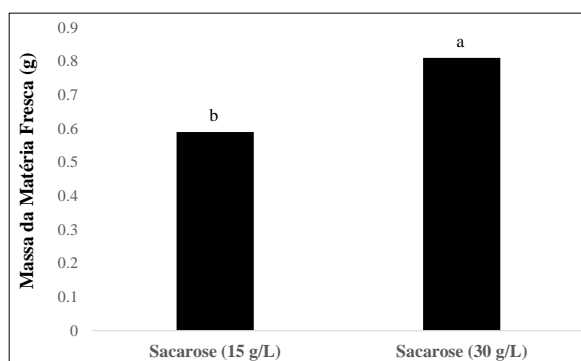
Para o fator ANA, notou-se que a variável MF apresentou superioridade nas concentrações de 2,68 e 5,36 µmol L⁻¹ de ANA, porém percebeu-se que essas mudas continham calos na base e raízes mais espessas que as mudas oriundas do tratamento com ausência de auxina (Figura 13).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 13. Massa da matéria fresca de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de ANA.

Para o fator sacarose, verificou-se as mudas que estavam em meio de cultura com 30 g L⁻¹ de sacarose apresentaram maior acúmulo de MF (Figura 14).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 14. Massa da matéria fresca de mudas do genótipo ‘Pacific’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose.

A tabela 9 apresenta o resultado da interação ANA x meio.

Tabela 9. Resumo da interação ANA x meio para a massa da matéria fresca obtida após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA
MS (50%)	0,42 bB	0,88 aA	0,83 aA
MS (100%)	0,64 aB	0,80 aA	0,92 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo a interação ANA x meio apresentada na tabela 9, as mudas oriundas do tratamento com aumento da concentração de ANA tiveram maior MF. No tratamento com ausência de ANA as mudas que estavam em meio MS (100%) apresentaram maior MF.

A tabela 10 apresenta o resultado da interação ANA x sacarose.

Tabela 10. Resumo da interação ANA x sacarose para a massa da matéria fresca obtida após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Pacific’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA
Sacarose 15 g L ⁻¹	0,31 aB	0,82 aA	0,92 aA
Sacarose 30 g L ⁻¹	0,74 aA	0,86 aA	0,83 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a interação apresentada na tabela 10, a MF foi igual estatisticamente nos tratamentos com 30 g L⁻¹ de sacarose independente da concentração de auxina.

A maior massa da matéria fresca foi obtida principalmente pela formação de calos na base da muda oriunda do tratamento com adição de ANA. Mas, essas mudas tiveram tamanho inferior àquelas do tratamento sem adição. Esse comportamento também foi observado por outros autores (RAHMAN et al., 2014; SHYLAJA et al., 2014), que recomendaram a ausência ou a adição em pequenas quantidades de auxinas, pois mudas maiores e mais desenvolvidas têm maior chance de sobrevivência na durante a fase de aclimatização.

RAHMAN et al. (2014) testaram diferentes combinações dos fitorreguladores AIA, AIB e ANA no enraizamento *in vitro* de brotações de gérbas oriundas da multiplicação *in vitro* utilizando folha como explante. Os autores notaram maior número médio de raízes por brotação quando foi utilizado 1,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB.

SHYLAJA et al. (2014) recomendaram a utilização de 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA para enraizamento *in vitro* de gérbas e também perceberam a formação de mudas menores e com calos em concentrações maiores de ANA.

HITMI et al. (1999) perceberam que a adição de ANA no enraizamento *in vitro* de brotações de crisântemo foi completamente inibitório e que concentrações acima de 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ formaram mudas menores em relação ao tratamento sem adição.

A tabela 11 mostra o resumo da ANOVA do genótipo ‘Igloo’ para os fatores ANA, sacarose e meio.

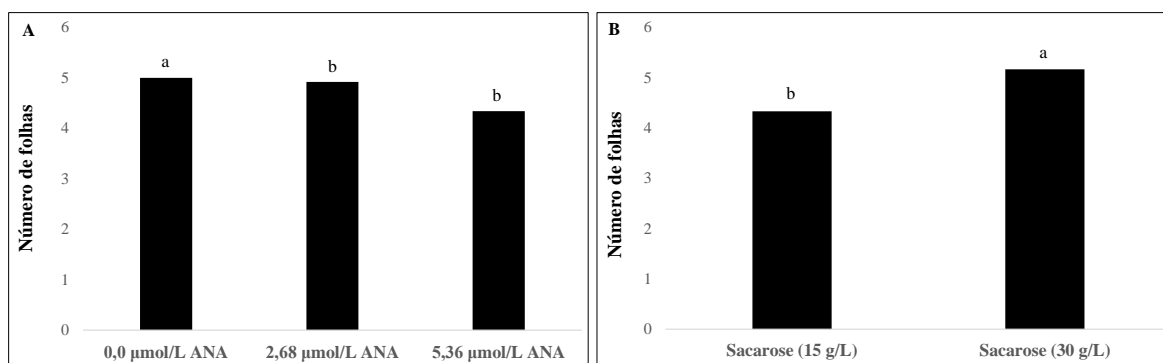
Tabela 11. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa da matéria fresca (MF) do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento *in vitro*, Seropédica/RJ, 2018.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio		
		NF	NR	MF
ANA	2	1,583333*	0,444444 ^{ns}	0,000582 ^{ns}
Meio	1	0,027778 ^{ns}	1,000000 ^{ns}	0,040160 ^{ns}
Sacarose (SAC)	1	6,250000*	4,000000*	0,551158*
ANA x Meio	2	0,722222 ^{ns}	0,333333 ^{ns}	0,014881 ^{ns}
ANA x SAC	2	6,500000*	9,000000*	0,007465 ^{ns}
Meio x SAC	2	4,694444*	16,000000*	0,013417 ^{ns}
ANA x Meio x SAC	2	2,055556 ^{ns}	2,775557 ^{ns}	0,109579 ^{ns}
Erro	24	9,333333	0,416667	0,037799
Total	35			
CV (%)		13,13	14,71	39,36
Média Geral		4,75	4,38	0,4939

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); ns – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$).

Como mostra a tabela 4, houve diferença significativa para o fator ANA, sacarose, interação ANA x sacarose e a interação Meio x sacarose para a variável NF.

Para NF, notou-se que a ausência de auxina exibiu a maior quantidade de folhas (Figura 15A) e, que a concentração de 30 g L⁻¹ de sacarose também proporcionou o maior NF (Figura 15B).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 15. Número de folhas de mudas do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de ANA (A) e sacarose (B).

A tabela 12 apresenta o resultado da interação ANA x sacarose.

Tabela 12. Resumo da interação ANA x sacarose para a número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 µmol L ⁻¹ ANA	2,68 µmol L ⁻¹ ANA	5,36 µmol L ⁻¹ ANA
Sacarose 15 g L ⁻¹	4,17 bA	4,34 bA	4,50 aA
Sacarose 30 g L ⁻¹	5,83 aA	5,50 aA	4,17 aB

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na tabela 12 observou-se que dentro de cada nível de ANA as mudas apresentaram maior NF quando foram oriundas do tratamento com 30 g L⁻¹ de sacarose, e para cada concentração de sacarose houve superioridade das mudas que estavam no tratamento com ausência de auxina.

A tabela 13 apresenta o resultado da interação meio x sacarose.

Tabela 13. Resumo da interação meio x sacarose para a número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018.

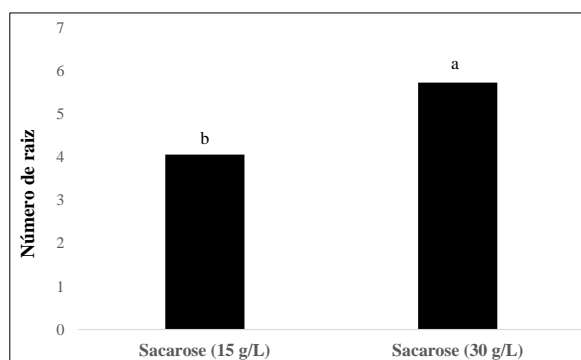
Tratamentos	Sacarose 15 g L ⁻¹	Sacarose 30 g L ⁻¹
MS (50%)	4,00 bB	4,78 bA
MS (100%)	4,67 aB	5,55 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Notou-se pela tabela 13 que as mudas do genótipo ‘Igloo’ oriundas dos tratamentos com meio MS (100%) + 30 g L⁻¹ de sacarose apresentaram maior NF após 30 dias de enraizamento *in vitro*.

Com relação à variável NR, verificou-se significância para os fatores sacarose, a interação ANA x sacarose e a interação meio x sacarose.

A figura 16 apresenta o resultado de NR para o fator sacarose.



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 16. Número de raízes de mudas do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose.

As mudas apresentaram maior quantidade de raízes quando cultivadas *in vitro* com 30 g L⁻¹ de sacarose.

A tabela 14 apresenta a interação ANA x sacarose da variável NR.

Tabela 14. Resumo da interação ANA x sacarose para a número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 μmol L ⁻¹ ANA	2,68 μmol L ⁻¹ ANA	5,36 μmol L ⁻¹ ANA
Sacarose 15 g L ⁻¹	3,17 bB	4,67 aA	4,34 aA
Sacarose 30 g L ⁻¹	5,83 aA	4,34 aB	4,00 aB

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Pela tabela 14, notou-se que as mudas apresentaram maior NR quando oriundas do tratamento com sacarose 30 g L⁻¹ e ausência da auxina.

A tabela 15 apresenta a interação meio x sacarose da variável NR.

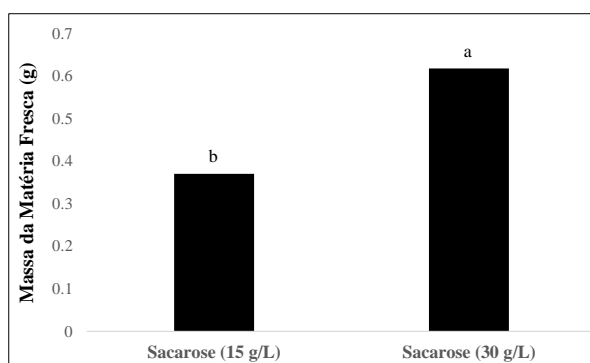
Tabela 15. Resumo da interação meio x sacarose para a número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Igloo’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	Sacarose 15 g L ⁻¹	Sacarose 30 g L ⁻¹
MS (50%)	3,22 bB	4,22 bA
MS (100%)	4,89 aA	5,22 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme a tabela 15, verificou-se que maior NR quando as mudas foram oriundas do tratamento com meio MS (100%) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose.

Com relação à variável MF, observou-se que a mesma foi significativa somente para o fator sacarose (Figura 17).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 17. Massa da matéria fresca de mudas do genótipo ‘Igloo’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose.

Verificou-se que as mudas oriundas do tratamento com 30 g L⁻¹ de sacarose acumularam mais biomassa que aquelas oriundas do meio com 15 g L⁻¹ de sacarose (Figura 17). Essa resposta também foi observada no genótipo ‘Pacific’, como descrito anteriormente.

SHABANPOUR et al. (2011) relataram que a melhor taxa de enraizamento das brotações de gérbera foi obtida quando utilizaram meio MS completo suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose.

O meio nutritivo a ser utilizado precisa fornecer todas as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e desenvolvimento *in vitro*. Quando cultivadas dessa forma, as plantas perdem parcialmente o autotrofismo, necessitando, assim, de uma fonte exógena de carboidratos. A fonte e a concentração dependem da espécie vegetal e da fase do processo de micropropagação. Os carboidratos fornecem energia metabólica e esqueletos carbônicos para a biossíntese de aminoácidos e proteínas, oligossacarídeos estruturais e todos os compostos orgânicos necessários para o crescimento das células. Assim, o carbono exógeno no meio de cultivo serve como fonte de energia, influenciando na fisiologia da planta e diferenciação de órgãos (GEORGE et al., 2008).

O tipo e a concentração dos açúcares são importantes para promover a multiplicação e o crescimento *in vitro*. A sacarose é o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos e, geralmente, sua concentração no meio MS é de 30 g L⁻¹. O número de folhas e massa da matéria

fresca da muda foram afetados pela concentração de sacarose no genótipo ‘Igloo’. Os dados obtidos são concordantes com as afirmações de vários autores que preconizam que a presença de carboidratos é essencial para o enraizamento *in vitro* de muitas espécies (OLIVERA-ORTEGA et al., 2000; RIBEIRO et al., 2008; SHABANPOUR et al., 2011). A formação *in vitro* de um sistema radicular funcional e bem desenvolvido é um dos pontos fundamentais para a sobrevivência das plantas na fase de aclimatização.

A tabela 16 mostra o resumo da ANOVA do genótipo ‘Igor’ para os fatores ANA, sacarose e meio.

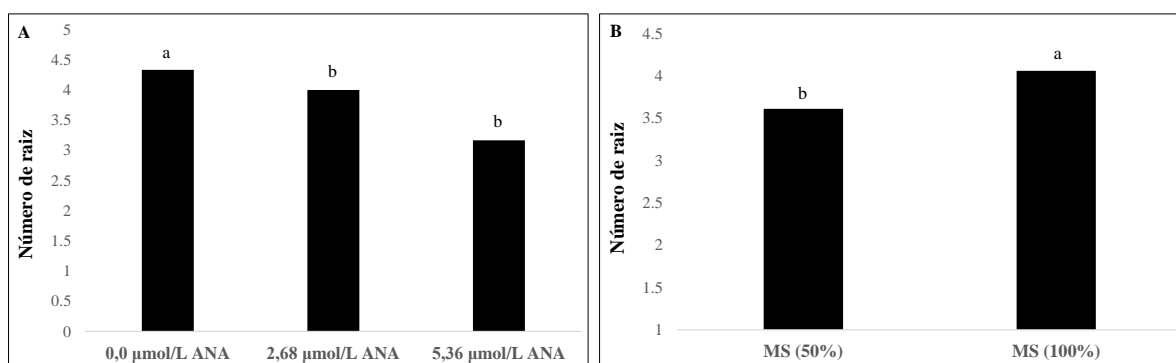
Tabela 16. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR) e massa fresca (MF) do genótipo ‘Igor’ após 30 dias de enraizamento *in vitro*, Seropédica/RJ, 2018.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio		
		NF	NR	MF
ANA	2	0,861111 ^{ns}	4,333333 [*]	0,020921 ^{ns}
Meio	1	0,250000 ^{ns}	1,777778 [*]	0,358881 [*]
Sacarose (SAC)	1	1,361111 ^{ns}	1,000000 ^{ns}	1,286561 [*]
ANA x Meio	2	0,583333 ^{ns}	0,444444 ^{ns}	0,055238 ^{ns}
ANA x SAC	2	0,861111 ^{ns}	3,000000 [*]	0,091207 ^{ns}
Meio x SAC	1	0,027778 ^{ns}	1,777778 ^{ns}	0,992282 ^{ns}
ANA*Meio*SAC	2	1,694444 ^{ns}	1,444444 ^{ns}	0,020783 ^{ns}
Erro	24	0,587449	0,666667	0,067252
Total	35			
CV (%)		16,46	16,84	57,26
Média Geral		4,52	3,83	0,4529

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); ns – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$).

Como mostra a tabela 16, não houve diferença significativa em nenhum dos fatores na variável NF. Para NR houve diferença significativa para os fatores ANA, meio e a interação ANA x sacarose. E para MF, a houve significância para os fatores meio, sacarose e a interação meio x sacarose.

A figura 18 apresenta a diferença significativa para variável NR do fator ANA.



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 18. Número de raízes de mudas do genótipo ‘Igor’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de ANA (A) e meio MS (B).

De acordo com a figura 18, as mudas de ‘Igor’ oriundas do tratamento com ausência de auxina (A) e meio MS (100%) (B) tiveram maior quantidade de raízes.

A tabela 17 apresenta a interação ANA x sacarose da variável NR.

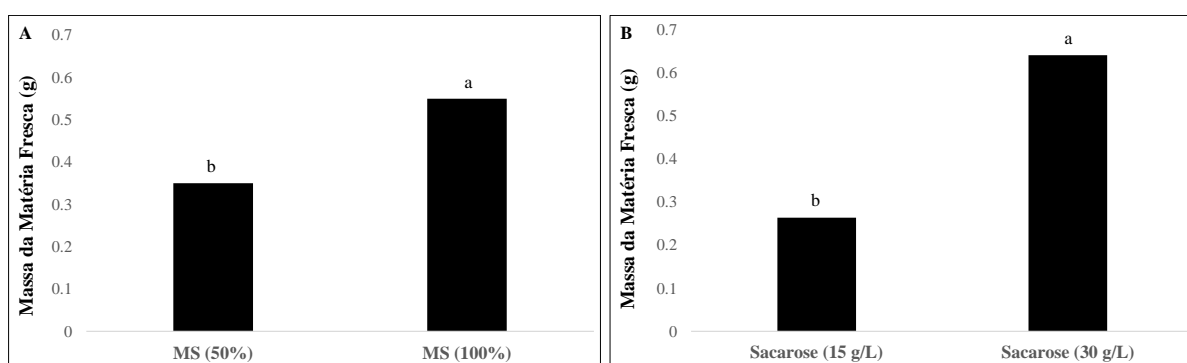
Tabela 17. Resumo da interação ANA x sacarose para a número de raízes obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* do genótipo ‘Igor’, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA	5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA
Sacarose 15 g L ⁻¹	3,60 bA	3,84 aA	3,50 aA
Sacarose 30 g L ⁻¹	5,00 aA	4,16 aB	2,83 aC

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As mudas oriundas do meio de cultura suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e ausência de ANA apresentaram maior número de raízes.

Para a variável MF, observou-se diferença significativa para os fatores meio (Figura 19A) e sacarose (Figura 19B).



As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 19. Massa da matéria fresca de mudas de genótipo ‘Igor’ após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes concentrações de MS (A) e sacarose (B).

As mudas oriundas do meio de cultura MS (100%) e sacarose (30 g L⁻¹) acumularam mais biomassa após 30 dias de enraizamento *in vitro* que àquelas oriundas de meio de cultura MS (50%) e sacarose (15 g L⁻¹).

A sacarose atua como uma fonte de energia e fornece carbonos precursores para a biossíntese de componentes estruturais e funcionais, como carboidratos, aminoácidos e outras moléculas necessárias para o crescimento (JAIN, 2016). O suprimento exógeno de açúcar pode ampliar as reservas de amido e sacarose nas plantas micropropagadas e favorecer a aclimatização, bem como acelerar as adaptações fisiológicas (JAIN, 2016).

De modo geral, constatou-se repostas semelhantes entre os três genótipos analisados neste experimento, assim, as melhores repostas para as variáveis biométricas NF, NR e MF foram oriundas dos tratamentos que utilizaram meio de cultura MS (100%), suplementado com sacarose (30 g L⁻¹) e ausência de auxina (Figura 15).

OLIVERA-ORTEGA et al. (2000) estudaram o enraizamento *in vitro* de gérbera em meio MS (50% força), 0,17 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA e duas concentrações de sacarose (20 e 40 g L⁻¹). Os autores observaram maior crescimento e número de raízes quando foi utilizado 40 g L⁻¹ de sacarose.

RIBEIRO et al. (2008) testaram diferentes concentrações do meio MS (0; 50; 100; 150 e 200%) e sacarose (0; 15; 30; 45 e 60 g L⁻¹) durante o enraizamento *in vitro* de brotações de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* L.) e relataram maior número de folhas e massa da

matéria fresca da parte aérea nos tratamentos com meio MS (100%) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose.

SCHWERTNER e ZAFFARI (2003), testaram diferentes combinações de meio e sacarose no enraizamento *in vitro* de brotações de singônio, e confirmaram que o meio MS completo + 30 g L⁻¹ de sacarose e ausência de auxina, mostrou maior taxa de enraizamento para esta planta ornamental.

Embora em todos os tratamentos com adição de auxina tenham apresentado raiz nos três genótipos, a grande quantidade de calos fez com que as mudas tivessem tamanho reduzido (Figura 20).



Figura 20. Mudanças dos genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento *in vitro* em meio MS (100%) e 30 g L⁻¹ de sacarose: (A) 2,68 µmol L⁻¹ ANA, (B) 5,36 µmol L⁻¹ ANA e (C) ausência de ANA.

4.3.3.2 Experimento 2

A porcentagem de sobrevivência das mudas de todos os genótipos foi alta (média de 98%) e a porcentagem de enraizamento de todos os genótipos nos tratamentos foi 100%, sem diferença estatística entre os mesmos.

A tabela 18 mostra o resumo da ANOVA para o número de folhas, número de raízes, número de brotações e massa da matéria fresca das mudas dos sete genótipos de gérbera, obtidos após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes meios de cultura.

Tabela 18. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de raízes (NR), número de brotações (NB) e massa da matéria fresca (MF) dos genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA, GR e GL, após 30 dias de enraizamento *in vitro*, Seropédica/RJ, 2018.

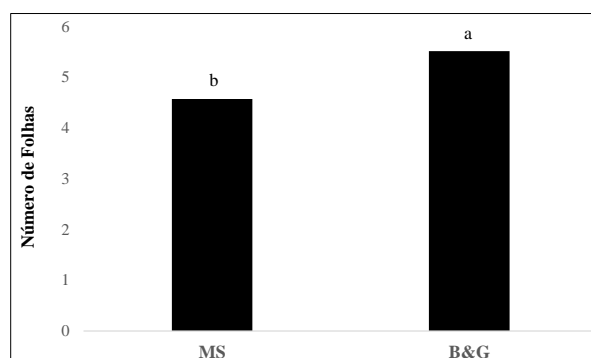
Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio			
		NF	NR	NB	MF
Genótipo (GEN)	6	1,607143 ^{ns}	3,345465 ^{ns}	2,595238*	0,165611 ^{ns}
Meio	1	10,314286*	1,47007 ^{ns}	0,028571 ^{ns}	0,141694 ^{ns}
GEN x Meio	6	2,830952*	1,845784 ^{ns}	1,328571*	0,263788*
Erro	126	0,863492	1,093599	0,594628	0,099089
Total	139				
CV (%)		17,72	23,54	108,01	50,88
Média Geral		5,24	4,37	0,7142	0,6202

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); ns – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$).

Observou-se que a variável NF foi significativa para o fator meio e a interação genótipo x meio. NR não apresentou resposta significativa. NB apontou resposta significativa para o fator genótipo e a interação genótipo x meio e a variável MF foi significativa para a interação genótipo x meio.

Dentro da classificação de coeficiente de variação (CV) proposto por WERNER et al. (2012) para experimentos de cultura de tecidos vegetais, notou-se que as variáveis NF e NR apresentaram CV médio, NB exibiu CV muito alto (acima de 52,22%) e MF demonstrou CV alto.

A figura 21 apresenta as diferenças significativas para o fator meio da variável NF.



Legenda: MS-Meio de cultura MS, B&G-Meio de Cultura B&G® Orquídeas. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 21. Número de folhas de mudas de sete genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes tipos de meio de cultura.

A variável NF foi significativa e, apresentou média geral maior para mudas cultivadas em meio B&G[®] do que àquelas cultivadas em meio MS.

A tabela 19 apresenta a interação genótipo x meio da variável NF.

Tabela 19. Resumo da interação genótipo x meio para a número de folhas obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

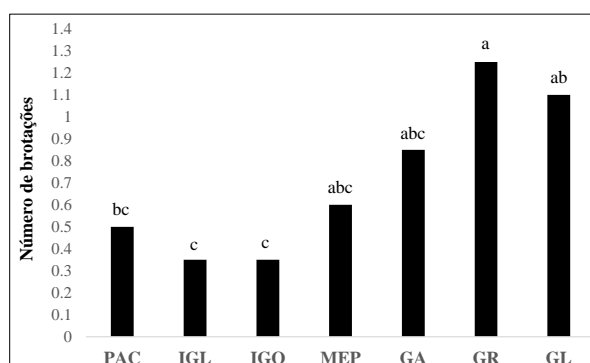
Tratamentos	‘Pacific	‘Igloo’	‘Igor’	‘Mephisto’	GA	GR	GL
MS	4,8 bB	6,1 aA	5,5 aAB	4,8 bB	4,7 aB	4,5 bB	4,4 bB
B&G	5,8 aA	5,5 aA	5,1 aA	5,7 aA	5,2 aA	5,7 aA	5,6 aA

MS - Meio de cultura MS, B&G - Meio de Cultura B&G[®] Orquídeas. Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme a tabela 19, os sete genótipos de gérbera avaliados tiveram número de folhas igual ou superior quando foram enraizados *in vitro* em meio de cultura B&G[®] em relação ao meio MS. Já os genótipos ‘Pacific’, ‘Mephisto’, GR e GL tiveram maior NF para B&G[®].

Não houve diferença significativa entre os genótipos para NR devido à alta porcentagem de enraizamento dos mesmos.

Para a variável NB pode ser observado que houve diferença significativa para os fatores genótipo (Figura 22) e a interação genótipo x meio (Tabela 20).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 22. Número de brotações de mudas de sete genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento *in vitro* em diferentes tipos de meio de cultura.

Constatou-se que o genótipo GR foi estatisticamente igual a ‘Mephisto’, GA e GL para número de brotações e superior a ‘Pacific’, ‘Igloo’ e ‘Igor’.

Na interação, GR foi igual a GL e superior aos demais genótipos para número de brotações de mudas enraizadas *in vitro* em meio de cultura MS. Dentro do meio MS não houve diferença entre os genótipos para NB (Tabela 20).

Tabela 20. Resumo da interação genótipo x meio para a número de brotações obtidas após 30 dias de enraizamento *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	‘Pacific	‘Igloo’	‘Igor’	‘Mephisto’	GA	GR	GL
MS	0,4 aB	0,2 aB	0,2 aB	0,5 aB	1,0 aAB	1,8 aA	1,0 aAB
B&G	0,6 aA	0,5 aA	0,5 aA	0,7 aA	0,7 aA	0,7 bA	1,2 aA

MS - Meio de cultura MS, B&G - Meio de Cultura B&G[®] Orquídeas. Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na comparação entre os meios, apenas GR foi superior para NB quando cultivado em meio MS e sem diferenças entre os demais.

Com relação a variável MF, observou-se diferença significativa para a interação genótipo x meio (Tabela 21).

Tabela 21. Resumo da interação genótipo x meio para massa da matéria fresca (g) obtida após 30 dias de enraizamento *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Trat	'Pacific'	'Igloo'	'Igor'	'Mephisto'	GA	GR	GL
MS	0,582 aAB	0,404 aB	0,393 aB	0,582 aAB	0,863 aA	0,731 aAB	0,562 bAB
B&G	0,683 aA	0,654 aA	0,630 aA	0,510 aA	0,560 bA	0,648 aA	0,891 aA

Trat - Tratamentos, MS - Meio de cultura MS, B&G - Meio de Cultura B&G[®] Orquídeas. Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 21, as respostas foram diferentes entre os genótipos dentro de cada meio. Para o meio B&G[®], os genótipos não tiveram diferença estatística. Para o meio MS, as mudas do genótipo GA apresentaram MF estatisticamente igual a 'Pacific', 'Mephisto', GR e GL e superior aos demais.

Ao se analisar cada genótipo, observou-se que apenas os genótipos GA e GL apresentaram diferença significativa entre os meios de cultura. As mudas de GA acumularam mais biomassa quando cultivadas *in vitro* em meio MS, enquanto GL em meio B&G[®].

Os fatores que mais frequentemente determinam o sucesso da micropropagação são a origem do explante e o meio nutritivo onde são cultivados. A inclusão do meio B&G[®] na fase de enraizamento *in vitro* de genótipos de gérbera foi uma tentativa de otimizar o crescimento/enraizamento das mudas neste estágio da micropropagação. Segundo PAWŁOWSKA et al. (2018), essas modificações visam principalmente a redução ou o incremento de alguns componentes que podem promover melhor crescimento em tecidos de gérberas.

Alterações nas condições de cultivo nessa fase de enraizamento *in vitro* visando a otimização do processo com a redução de gastos, seja pela diminuição do período, utilização de fertilizantes como meio de cultura e rustificação das mudas para sofrerem menos com a transferência para a aclimatização, foram feitas com êxito em várias espécies de plantas (CARDOSO et al., 2013; SILVA et al., 2015; KADAM et al., 2018).

WINARTO e YUFDY (2017) testaram diferentes composições de meio MS no enraizamento *in vitro* da gérbera 'Black Jack'. Os autores perceberam maior taxa de enraizamento e crescimento das plantas em meio MS completo, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 1,5 g L⁻¹ de carvão ativado. Kadu (2013) também notaram maior taxa de enraizamento em meio MS suplementado com carvão ativado (0,75 g L⁻¹).

Como já descrito anteriormente, o meio B&G[®] Orquídeas suprimento contém em sua formulação, além dos macro e micronutrientes, 1 g L⁻¹ de carvão ativado e 40 g L⁻¹ de sacarose. O meio MS utilizado nesta pesquisa continha 30 g L⁻¹ de sacarose em sua composição. A presença do carvão ativado e da maior concentração de sacarose pode ter proporcionado o maior crescimento/desenvolvimento *in vitro* na maioria dos genótipos como foi observado.

A adição de carvão ativado ao meio de cultura pode promover ou inibir o crescimento *in vitro*. Conforme a espécie e o tipo de tecido utilizado, pode apresentar efeitos benéficos ou prejudiciais, e esses efeitos podem estar atribuído à formação de ambiente escuro no meio. O carvão ativado no meio de cultura é uma prática comum em trabalhos de cultura de tecidos vegetais, especialmente por sua capacidade de adsorção a diversas substâncias (KADAM et al., 2018). A adição do carvão ativado influencia no alongamento das plantas, podendo ser atribuída à adsorção de substâncias inibitórias do meio ou adsorção de produtos tóxicos liberados pelos

explantes que causam variação do pH do meio de cultura e o pH pode promover maior e melhor aproveitamento dos nutrientes (JAIN, 2016; SWANDARI; SETYORINI, 2017).

Apesar do meio B&G[®] ter sido elaborado para melhorar a nutrição de plantas de orquídeas *in vitro*, pode-se constatar que o mesmo também foi eficiente no enraizamento *in vitro* dos sete genótipos de gérbera desse estudo (Figura 23). Não foi encontrado na literatura trabalhos com o uso desse meio para o cultivo *in vitro* de plantas de gérberas.

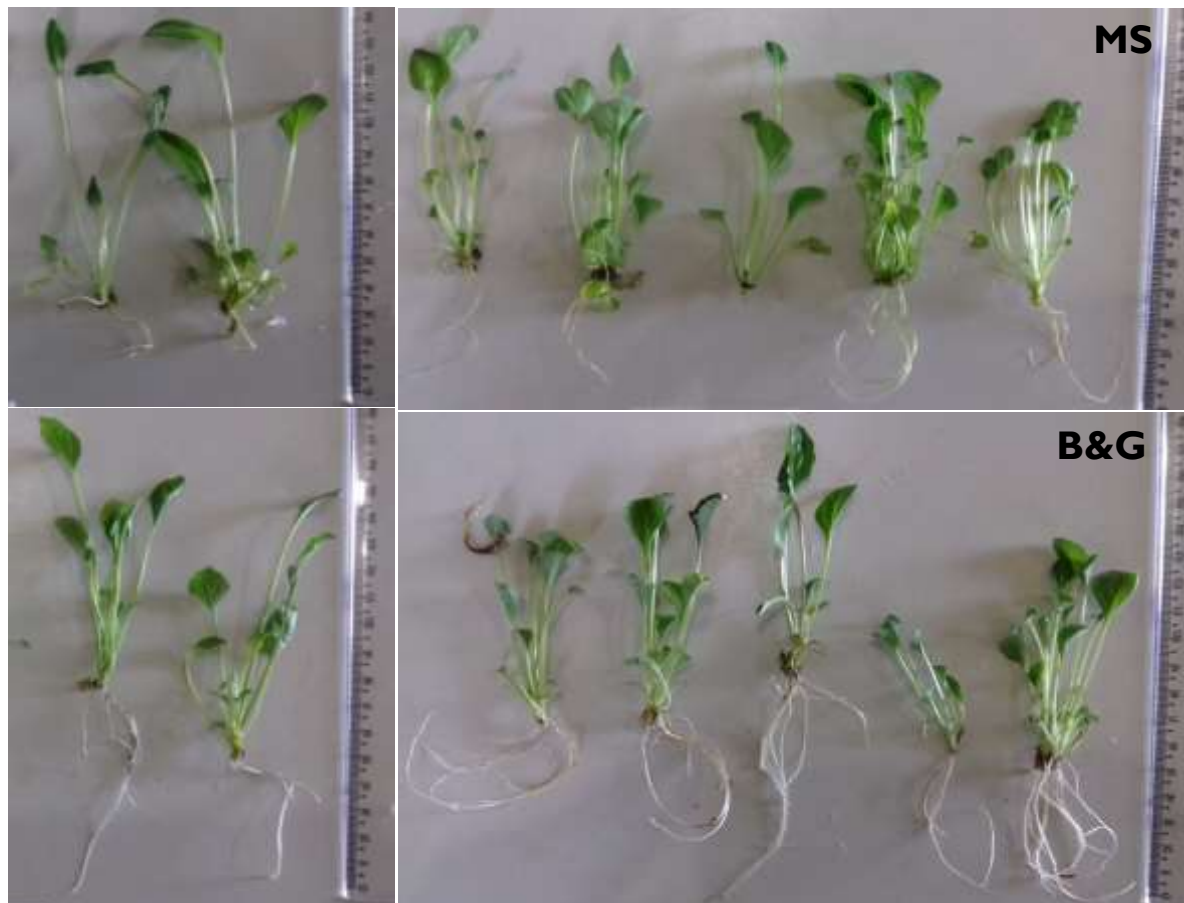


Figura 23. Mudanças dos genótipos de gérbera após 30 dias de enraizamento *in vitro* em meio MS e B&G[®] Orquídeas. Da esquerda para direita os genótipos: ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA, GR e GL.

Visando a redução de custos na micropropagação dos genótipos de gérbera, trabalhos futuros deverão testar diferentes concentrações de sacarose, para se verificar a influência da mesma no desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização, bem como analisar outros meios de cultura/fertilizantes em substituição ao meio MS nas fases de multiplicação e enraizamento *in vitro*.

4.3.4 Aclimatização

A porcentagem de sobrevivência das mudas do experimento 1 após 90 dias de aclimatização foi igual ou maior que 90%, sem diferença entre os genótipos (Figura 24).

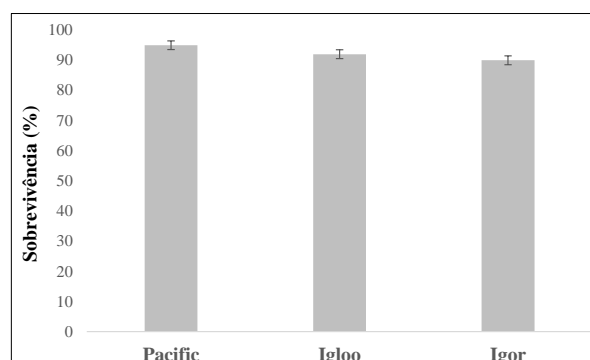
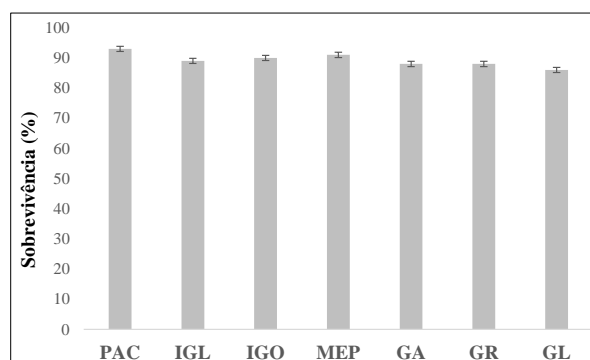


Figura 24. Médias e erro padrão da porcentagem de sobrevivência de mudas dos genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’ e ‘Igor’ após 90 dias de aclimatização.

Observou-se que a sobrevivência das mudas foi alta durante o período de aclimatização avaliado (outubro a dezembro). Após a aclimatização, as mudas foram transferidas para outra casa de vegetação e plantadas em solo (canteiro) mantendo o mesmo esquema experimental.

A porcentagem de sobrevivência das mudas do experimento 2 após 90 de aclimatização foi igual ou maior que 86% (Figura 25).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja.

Figura 25. Médias e erro padrão da porcentagem de sobrevivência de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização.

A sobrevivência das mudas foi considerada alta no período avaliado (janeiro a março), sem diferença entre os genótipos, porém GL foi o que apresentou a menor taxa de sobrevivência.

O sistema convencional de aclimatização consiste em transplantar as mudas cultivadas *in vitro* para recipientes em ambiente controlado, mantendo a umidade relativa do ar elevada e a luminosidade reduzida por um curto período de tempo, para que as mudas se adaptem progressivamente às novas condições de crescimento. Após esse período, ocorre uma gradual redução da umidade e um aumento da densidade de fluxo de fótons (CHAKRABARTY; DATTA, 2008).

A aclimatização é a etapa em que as plantas são transferidas da condição *in vitro* para *ex vitro*. Atenção especial deve ser dada a essa etapa, pois as mudas *in vitro* possuem

características anatômicas e fisiológicas desfavoráveis, tais como, cutícula pouco espessada, estômatos poucos funcionais, além de fraca conexão vascular (CARDOSO et al., 2013). Essas características desfavoráveis fazem com que seja necessário maior controle de luminosidade, temperatura e umidade durante a aclimatização, pois é nessa fase que ocorrem as maiores taxas de mortalidade (FRÓMETA et al., 2017).

Nas condições deste trabalho, verificou-se que a taxa de sobrevivência nos dois experimentos de aclimatização foi considerada alta. As condições favoráveis e mantidas na casa-de-vegetação (controle da temperatura e umidade) permitiram a manutenção das mudas mesmo durante o segundo experimento (período de verão), pois segundo a Köppen e Geiger no município de Seropédica o clima é tropical e classificado como Aw, com temperatura média anual de 25,5 °C e pluviosidade média anual de 1354 mm.

Outros trabalhos de aclimatização de gérbera também relataram boa porcentagem de sobrevivência na aclimatização. RAHMAN et al. (2014) relataram 84% de sobrevivência das mudas de gérbera na aclimatização. HASBULLAH et al. (2008) apuraram 75% de sobrevivência nesta fase. Em seu experimento, GANTAIT et al. (2010) constataram 95% de sobrevivência após 86 dias na fase de aclimatização. OLIVERA-ORTEGA (2000) declararam 89,5% de sobrevivência das mudas nesta fase. BHARGAVA et al. (2013) notaram 90% de sobrevivência da gérbera ‘Harley’ durante a aclimatização. FRÓMETA et al. (2017) obtiveram 87% de sobrevivência das mudas da gérbera ‘E-5’ oriundas da micropropagação em biorreatores de imersão temporária.

ISLAM et al. (2017) compararam a porcentagem de sobrevivência na aclimatização dos genótipos de gérbera ‘Spark’, ‘Melonepink’, ‘Alabanda’, ‘Aladin’, ‘Kristen’, ‘Wink’, ‘Pepe’, ‘Silvester’ e ‘Sonata’. Os autores observaram grande variação da sobrevivência (20 a 90%) entre os genótipos nesta fase. SON et al. (2011) também compararam a porcentagem de sobrevivência de genótipos de gérbera na fase de aclimatização. Os autores verificaram alta taxa de sobrevivência entre os genótipos e destacaram que ‘Tobia’ foi superior (94%) às gérberas ‘Arianna’ e ‘Bonnie’. SHYLAJA et al. (2014) constataram que o genótipo ‘Dubai’ teve a maior taxa de sobrevivência (90%) que ‘Shania’ (66,67%) durante a aclimatização.

CHAKRABARTY e DATTA (2008) analisaram o papel do estresse oxidativo e a proteção dos sistemas enzimáticos em relação à progressão do processo de aclimatização de mudas de gérbera. Em seus estudos os autores notaram um aumento da peroxidação lipídica e do conteúdo de H₂O₂ nos estágios iniciais da fase de aclimatização (primeiros 15 dias), em um processo semelhante ao estresse oxidativo. Para diminuir o efeito da transferência do cultivo *in vitro* para condições *ex vitro*, os autores sugeriram que as mudas desenvolveram um sistema antioxidante de proteção enzimática que determina a capacidade de sobreviver ao estresse oxidativo e que a regulação positiva dessas enzimas ajudou a reduzir a acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS) para superar a adversidade inicial e assim puderam sobreviver a fase de aclimatização.

CARDOSO et al. (2013) visando a redução de custos da micropropagação, estudaram o enraizamento *in vitro* das gérberas ‘BMC101’ e ‘AL101’, sob condições fotoautotróficas (livre de açúcar) e em condições de casa-de-vegetação (luz natural). O tratamento controle (30 g L⁻¹ de sacarose) foi feito normalmente em laboratório. Após 30 dias de enraizamento nas duas condições, os autores constataram que as mudas enraizadas *in vitro* em casa de vegetação, exibiram aumento significativo em número de folhas, diâmetro foliar, número de raízes, pesos fresco e seco e taxa de sobrevivência na aclimatização, em relação àquelas enraizadas em condições de laboratório. Assim, concluíram que a “pré-aclimatização” das mudas em casa-de-vegetação foi eficiente para redução dos custos da micropropagação de gérberas, além de ter reduzido o impacto da transferência para as condições *ex vitro*.

Após 90 dias de aclimatização dos genótipos de gérbera, a tabela 22 apresenta o resumo da análise de variância para as variáveis biométricas das mudas.

Tabela 22. Resumo da análise de variância para a número de folhas (NF), número de brotações (NB) e massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA), volume de raiz (VR), massa da matéria seca de raiz (MSR), massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca total (MST) dos sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização, Seropédica/RJ, 2018.

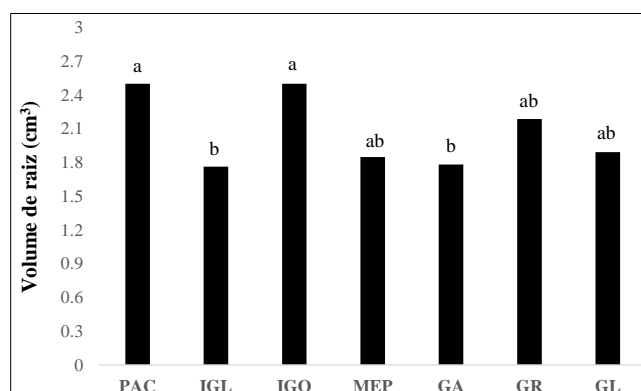
FV	GL	Quadrado Médio						
		NF	NB	VR	MFPA	MSPA	MSR	MST
Genótipo	6	0.594663 ^{ns}	1.175671 ^{ns}	1.065366*	4.614225*	0.043685*	0.018666 ^{ns}	0.104287*
Bloco	9	0.641077 ^{ns}	0.603350 ^{ns}	0.215414 ^{ns}	0.528247 ^{ns}	0.011434 ^{ns}	0.007459 ^{ns}	0.029353 ^{ns}
Erro	54	1.232922	0.518995	0.272859	0.987535	0.017998	0.008341	0.041755
Total	69							
CV (%)		16,87	90,59	25,26	22,09	22,98	29,81	22,95
Média Geral		6,58	0,7952	2,068	4,498	0,5838	0,3063	0,8902

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); ns – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$). FV – Fontes de Variação.

O número de folhas mostrou-se com grande uniformidade entre os genótipos estudados. De acordo com COLOMBO et al. (2017), mudas com maior número de folhas têm maior índice de pegamento no campo, porque as folhas são as estruturas responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica por meio da fotossíntese.

Embora o NB não tenha apresentado diferença significativa, observou-se variação entre os genótipos. Na prática, percebeu-se que a mesma foi importante para os genótipos adquirirem maior MFPA, MSPA, MSR e MST, pois a presença das brotações proporcionou aumento dos valores das variáveis citadas.

De acordo com a figura 26, observou-se diferenças para a variável VR.



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja.

Figura 26. Volume de raiz de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização.

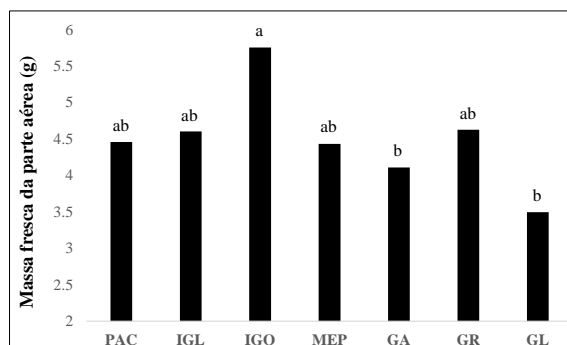
Os genótipos ‘Pacific’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GR e GL foram estatisticamente iguais.

Apesar de mostrar pequena variação do volume de raiz entre os genótipos, observou-se aos 90 dias de aclimatização que as células da bandeja já estavam totalmente preenchidas com as raízes, fato que dificultou a retirada do substrato para análise dessa variável.

É importante utilizar o recipiente adequado nessa fase, pois a restrição do crescimento de raízes provocada pelo volume do mesmo pode promover o desequilíbrio na razão entre raízes e parte aérea, alterando as respostas fisiológicas da planta, e conseqüentemente o desenvolvimento da muda (BONFIM et al., 2007).

Tal situação foi constatada por COUTO et al. (2016), que durante a aclimatização de mudas de abacaxizeiro, verificaram uma restrição do crescimento radicular provocado pelo volume da célula da bandeja. Essa restrição causou uma interrupção do crescimento das mudas, confirmado pelas análises ecofisiológicas, e assim, o período de aclimatização foi reduzido para 75 dias.

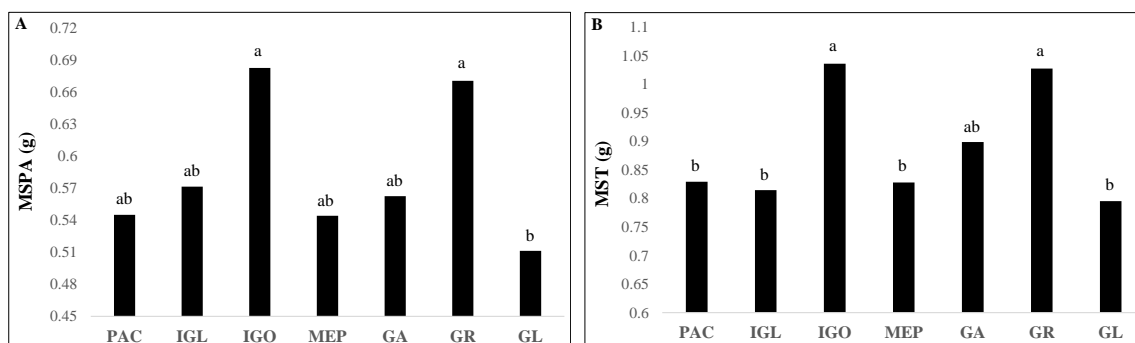
Para a variável MFPA (Figura 27), observou-se que o genótipo ‘Igor’ foi superior aos genótipos GA e GL e estatisticamente igual ao restante dos genótipos.



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja.

Figura 27. Massa da matéria fresca da parte aérea de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização.

Para as variáveis MSPA e MST observou-se repostas semelhantes entre os genótipos.



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja.

Figura 28. Massa da matéria seca da parte aérea (A) e total (B) de mudas de sete genótipos de gérbera após 90 dias de aclimatização.

A MSPA foi estatisticamente igual na maioria dos genótipos, exceto para GL, que foi inferior ao genótipo ‘Igor’ e GR (Figura 28A). Para MST, observou-se que os genótipos ‘Igor’ e GR acumularam mais biomassa e consequentemente tiveram maior crescimento que os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Mephisto’ e GL aos 90 dias da fase de aclimatização (Figura 28B).

É importante se realizar a análise da massa seca de raiz para se observar o crescimento das mesmas durante a fase de aclimatização, pois as raízes das mudas geradas durante o cultivo *in vitro* não são consideradas funcionais quando transplantadas; portanto, novas raízes deverão ser estabelecidas a partir das primeiras, a fim de garantir a sobrevivência das mudas e posterior desempenho no campo (CALVETE et al., 2000).

BOSA et al. (2003) relataram que as plantas acumulam aproximadamente 90% da matéria seca, ao longo de seu crescimento, por meio da atividade fotossintética e o restante depende da absorção de minerais. A distribuição da massa da matéria seca nas diferentes partes da planta tem sido descrita através das relações entre a massa da matéria seca dessas. COLOMBO et al. (2017) afirmam que uma parte dessas correlações é fixada geneticamente e, dentro desses limites, as condições externas podem ter um efeito modificador. Apesar de estarem no mesmo substrato e recebendo a mesma adubação, os genótipos ‘Igor’ e GR se destacaram no acúmulo da matéria seca total em relação aos demais.

Após a aclimatização, foi possível completar todas as fases da micropropagação dos genótipos de gérbera estudados (Figura 29), sendo que muitos trabalhos científicos analisados, não descreveram a micropropagação da gérbera por completo, focando principalmente na fase de estabelecimento e multiplicação *in vitro* das plantas.

WINARTO e YUFDY (2017) estabeleceram um protocolo completo de micropropagação do genótipo de gérbera ‘Black Jack’ a partir de explantes oriundos de ápice caulinar de brotação de planta adulta. Os autores observaram 95% de sobrevivência das mudas na aclimatização.

KUMARI et al. (2018) também estabeleceram um protocolo completo de micropropagação da gérbera ‘Partrizia’ a partir de explantes oriundos de capítulo floral jovem e obtiveram uma taxa de sobrevivência média de 89,67% durante a aclimatização.

Considerando que a espécie demonstrou facilidade de enraizamento e aclimatização, estudos futuros deverão testar o enraizamento dos brotos sob condições *ex vitro*, diferentes substratos, adubações, recipientes, etc., visando a redução do período de aclimatização, bem como o estudo da análise fisiológica dos genótipos de gérbera, para entender o comportamento de maior crescimento de alguns genótipos nesta fase.

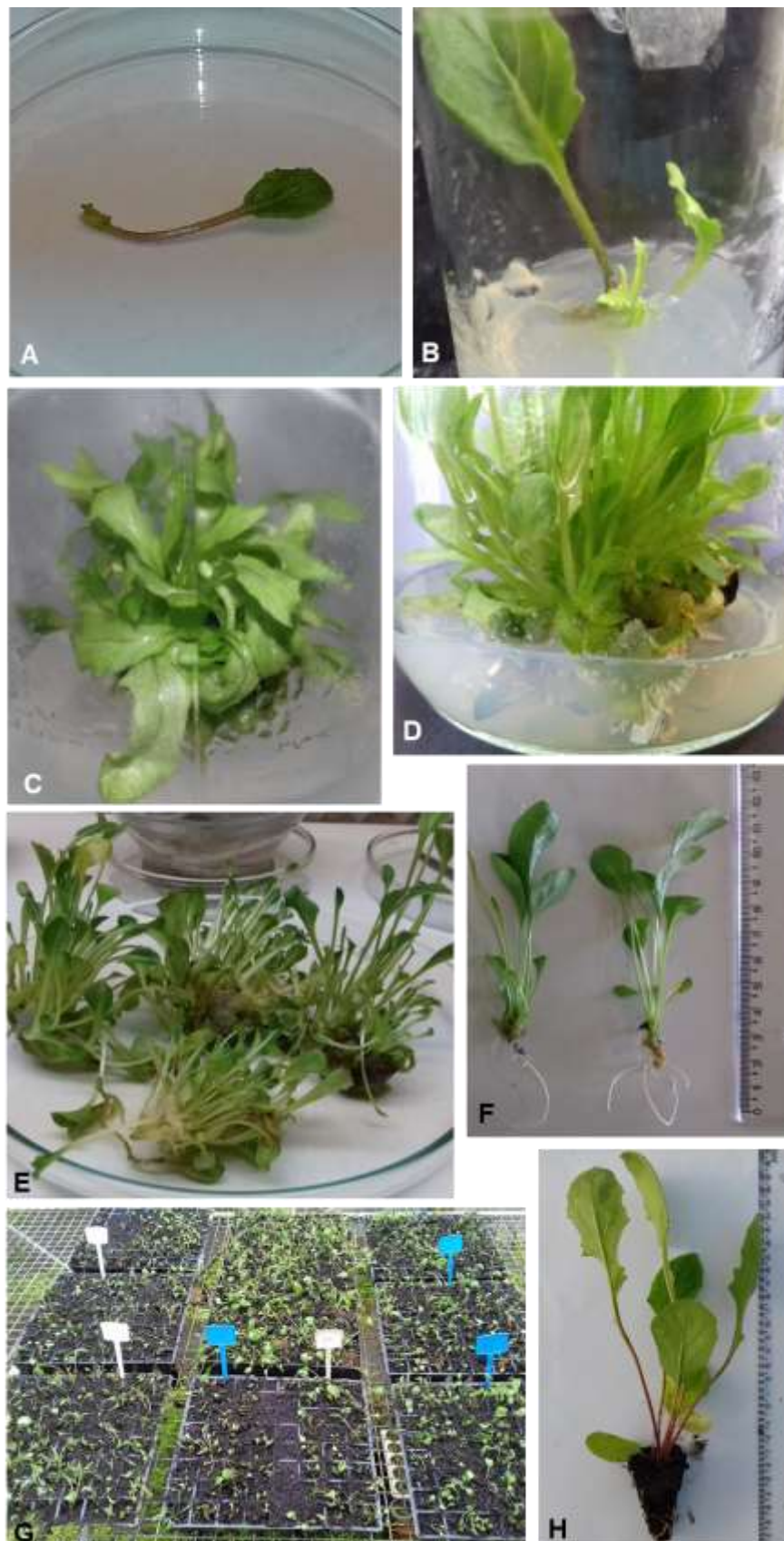


Figura 29. Fases da micropropagação de gébera. (A) Folha peciolada usada como explante; (B) Explante após 30 dias de estabelecimento *in vitro*; (C), (D) e (E) Brotações na fase de multiplicação *in vitro*; (F) Muda enraizada *in vitro*; (G) Mudanças em bandeja na aclimatização e (H) Muda aos 90 dias de aclimatização.

4.4 CONCLUSÕES

A pesquisa permitiu o estabelecimento de um protocolo de micropropagação inovador a partir de folha peciolada como explante.

O meio de cultura MS contendo $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + $5,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ ANA foi superior para regeneração de brotos dos genótipos de gérbera.

O meio de cultura B&G[®] Orquídeas apresentou-se como uma alternativa ao MS suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose, visando o enraizamento *in vitro* de genótipos de gérbera.

A aclimatização em casa de vegetação mostrou-se viável, proporcionando alta taxa de sobrevivência das mudas.

5 CAPÍTULO III

BALANÇO HORMONAL AUXINA/CITOCININA PARA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE GENÓTIPOS DE GÉRBERA

RESUMO

A gérbera é usada como flor de corte em muitos países e ganhou popularidade como flor ornamental e com grande demanda no mercado mundial de plantas ornamentais. Para comercializar *Gerbera jamesonii*, métodos de cultura de tecidos vegetais, como a micropropagação, é usado para atender a demanda pelo material de plantios comerciais. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações dos fitorreguladores BAP - 6-benzilaminopurina e ANA - ácido naftaleno acético na multiplicação *in vitro* de genótipos de gérbera, utilizando explantes obtidos a partir de brotações de mudas estabelecidas *in vitro*. Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS contendo diferentes concentrações de BAP (0,0; 2,22; 4,44; 8,88 e 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e ANA (0,0; 1,34; 2,68 e 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose e 7,5 g L^{-1} de ágar. Oito semanas após a implantação do experimento, avaliou-se o número de brotos formados em cada explante (NBE) e o comprimento médio dos brotos (CMB). Para se verificar a tendência de resposta de cada genótipo de gérbera aos níveis de BAP e ANA foi realizada análise de regressão. Houve diferença significativa para os genótipos e para as concentrações de BAP e ANA utilizadas. Para NBE, no genótipo 'Pacific' a melhor combinação foi quando utilizou-se a concentração de 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. Em 'Igloo' a concentração de 11,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. Em 'Igor' a concentração de 9,77 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e 2,68 mg L^{-1} ANA. Em 'Mephisto' a concentração de 10,65 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e ausência de ANA. Em GA a concentração de 10,21 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. Em GR a concentração de 11,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e ausência de ANA. Em GL a concentração de 11,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. Para CMB, em todos os genótipos observou-se que a ausência dos fitorreguladores promoveu os maiores valores dessa variável. Foi possível estabelecer e recomendar uma concentração ideal de BAP e ANA para cada genótipo de gérbera estudado.

Palavras-chave: *Gerbera jamesonii* Bolus Ex, benzilaminopurina, ácido naftaleno acético, brotação.

HORMONAL BALANCE AUXIN/CYTOCININ FOR GERBERA GENOTYPES *IN VITRO* MULTIPLICATION

ABSTRACT

Gerbera is used as a cut flower in many countries and has gained popularity as an ornamental flower and with great demand on the world market for ornamental plants. To commercialize *Gerbera jamesonii* plant tissue culture such as micropropagation is used to meet the demand for commercial planting material. The objective of this work was to evaluate the effect of different growth regulators BAP - 6-benzylaminopurine and ANA - naphthalene acetic acid concentrations on the *in vitro* gerbera genotypes multiplication using explants obtained from *in vitro* seedling sprouts. The explants were inoculated in MS culture medium containing different concentrations BAP (0,0; 2,22; 4,44; 8,88 and 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and ANA (0,0; 1,34; 2,68 and 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and supplemented with 30 g L^{-1} of sucrose and 7,5 g L^{-1} of agar. Eight weeks after the implantation of the experiment, the number of shoots formed in each explant (NBE) and the average length of shoots (CMB) were evaluated. To verify the response tendency of

each genotype to the levels BAP and ANA, regression analysis was performed. There was a significant difference for the genotypes and for the BAP and ANA concentrations used. For NBE, in the 'Pacific' genotype the best combination was when the concentration of 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA was used. In 'Igloo' the concentration 11,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. In 'Igor' the concentration 9,77 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and 2,68 mg L^{-1} ANA. In 'Mephisto' the concentration 10,65 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and absence ANA. In GA the concentration 10,21 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. In GR the concentration 11,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and absence ANA. In GL the concentration 11,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP and 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA. For CMB, in all genotypes it was observed that the absence phytohormones promoted the highest values of this variable. It was possible to establish and recommend an ideal BAP and ANA concentration for each gerbera genotypes studied.

Keywords: *Gerbera jamesonii* Bolus Ex, benzylaminopurine, naphthalene acetic acid, shoots.

5.1 INTRODUÇÃO

A técnica de micropropagação permite a clonagem de gérberras de alto valor e de difícil acesso, em um curto período de tempo e em larga escala. Porém, para o êxito desta técnica em gérberra existe a necessidade de protocolos estabelecidos para diferentes cultivares, pois cada cultivar pode responder de maneira diferente às concentrações dos fitorreguladores. Devido a este motivo, inúmeros estudos vêm sendo realizados para que se torne possível estabelecer os mesmos (KANWAR; KUMAR, 2008; CHUNG et al., 2016) e com isso garantir a expansão dos cultivos de gérberra no Brasil e no Estado do Rio de Janeiro.

A organogênese no processo de micropropagação é bastante complexa, pois envolve fatores internos e externos, os quais interagem com a fonte do explante e com o meio de cultura utilizado. Basicamente a organogênese acontece por intermédio da otimização entre a citocinina/auxina presente no meio de cultura, e pode responder de forma direta, quando a diferenciação ocorre diretamente do explante, ou indireta, quando a resposta se manifesta primeiramente em forma de calos (CARDOSO; SILVA, 2013).

O balanço de auxinas e citocininas favorável a auxina torna propício ao enraizamento e o balanço inverso promove a formação de parte aérea. Concentrações molares iguais promovem a produção de calos. As auxinas mais usadas são AIA (ácido indol-3-acético), AIB (ácido indol-3-butírico), ANA (ácido naftaleno acético), NOA (ácido β naphthoxy-acético) e 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético). As auxinas 2,4-D, ANA e AIB são sintéticas e têm efeitos semelhantes às auxinas de ocorrências naturais, sendo mais estáveis à degradação. Em cultura de tecidos, as auxinas têm sido utilizadas para divisão celular e diferenciação radicular (GEORGE et al., 2008).

As citocininas de ocorrência natural são encontradas como moléculas livres, não ligadas a nenhuma macromolécula. A síntese de citocinina ocorre em raízes, em embriões em desenvolvimento e em tecidos de galhas da coroa (JUNGHANS; SOUZA, 2013). Muitos compostos químicos com atividade de citocinina têm sido sintetizados e testados. A maioria dos compostos com atividade de citocinina possui uma substituição do N6 da aminopurina. As citocininas são derivadas da adenina (aminopurina) e têm um papel fundamental na diferenciação e regeneração de plantas na maioria das espécies. Induzem a divisão celular, proliferação e morfogênese da parte aérea. As citocininas mais usadas em cultura de tecidos são a cinetina (KIN), benzilaminopurina (BAP), zeatina (ZEA) e thidiazuron (TDZ) (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi comparar o efeito de diferentes combinações de citocinina (BAP) com auxina (ANA) no desenvolvimento *in vitro* de brotos de diferentes genótipos de gérberra.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais - LCTV - Departamento de Fitotecnia - DFITO - Instituto de Agronomia - IA - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ.

Utilizou-se brotações dos genótipos de gérbera já estabelecidos *in vitro* e enraizados, com cerca de 5,0 cm de altura, recultivados duas vezes, com intervalo de 30 dias cada. O meio de cultura foi composto pelos sais de MS e vitaminas de White (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Phytotechnology Laboratories[®]), contendo 30 g L⁻¹, pH ajustado para 5,8 e 7,5 g L⁻¹ de ágar, sem adição de fitorregulador, a fim de uniformizar as plantas e eliminar resíduos dos fitorreguladores utilizados nas fases anteriores.

O experimento foi implantado no delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema fatorial 7x5x4, sendo sete genótipos de gérbera ('Pacific', 'Igloo', 'Igor', 'Mephisto', GA, GR, GL), cinco concentrações de citocinina – BAP (0,0; 2,22; 4,44; 8,88 e 17,76 µmol L⁻¹) e quatro concentrações de auxina – ANA (0,0; 1,34; 2,68 e 5,36 µmol L⁻¹), com quatro repetições. A parcela foi representada por um frasco (120 x 68 mm) com 50 mL de meio de cultura e dois explantes.

O meio de cultura utilizado continham os sais do meio MS e vitaminas de White (Phytotechnology Laboratories[®]), com 30 g L⁻¹ de sacarose, pH ajustado a 5,8, suplementado com as diferentes combinações dos fitorreguladores propostos, na consistência sólida com 7,5 g L⁻¹ de ágar e autoclavagem por 15 minutos a 1,0 atm. e 121 °C.

Para obtenção dos explantes, as plantas tiveram todas as folhas e raízes retiradas com auxílio de bisturi, para estímulo das gemas axilares, e posteriormente, foram inoculados nos frascos, que foram vedados com filme de polietileno e, em seguida, transferidos à sala de crescimento com fotoperíodo de 16:8 (luz:escuro), irradiância em torno de 35 µmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas (OSRAM[®], luz do dia). A temperatura e umidade foram registrados diariamente com auxílio de um termodrôgrafo (Instrutherm[®]) (Figura 1). A temperatura média foi de 26,22 °C e a umidade relativa média foi 67,93%.

Após oito semanas de cultivo *in vitro* foram avaliados a taxa de sobrevivência, número de brotos formados por explante (NBE), comprimento médio dos brotos (CMB) e porcentagem de explantes enraizados. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, depois de averiguadas a normalidade e homogeneidade. Quando verificada a significância nas interações ou nos fatores, foi aplicado o teste de média de Tukey, adotando-se 1 e 5% de probabilidade. Para se investigar os níveis dos fitorreguladores dentro de cada genótipo, foi efetuada análise de variância da regressão, depois de processadas a normalidade e homogeneidade. Foram representados apenas com base na significância dos coeficientes de regressão e coeficiente de determinação (R²), adotando-se os níveis até 5% de probabilidade, utilizando-se o teste F. Todas as análises foram feitas pelo software Sisvar (FERREIRA, 2014). Os gráficos da regressão foram elaborados com o programa Excel 2013.

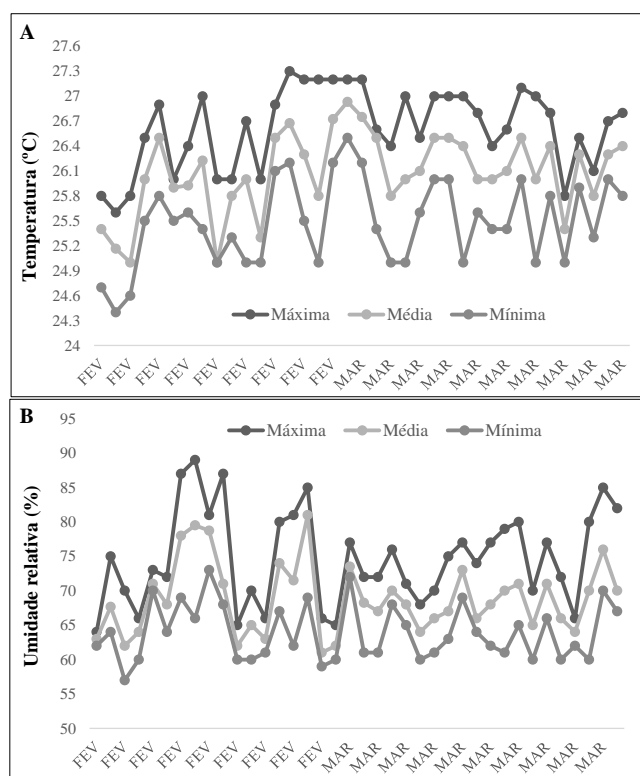


Figura 1. Temperatura (A) e umidade relativa (B) máxima, média e mínima da sala de crescimento durante oito semanas de cultivo *in vitro*. Os pontos das curvas representam a média diária ao longo do tempo.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sete genótipos de gérbera tiveram a sobrevivência maior que 90% em média geral nos tratamentos testados, não diferindo estatisticamente entre si.

A alta taxa de sobrevivência ocorreu devido aos explantes serem oriundos de plantas já estabelecidas *in vitro* (assépticas), e também pode ser devido ao uso do BAP, uma vez que a citocinina controla a expressão de genes envolvidos na senescência de tecidos e órgãos vegetais, inibindo-os ou retardando os efeitos fisiológicos degenerativos, o que implica no aumento da longevidade celular (KERBAUY, 2008).

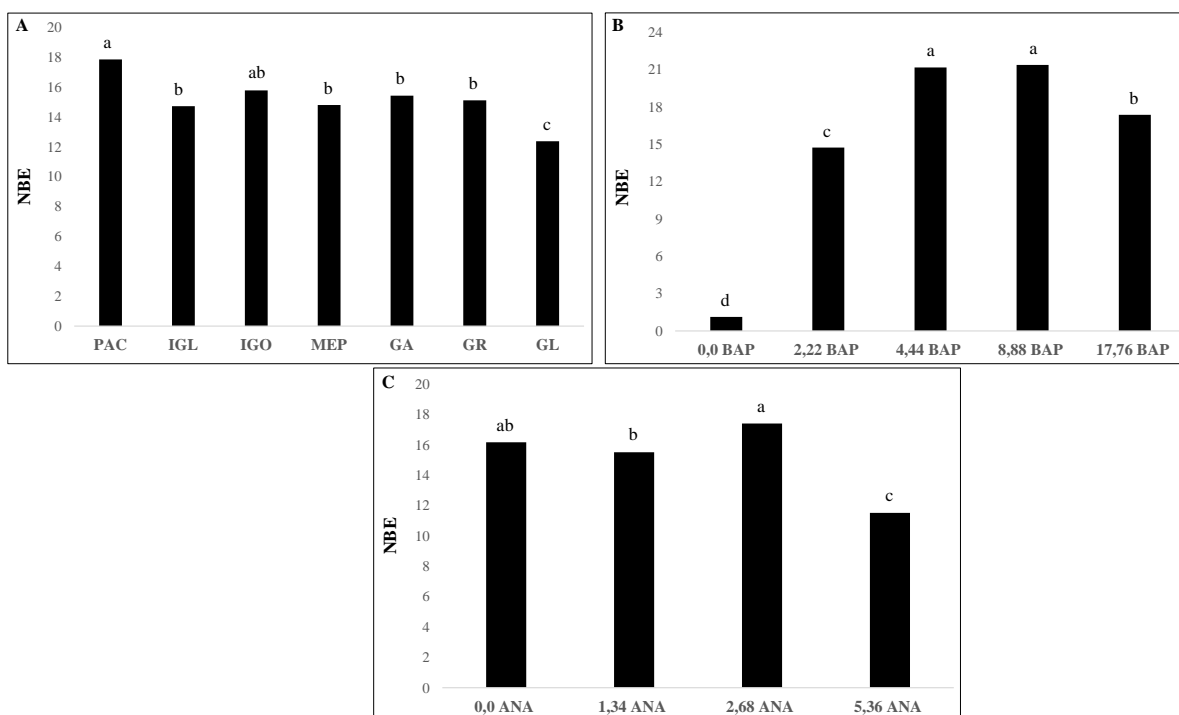
A análise de variância mostrou efeito significativo das diferentes combinações dos fitorreguladores BAP e ANA testados (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância para a número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio dos brotos (CMB) de sete genótipos de gérbera após oito semanas de cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de BAP e ANA, Seropédica/RJ, 2018.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio	
		NBE	CMB
Genótipo (GEN)	6	211,052976*	2,042768 ^{ns}
BAP	4	7752,440179*	324.256937*
ANA	3	909,492262*	15,231780*
GEN x BAP	24	166,001637*	5,153385*
GEN x ANA	18	171,633929*	3,542196*
BAP x ANA	12	302,969940*	14,613878*
GEN x BAP x ANA	72	105,446677*	2,611465*
Erro	420	23,961310	0,645042
Total	559		
CV (%)		32,28	16,20
Média Geral		15,16	4,95

*Significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$); ns – Não significativo pelo teste F ($P \leq 0,05$).

A variável NBE foi significativa para o fator genótipo, BAP, ANA (Figura 2) e todas as interações (Tabelas 2, 3 e 4).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 2. Média do número de brotos por explante (NBE) nos fatores genótipo (A), BAP, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B) e ANA, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C), obtidos após oito semanas de cultivo *in vitro*.

Observou-se na figura 2A que os genótipos demonstraram respostas diferentes para NBE nas combinações de BAP e ANA testadas, sendo que o genótipo ‘Pacific’ apresentou o mesmo número de brotos que ‘Igor’ e maior número de brotos que os demais genótipos.

Com relação ao fator BAP, a figura 2B mostra diferença entre as concentrações utilizadas para NBE, com destaque para 4,44 e 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP, que foram estatisticamente iguais e superiores as demais. A ausência de BAP foi a que produziu o menor NBE e as concentrações 2,22 e 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram estatisticamente iguais para NBE.

Para o fator ANA, a figura 2C mostra que os tratamentos com ausência de auxina e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram estatisticamente iguais para NBE e a concentração de 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA apresentou a menor produção de brotos.

BARBOSA et al. (1993) testaram o balanço auxina (AIB)/citocinina (BAP) para avaliar a taxa de multiplicação *in vitro* da gérbera ‘Appelbloesem’ e relataram maior NBE na concentração de 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. Os autores também não notaram produção de brotos sem adição da citocinina e relataram que a obtenção de altas taxas de brotações dependem da concentração da citocinina e da cultivar considerada.

A tabela 2 apresenta o resultado da interação genótipo x BAP para a variável NBE.

Tabela 2. Resumo da interação genótipo x BAP para número de brotos por explante obtido após oito semanas de cultivo *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	BAP ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				
	0,0	2,22	4,44	8,88	17,76
‘Pacific’	1,187 aD	15,562 abC	21,062 abcB	33,750 aA	17,812 abBC
‘Igloo’	1,187 aC	10,937 bB	19,562 bcA	22,187 bA	19,812 aA
‘Igor’	1,125 aC	19,812 aA	21,687 abcA	22,00 bA	14,312 bB
‘Mephisto’	1,187 aC	15,125 abB	22,625 abA	17,750 bcB	17,375 abB
GA	1,187 aC	14,625 bB	24,750 aA	20,812 bA	15,812 abB
GR	1,062 aC	14,250 bB	18,375 abcAB	21,875 bcA	20,062 aA
GL	1,000 aB	12,937 bA	16,750 cA	14,812 cA	16,437 abA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 2, no tratamento com ausência de BAP não houve diferença entre os genótipos. Na concentração de 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, o genótipo ‘Igor’ apresentou o maior NBE. Com 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, os genótipos ‘Pacific’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA e GR foram iguais estatisticamente para NBE. Com 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, ‘Pacific’ foi superior aos demais genótipos para NBE e na concentração 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Mephisto’, GA, GR e GL foram iguais para NBE.

Também pela tabela 2 e dentro de cada genótipo, em ‘Pacific’ a melhor concentração para NBE foi 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. Em ‘Igloo’ (4,44; 8,88 e 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP) foram iguais estatisticamente para NBE. Em ‘Igor’ (2,22; 4,44 e 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP) foram iguais estatisticamente para NBE. EM ‘Mephisto’ a melhor concentração para NBE foi com 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP. Para GA, 4,44 e 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP foram iguais para NBE. Em GR (4,44; 8,88 e 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$ BAP) foram iguais estatisticamente para NBE e em GL somente a ausência de BAP não se igualou às demais concentrações.

A tabela 3 apresenta o resultado da interação genótipo x ANA para a variável NBE.

Tabela 3. Resumo da interação genótipo x ANA para número de brotos por explante (NBE) obtido após oito semanas de cultivo *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
	0,0	1,34	2,68	5,36
‘Pacific’	16,05 abB	21,95 aA	21,25 aA	12,25 abB
‘Igloo’	15,90 abB	12,75 cdBC	21,05 aA	9,25 bC
‘Igor’	17,35 abA	16,65 bcA	19,70 abA	9,45 bB
‘Mephisto’	19,95 aA	13,75 cdB	11,75 dB	13,80 abB
GA	15,05 bA	18,50 abA	17,85 abcA	10,35 bB
GR	14,85 bA	14,15 bcdA	16,20 bcdA	15,30 aA
GL	14,15 bA	10,95 dA	14,15 cdA	10,30 bA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme a tabela 3, no tratamento com ausência de ANA os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’ e ‘Mephisto’ foram iguais e superiores para NBE. Na concentração de 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$, os genótipos ‘Pacific’ e GA foram superiores aos demais para NBE. Com 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’ e GA foram iguais e superiores para NBE e para concentração 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, ‘Pacific’, ‘Mephisto’, GR e GL foram iguais e superiores para NBE.

Dentro de cada genótipo, em ‘Pacific’ 1,34 e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram superiores para NBE. Em ‘Igloo’, a melhor concentração para NBE foi com 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Para ‘Igor’, a ausência de ANA, 1,34 e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram superiores para NBE. Em ‘Mephisto’ a ausência de ANA proporcionou o maior NBE. Em GA a ausência de ANA, 1,34 e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram superiores para NBE. E, em GR e GL não houve diferença significativa entre os tratamentos.

A tabela 4 apresenta o resultado da interação BAP x ANA para a variável NBE.

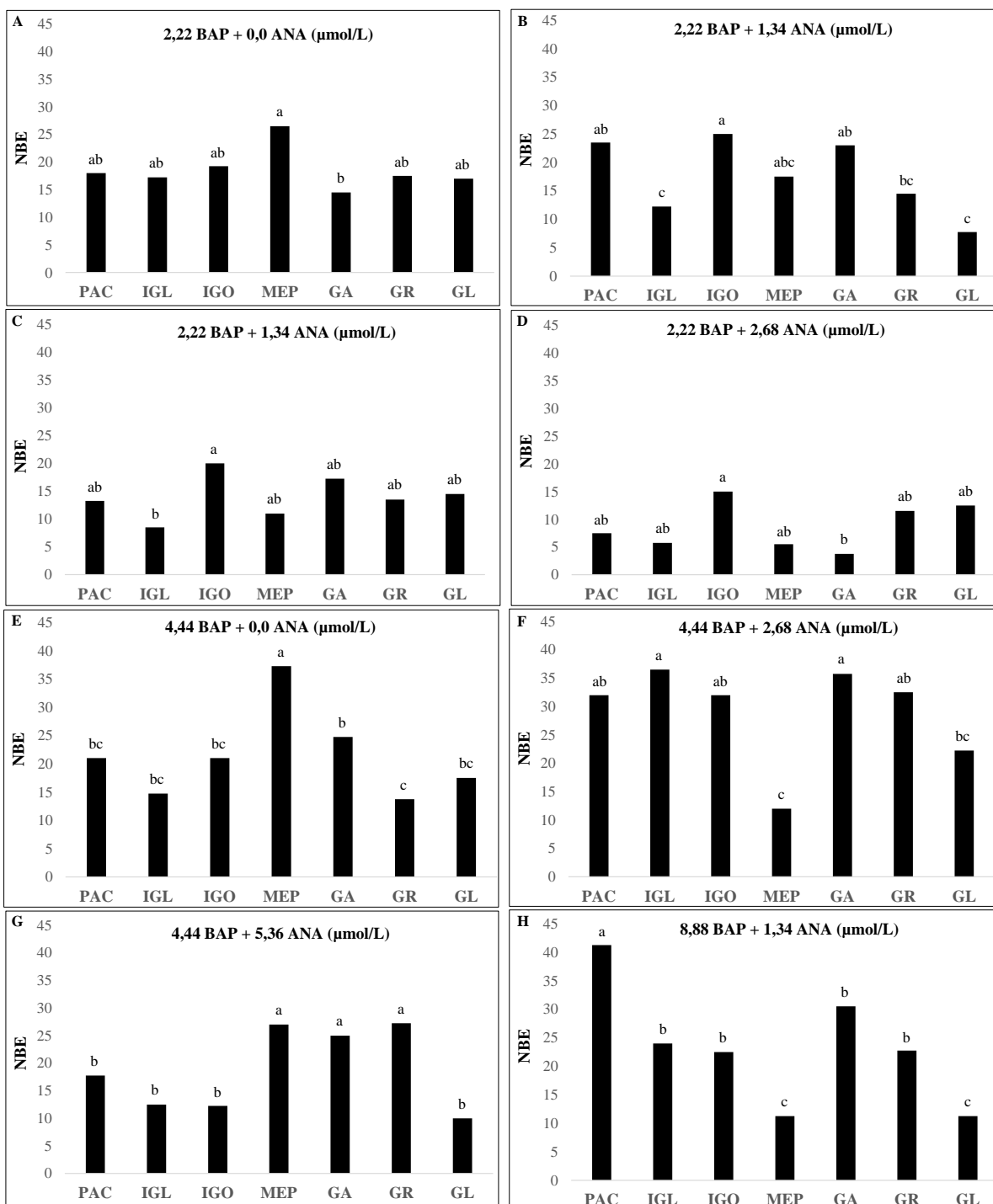
Tabela 4. Resumo da interação BAP x ANA para número de brotos por explante (NBE) obtido após oito semanas de cultivo *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos		BAP ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				
		0,0	2,22	4,44	8,88	17,76
ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,0	1,178 aD	18,571 aBC	21,428 bAB	22,321 aA	17,428 aC
	1,34	1,25 aD	17,642 aBC	15,50 cC	23,357 aA	19,893 aAB
	2,68	1,035 aD	14,00 bC	29,00 aA	23,035 aB	20,035 aB
	5,36	1,071 aC	8,788 cB	18,821 bcA	16,821 bA	12,149 bB

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

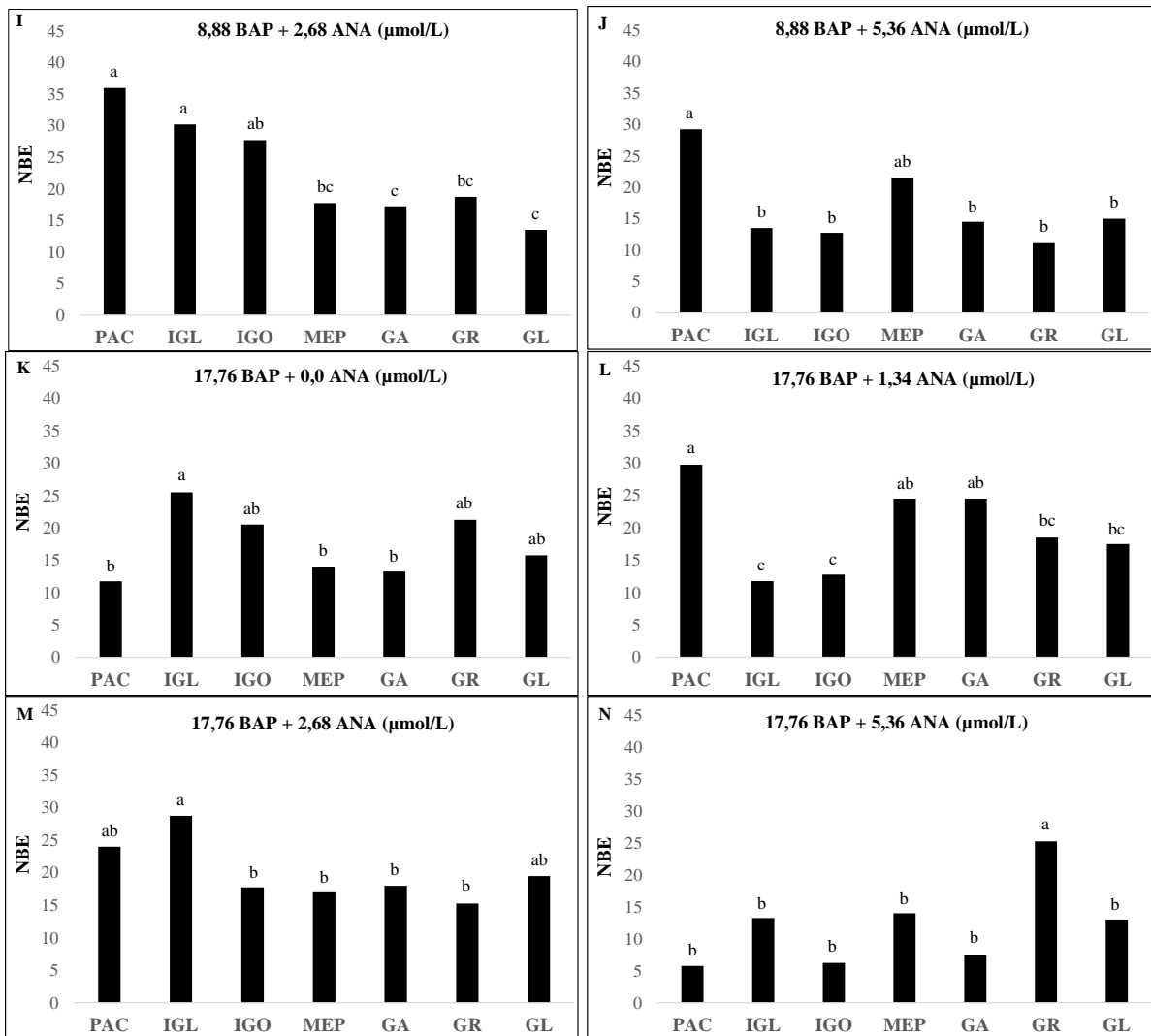
Segundo a tabela 4, nos tratamentos com ausência de BAP e independente da concentração de ANA, foram observados os menores valores de NBE. A combinação 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foi a que proporcionou a maior quantidade média de NBE nos genótipos estudados.

Com relação a interação Genótipo x BAP x ANA, a figura 3 apresenta as interações significativas para NBE de cada genótipo de acordo com a combinação dos fitorreguladores.



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 3. Número de brotos por explante (NBE) dos sete genótipos de gérbera nas diferentes combinações de BAP e ANA significativas, obtidos após oito semanas de cultivo *in vitro*. (Continua).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 3. Continuação.

Na figura 3 os tratamentos com ausência de BAP e ANA não estão presentes pois não apresentaram diferenças significativa entre os genótipos. Os tratamentos com as combinações $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + $1,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ ANA e $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + ausência de ANA também não apresentaram diferenças significativas entre os genótipos de gérbera e por isso não estão presentes.

De acordo com a figura 3A, apenas o genótipo GA diferiu dos demais e mostrou-se inferior para NBE. Na figura 3B, os genótipos ‘Pacific’, ‘Igor’, ‘Mephisto’ e GA foram superiores e iguais estatisticamente para NBE. Na figura 3C o genótipo ‘Igor’ foi superior apenas a ‘Igloo’ e estatisticamente igual aos demais para NBE. Na figura 3D o genótipo ‘Igor’ foi superior apenas a GA e estatisticamente igual aos demais para NBE. Na figura 3E o genótipo ‘Mephisto’ apresentou o maior valor de NBE. Na figura 3F os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, GA e GR foram iguais estatisticamente para NBE. Já na figura 3G, os genótipos ‘Mephisto’, GA e GR foram iguais e superiores aos demais para NBE. A figura 3H mostra que ‘Pacific’ foi superior para NBE. Na figura 3I os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’ e ‘Igor’ foram iguais estatisticamente e superiores para NBE. Na figura 3J os genótipos ‘Pacific’ e ‘Mephisto’ foram iguais e superiores para NBE. Já na figura 3K os genótipos ‘Igloo’, ‘Igor’, GR e GL apresentaram maior NBE e foram estatisticamente iguais. Na figura 3L os genótipos ‘Pacific’,

‘Mephisto’ e GA foram iguais e apresentaram maior NBE. Na figura 3M os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’ e GL foram superiores e iguais para NBE e na figura 3N o genótipo GR mostrou-se superior aos demais para NBE.

O crescimento e a morfogênese de plantas *in vitro* são regulados pela interação e pelo equilíbrio entre os fitorreguladores fornecidos no meio de cultura e o crescimento pelas substâncias produzidas endogenamente nas células das plantas cultivadas (GEORGE et al., 2008). A multiplicação *in vitro* em gérbera depende das combinações auxina/citocinina, de modo que o procedimento de regeneração em brotos deve ser otimizado para cada cultivar trabalhada (PAWŁOWSKA et al., 2018).

O aumento nas concentrações relativas de BAP produziu diferentes respostas para o percentual de explantes responsivos nos genótipos estudados. Assim, em alguns genótipos é possível que as concentrações mais elevadas de BAP tenham interagido com o nível endógeno de citocininas, e assim tenham causado efeito fitotóxico, inibindo a diferenciação celular (KERBAUY, 2008). Por outro lado, em outros genótipos, o suprimento exógeno mais elevado favoreceu à indução da organogênese. É possível que o nível endógeno de citocininas e, ou a quantidade de receptores hormonais sejam baixo, nestes genótipos, necessitando de maiores concentrações exógenas de BAP.

Com relação ao balanço hormonal, diversos trabalhos com diferentes combinações de citocininas e auxinas foram examinadas para obter indução de brotos e proliferação de vários tipos de genótipos de gérbera e corroboraram com os resultados desta pesquisa.

SATO et al. (2001) avaliaram a multiplicação *in vitro* da gérbera de vaso e relataram maior produção de brotos utilizando 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e ausência de auxina.

ARMAS et al. (2002) realizaram seus estudos de micropropagação com o genótipo ‘Paolo’ em um laboratório comercial (biofábrica) e recomendaram que a combinação 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 3,71 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA foi a que proporcionou a maior produção de brotos.

SOUSA e MIRANDA (2006) compararam o efeito de diferentes combinações de auxina (AIB, 0,0; 0,25 e 2,46 $\mu\text{mol L}^{-1}$) com duas fontes de citocinina (BAP e cinetina, 0,0; 2,22; 4,44; 8,88 e 17,76 $\mu\text{mol L}^{-1}$) na multiplicação *in vitro* do genótipo ‘Ornela’. Os autores verificaram que a combinação de 2,22 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP com qualquer concentração da auxina foi a mais eficiente na multiplicação e produção de brotos.

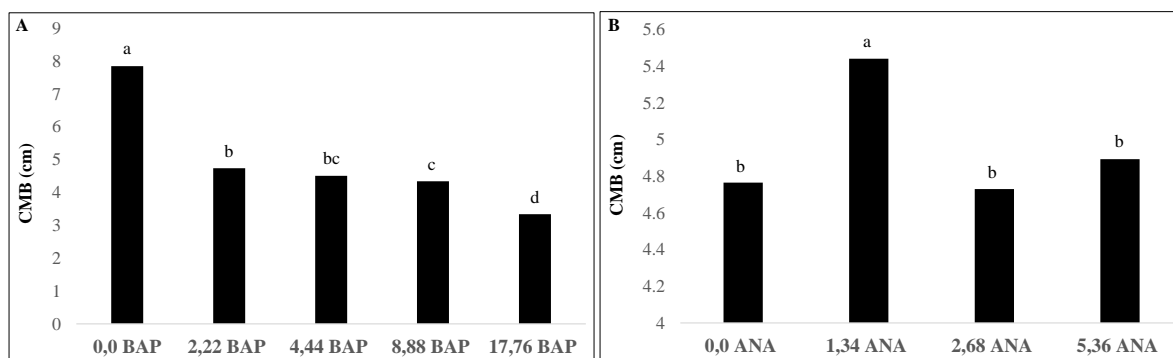
KUMAR e KANWAR (2007) estudaram o balanço hormonal auxina/citocinina na conversão de brotos a partir de calos da gérbera de vaso e obtiveram maior produção de brotos quando foi utilizado 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e ausência de auxina.

NAZARI et al. (2014) estudaram o efeito do balanço hormonal ANA/BAP na multiplicação *in vitro* do genótipo ‘Royal Soft Pink’ e perceberam que as combinações 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 1,07 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA proporcionou a maior proliferação dos brotos.

MOHAMED e ÖZZAMBAKB (2014) encontraram resultados diferentes desta pesquisa com relação ao aumento dos níveis de BAP. Nos genótipos testados neste experimento o aumento do nível diminuiu a produção de brotos, já os autores declararam que as gérberas ‘Ameretto’, ‘Red Bull’ e ‘Yanara’ produziram mais brotações na combinação de 22,20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Os autores também notaram repostas diferentes entre as gérberas de seus estudos, e entre as mesmas, ‘Red Bull’ foi a mais produtiva na combinação anteriormente citada.

MISHRA et al. (2014) avaliaram o balanço hormonal auxina/citocinina na multiplicação *in vitro* das gérberas ‘Tamara’ e ‘Panamá’. Em suas pesquisas, testaram diferentes combinações das citocininas (BAP, cinetina e TDZ) e das auxinas (ANA, AIB e AIA) e constataram a maior taxa de multiplicação *in vitro* com a combinação 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 5,71 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA.

A variável CMB foi significativa para o fator BAP, ANA (Figura 4) e todas as interações (Tabelas 5, 6 e 7).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 4. Comprimento Médio do Broto (CMB) nos fatores BAP, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (A) e ANA, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B), obtido após oito semanas de cultivo *in vitro*.

De acordo com a figura 4A, o maior CMB foi obtido no tratamento com ausência de BAP e a figura 4B mostra que o maior CMB foi obtido na concentração de $1,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA.

A tabela 5 apresenta o resultado da interação genótipo x BAP para a variável CMB.

Tabela 5. Resumo da interação genótipo x BAP para comprimento médio do broto (CMB) obtido após oito semanas de cultivo *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	BAP ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				
	0,0	2,22	4,44	8,88	17,76
‘Pacific’	8,306 abA	5,212 aB	4,85 abBC	4,087 aC	3,062 abD
‘Igloo’	8,931 aA	4,898 aB	3,787 bCD	4,35 aBC	3,548 abD
‘Igor’	8,056 bcA	4,60 abB	4,625 abcB	3,975 aB	2,80 bC
‘Mephisto’	7,087 dA	5,106 aB	4,668 abB	4,512 aB	3,431 abC
GA	6,518 dA	4,025 bC	5,0 aB	4,806 aB	3,75 aC
GR	7,231 cdA	4,45 abB	4,05 bcBC	4,687 aB	3,40 abC
GL	8,80 abA	4,906 aB	4,587 abcBC	3,998 aCD	3,412 abD

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a tabela 5, no tratamento com ausência de BAP os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’ e GL foram iguais e superiores para CMB. Na concentração de $2,22 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, apenas o genótipo GA apresentou CMB inferior aos demais. Com $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, os genótipos ‘Pacific’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA e GL foram iguais estatisticamente para CMB. Com $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP não houve diferença estatística entre os genótipos e na concentração $17,76 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP, o genótipo ‘Igor’ foi inferior ao genótipo GA e estatisticamente igual aos demais.

Também pela tabela 5, observou-se que para todos os genótipos o tratamento com ausência de BAP proporcionou o maior CMB.

A tabela 6 apresenta o resultado da interação genótipo x ANA para a variável CMB.

Tabela 6. Resumo da interação genótipo x ANA para comprimento médio do broto (CMB) obtido após oito semanas de cultivo *in vitro* dos sete genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos	ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
	0,0	1,34	2,68	5,36
‘Pacific’	5,36 aA	5,905 aA	4,685 aB	4,465 bB
‘Igloo’	4,90 abB	5,215 abAB	4,725 aB	5,565 aA
‘Igor’	4,835 abAB	5,225 abA	4,485 aB	4,70 bAB
‘Mephisto’	4,905 abAB	5,375 abA	4,54 aB	5,025 abAB
GA	4,325 bB	5,535 abA	5,10 aA	4,32 bB
GR	4,785 abA	4,875 bA	4,885 aA	4,51 bA
GL	4,245 bB	5,955 aA	4,69 aB	5,67 aA

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme a tabela 6, no tratamento com ausência de ANA os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’ e GR foram iguais e superiores para CMB. Na concentração de 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ os genótipos ‘Pacific’ e GL se destacaram e foram iguais estatisticamente a ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’ e GA para CMB. Com 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ os genótipos não diferiram estatisticamente para CMB e para concentração 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, os genótipos ‘Igloo’, ‘Mephisto’, e GL foram iguais e superiores para CMB.

Dentro de cada genótipo, em ‘Pacific’ os tratamentos com ausência de BAP e 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram superiores para CMB. Em ‘Igloo’, a melhor concentração para CMB foi com 1,34 e 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Para ‘Igor’, a ausência de ANA, 1,34 e 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram superiores para CMB. Em ‘Mephisto’ a ausência de ANA, 1,34 e 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA proporcionaram o maior CMB. Em GA, 1,34 e 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram superiores para CMB. Para GR não houve diferença significativa entre os tratamentos e em GL, 1,34 e 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram superiores para CMB.

A tabela 7 apresenta o resultado da interação BAP x ANA para a variável CMB.

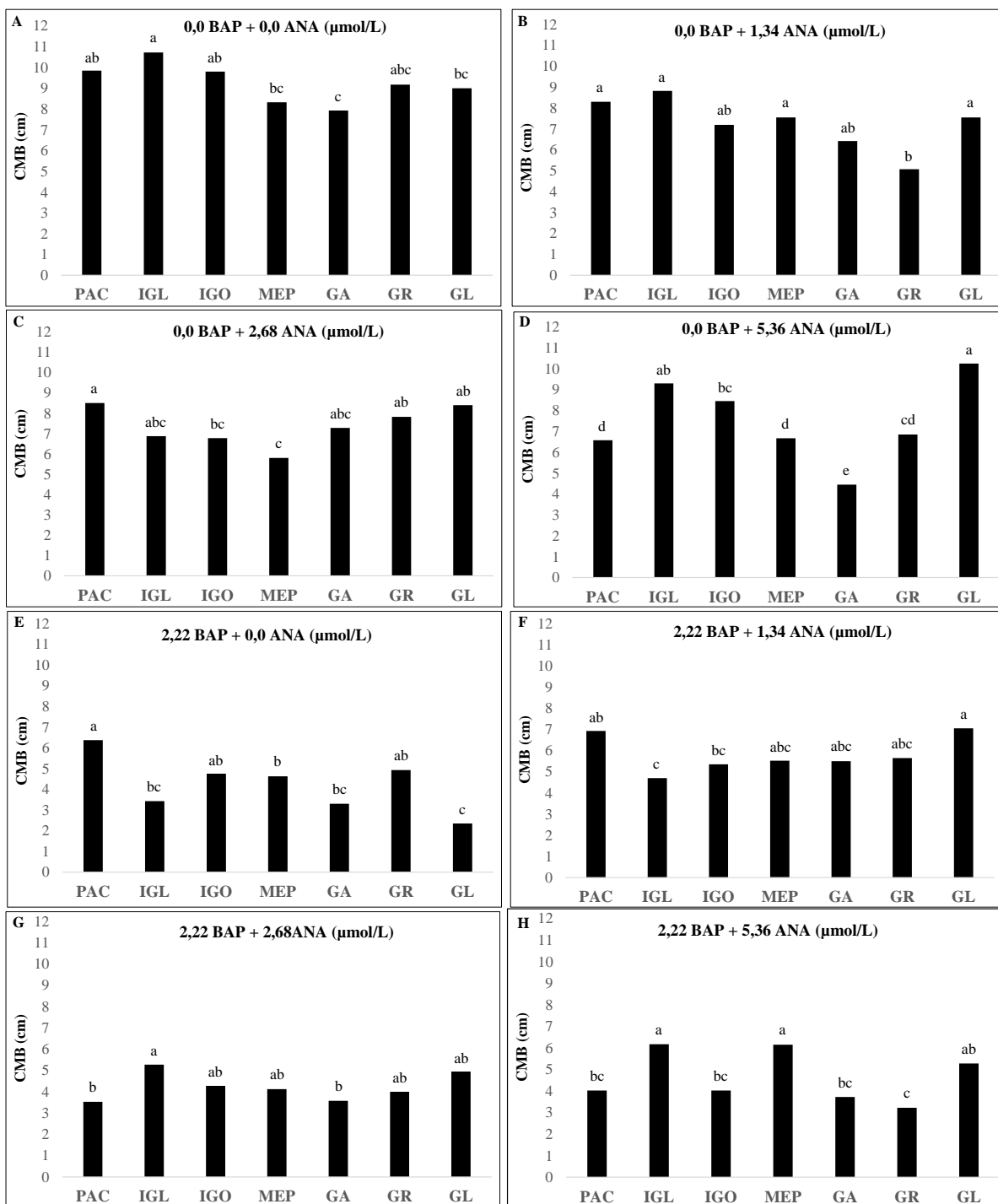
Tabela 7. Resumo da interação BAP x ANA para comprimento médio do broto (CMB) obtido após oito semanas de cultivo *in vitro* dos genótipos de gérbera, Seropédica/RJ, 2018.

Tratamentos		BAP ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				
		0,0	2,22	4,44	8,88	17,76
ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,0	9,257 aA	4,25 bB	3,746 cBC	3,511 cCD	3,061 aD
	1,34	7,275 bA	5,814 aB	5,775 aB	4,938 aC	3,403 aD
	2,68	7,35 bA	4,246 bB	4,118 bcB	4,575 abB	3,361 aD
	5,36	7,507 bA	4,657 bB	4,40 bB	4,357 bB	3,546 aC

Médias seguidas pelas letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

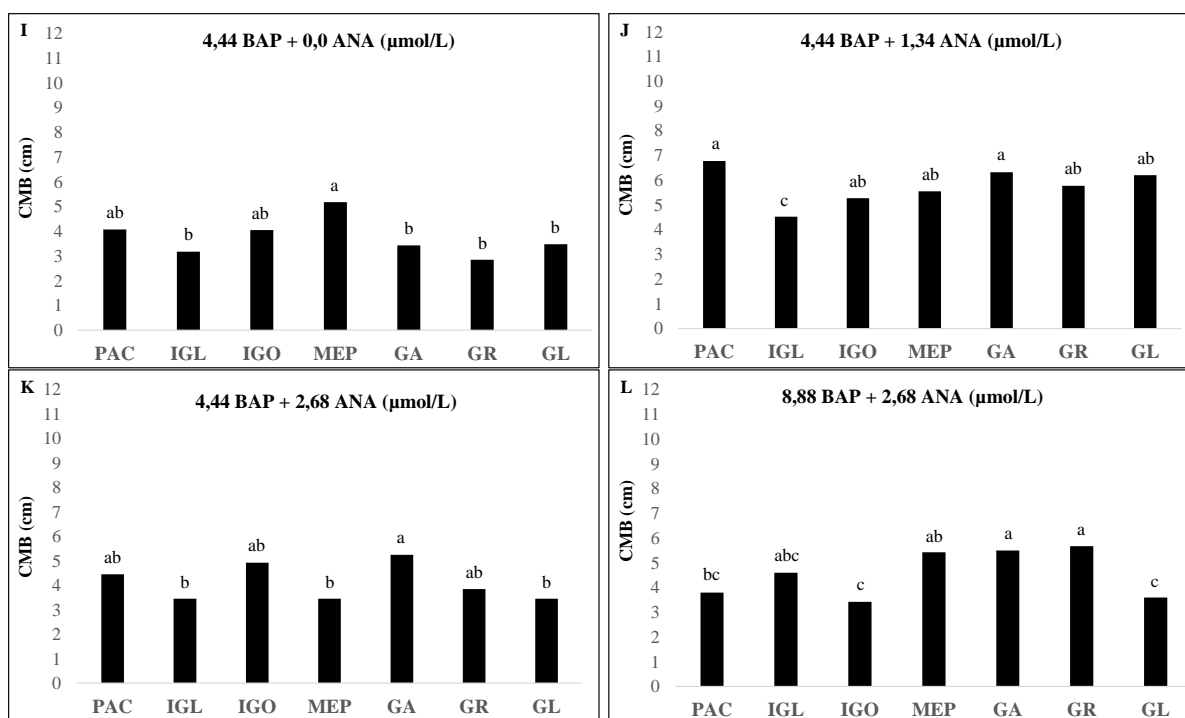
Segundo a tabela 7, nos tratamentos com ausência de BAP e independente da concentração de ANA, foram observados os maiores valores de CMB. A combinação de ausência de BAP + ausência de ANA foi a que proporcionou o maior CMB nos sete genótipos estudados.

Com relação a interação Genótipo x BAP x ANA, a figura 5 apresenta as interações significativas para CMB de cada genótipo de acordo com a combinação dos fitorreguladores.



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 5. Comprimento Médio do Broto (CMB) dos sete genótipos de gérbera nas diferentes combinações de BAP e ANA significativos, obtidos após oito semanas de cultivo *in vitro*. (Continua).



Legenda: PAC-‘Pacific’, IGL-‘Igloo’, IGO-‘Igor’, MEP-‘Mephisto’, GA-gérbera amarela, GR-gérbera rosa, GL-gérbera laranja. As letras diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 5. Continuação.

De acordo com a figura 5A, o tratamento com ausência de BAP e ANA foi o que apresentou o maior CMB em comparação aos demais. Nesta combinação, os genótipos ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, GR e GL foram iguais estatisticamente. Na Figura 5B o genótipo ‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Mephisto’ e GL foram superiores para CMB. A figura 5C mostrou que os genótipos ‘Igor’ e ‘Mephisto’ foram inferiores aos demais para CMB. Já no tratamento com a maior concentração de ANA e ausência de BAP (Figura 5D), os genótipos ‘Igloo’ e GL foram superiores para CMB. A figura 5E mostrou que ‘Pacific’, ‘Igor’ e GR foram iguais e estatisticamente superiores aos demais para CMB. Na figura 5F ‘Igloo’ e ‘Igor’ foram inferiores aos demais para CMB. Já a figura 5G apresenta que ‘Igloo’ foi superior aos demais para CMB. A figura 5H os genótipos ‘Igloo’, ‘Mephisto’ e GL mostraram-se superiores aos demais para CMB. Na figura 5I observou-se que ‘Pacific’, ‘Igor’ e ‘Mephisto’ apresentaram maior valor de CMB. O genótipo ‘Igloo’ foi inferior aos demais para CMB de acordo com o tratamento apresentado na figura 5J. A figura 5K apresenta que GA foi superior para CMB e a figura 5L apresenta que os genótipos GA e GR foram superiores aos demais para CMB. Conforme a figura 5, constatou-se que quanto maior a concentração de BAP, menor foi o valor de CMB encontrado.

Neste experimento o enraizamento foi alto em todos os tratamentos sem adição de BAP e em todas concentrações de ANA utilizadas, sem diferença significativa entre os sete genótipos de gérbera. Tal fato demonstra que a espécie estudada é de fácil enraizamento.

Verificou-se que a presença da auxina aumentou a incidência do número de raízes, bem como reduziu o tempo necessário para o seu início. Deve-se considerar também, que as plantas do tratamento controle (ausência de BAP e ANA) também tiveram raiz, mas em menor quantidade e tamanho, mas sem diferença significativa para os outros tratamentos, demonstrando que existiu um nível endógeno de auxina nas brotações e que estimulou o enraizamento. No presente estudo, a ocorrência de indução de raízes aumentou com a elevação das concentrações de auxina, mas começou a diminuir seguindo um nível ótimo.

Com respeito ao comprimento médio dos brotos, observou-se que nos tratamentos com ausência de BAP os brotos tiveram maior valor, quando comparados com os tratamentos que apresentaram BAP. Isso se deve ao efeito inibitório da citocinina no crescimento e desenvolvimento da brotação (quebra da dominância apical), induzindo maior número de brotos, mas com tamanho pequeno (GANTAIT; SINNI AH, 2014).

NAZARI et al. (2014) obtiveram maior CMB da gérbera ‘Royal Soft Pink’, quando foi utilizado 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA e sem adição de BAP. Os autores declararam que os aumentos dos níveis de ANA estimularam a formação de calos, fato também visto com genótipos desta pesquisa.

ROZALI et al. (2014) avaliando o balanço hormonal da planta ornamental *Calathea crotalifera*, relataram maior CMB quando foi utilizando 5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA e ausência de BAP.

Para se verificar a tendência de resposta das diferentes concentrações de BAP e ANA, foi realizado a análise de variância da regressão para cada genótipo de gérbera (dados não mostrados) e os significativos foram apresentados. Assim, foi possível identificar e recomendar a melhor concentração para a variáveis analisadas.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo ‘Pacific’ está apresentada na figura 6.

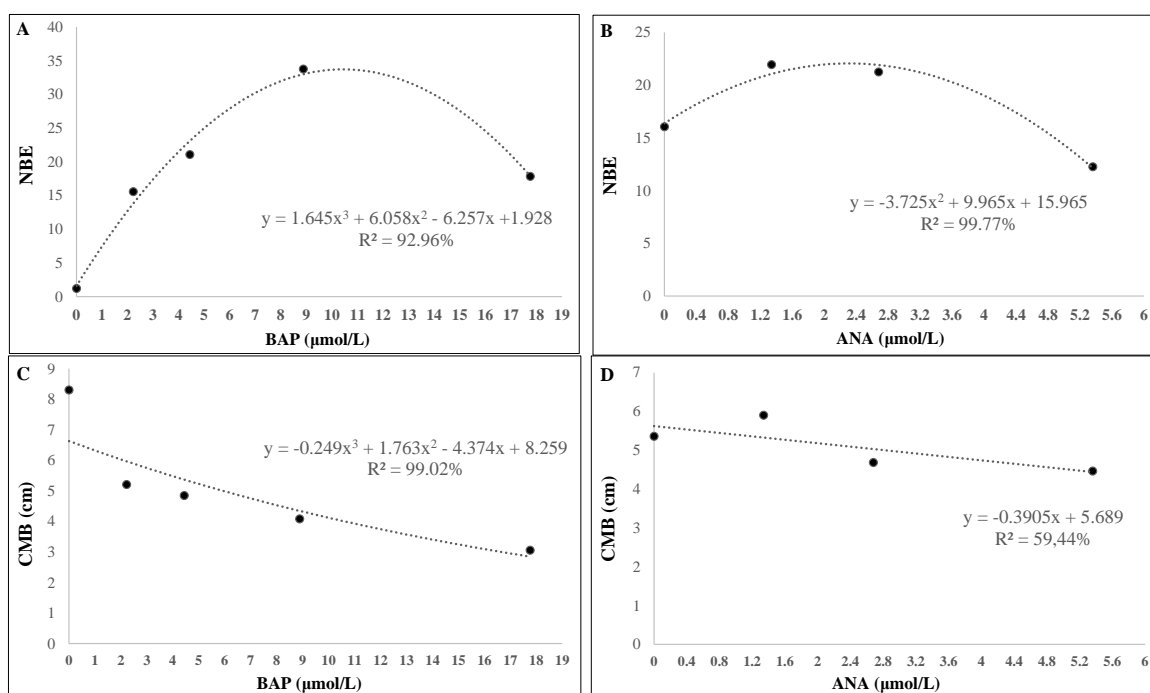


Figura 6. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio do broto (CMB) do genótipo ‘Pacific’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxinas (B e D) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

Para o genótipo ‘Pacific’, verificou-se que a resposta foi cúbica (Figura 6A) para os diferentes níveis de BAP na variável NBE, com a melhor concentração observada em 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$, que produziu em média 33,75 brotos após oito semanas de cultivo *in vitro*. Para ANA a resposta foi quadrática (Figura 6B), sendo que a concentração de 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ propiciou a maior quantidade média de brotos (21,95).

Para a variável CMB, a resposta foi cúbica (Figura 6C) para BAP, com o maior valor do tamanho do broto na ausência de BAP ao meio de cultura. E para ANA a resposta foi linear negativa, ou seja, o aumento dos níveis de ANA (Figura 6D) causou a diminuição do CMB, assim como verificado para BAP.

ISLAM et al. (2017) estudaram a multiplicação *in vitro* de diferentes genótipos de gérbera ('Spark', 'Melonepink', 'Alabanda', 'Aladin', 'Kristen', 'Wink', 'Pepe', 'Silvester', 'Sonata') em diferentes combinações de BAP e ANA. Os autores relataram diferentes respostas entre as gérberas, e que em cada genótipo o balanço auxina/citocinina foi diferente para NBE. Em geral, destacaram que a concentração de $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + $1,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foi a que proporcionou maior quantidade média de brotos nos genótipos. Enfatizaram ainda que os resultados obtidos nos estudos estão relacionados com as características fisiológicas e morfológicas das células vegetais e que, variam em função de fatores genéticos de cada indivíduo, fatores ligados aos caracteres originados durante a ontogênese e, por último, do estímulo do ambiente.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo 'Igloo' está apresentada na figura 7.

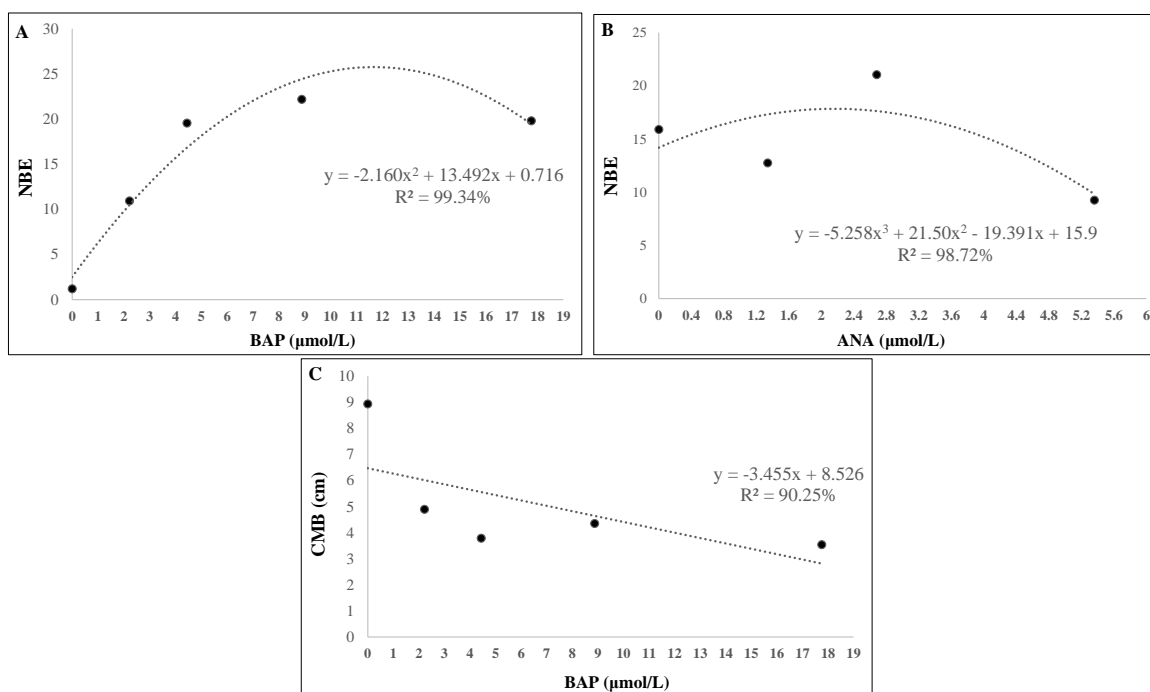


Figura 7. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo 'Igloo' submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxina (B) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

Em 'Igloo', observou-se que a resposta foi quadrática (Figura 7A) para a variável NBE nos diferentes níveis de BAP testados, com a maior produção média de brotos constatada na concentração de $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ (22,18). Entretanto, pela equação de regressão de BAP, com uma concentração de $11,54 \mu\text{mol L}^{-1}$, seria possível obter valor máximo de 28,84 brotos. Na figura 7B verificou-se uma resposta cúbica nos diferentes níveis de ANA para NBE, com a maior produção média de brotos obtidos na concentração de $2,68 \mu\text{mol L}^{-1}$ (21,05).

Para a variável CMB, foi obtida uma resposta linear negativa (Figura 7C) nos níveis de BAP, ou seja, o aumento dos níveis de BAP causou a redução do CMB. Essa mesma resposta também foi vista no genótipo 'Pacific'. Para os níveis de ANA dessa variável, a análise de variância da regressão não mostrou diferença significativa entre os níveis testados. Assim, as concentrações de auxina demonstraram a mesma resposta para este genótipo.

NAMH et al. (2010) estudaram o balanço hormonal para multiplicação *in vitro* de *Hypericum retusum* Aucher. Os autores confirmaram que a concentração de $2,22 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP foi mais eficiente para NBE e $2,22 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + $2,46 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB foi mais eficiente para CMB.

PARK et al. (2011) analisaram diferentes citocininas (BAP, cinetina, TDZ e zeatina) e auxinas (ANA, AIA e AIB) na multiplicação *in vitro* da planta ornamental *Liriope platyphylla*. Para NBE, a concentração de 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e 4,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de zeatina + 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA foram estatisticamente iguais e para CMB, observaram a melhor resposta com 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA e ausência de citocinina.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo ‘Igor’ está apresentada na figura 8.

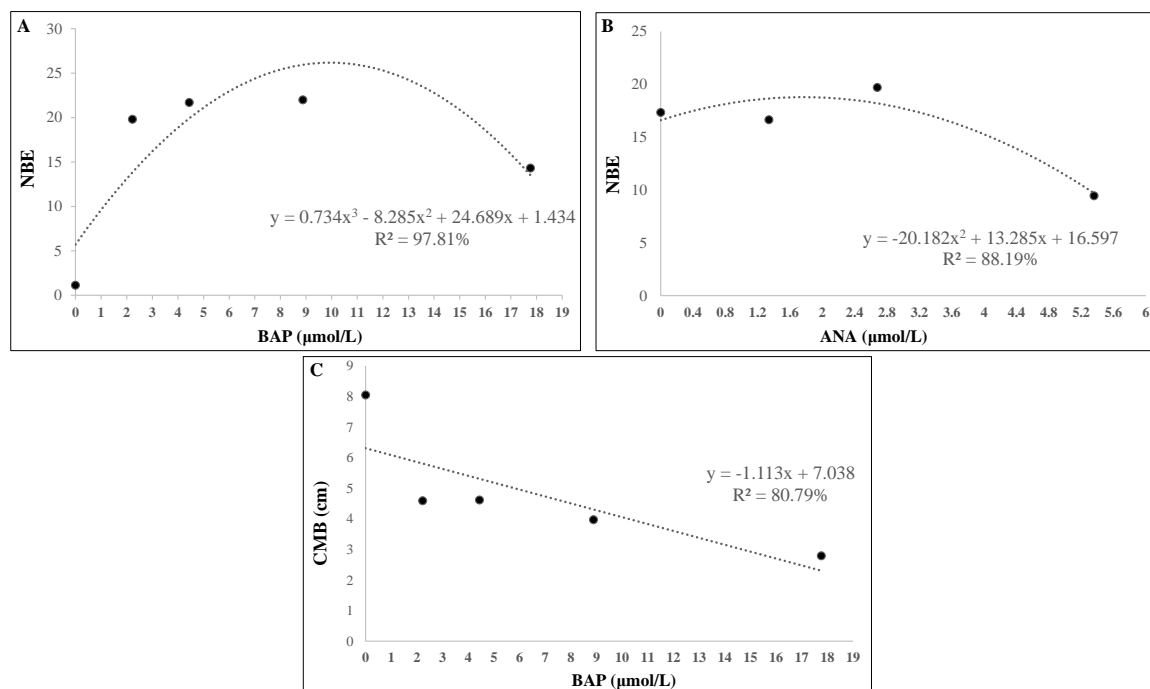


Figura 8. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo ‘Igor’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxina (B) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

Para ‘Igor’, na figura 8A, a resposta para os níveis de BAP foi cúbica, sendo encontrado o maior NBE (22 brotos) na concentração de 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Porém, pela equação de regressão de BAP, com uma concentração de 9,77 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seria possível obter valor máximo de 24,20 brotos. Nos níveis de ANA a resposta foi quadrática (Figura 8B), com a maior produção média de brotos (19,7) na concentração de 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Para variável CMB, a resposta nos diferentes níveis de BAP foi linear negativa (Figura 8C), sendo constatado a mesma resposta dos genótipos anteriores. Assim como foi verificado no genótipo ‘Igloo’, a análise de variância da regressão também não mostrou diferença significativa entre os níveis de ANA testados para a variável CMB.

YAACOB et al. (2012) estudaram o balanço hormonal na embriogênese somática da flor *Agapanthus praecox* ssp. *minimus* visando a conversão dos calos a brotos. Os autores observaram a melhor combinação na formação de brotações quando foi utilizado 8,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + 2,68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo ‘Mephisto’ está apresentada na figura 9.

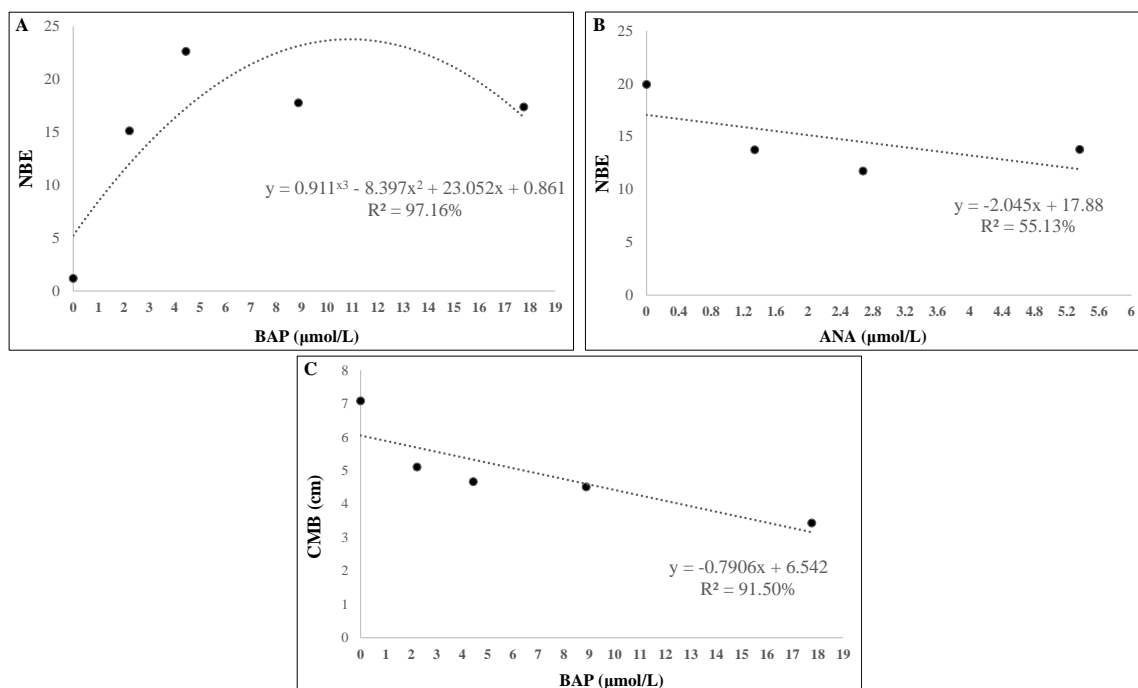


Figura 9. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo ‘Mephisto’ submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxina (B) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

Em ‘Mephisto’, verificou-se uma resposta cúbica para os níveis de BAP testados (Figura 9A). Para NBE a melhor concentração vista foi encontrada quando utilizou-se $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ (22,62 brotos). Todavia, pela equação de regressão de BAP, com uma concentração de $10,65 \mu\text{mol L}^{-1}$, seria possível obter valor máximo de 24,78 brotos. Os níveis de ANA exibiram resposta linear negativa (Figura 9B) com a melhor concentração encontrada para NBE na ausência da auxina (19,95).

Como verificado anteriormente nos genótipos, a variável CMB mostrou uma redução quando aumentou-se a concentração de BAP, apresentando uma resposta linear negativa (Figura 9C) e os níveis de ANA não diferiram estatisticamente entre si.

MORAIS et al. (2014) otimizaram um protocolo de micropropagação *Mentha x Piperita*. Para isso, os autores realizaram o balanço hormonal auxina/citocinina e relataram que a melhor combinação para NBE foi obtida com $17,76 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + $2,68 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA. Os autores constataram que a ausência de fitorreguladores foi necessário para obter maior CMB.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo GA está apresentada na figura 10.

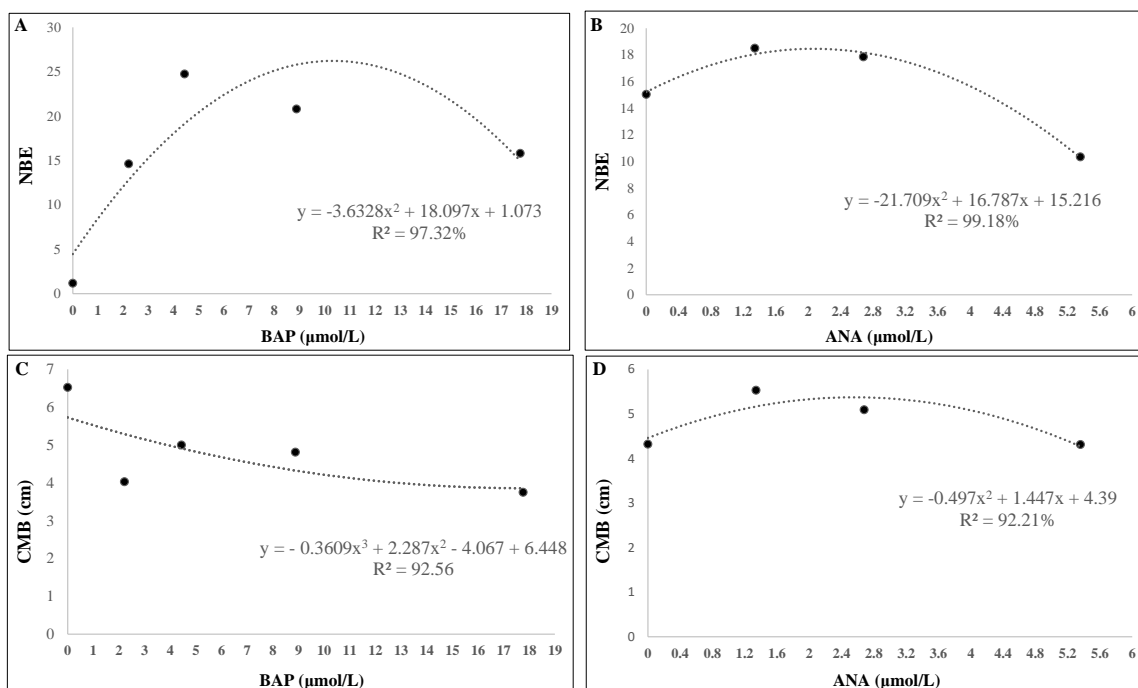


Figura 10. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo GA submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxinas (B e D) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

No genótipo GA a resposta para os níveis de BAP foi quadrática (Figura 10A), sendo observado o maior NBE (24,75) na concentração de 4,44 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. Contudo, pela equação de regressão de BAP, com uma concentração de 10,21 $\mu\text{mol L}^{-1}$, seria possível obter valor máximo de 25,85 brotos. Para ANA, verificou-se uma resposta quadrática (Figura 10B) com a redução de NBE quando houve aumento dos níveis de auxina. Neste caso, a concentração de 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi a que mais contribuiu para produção média de brotos (18,5).

Para variável CMB, observou-se uma resposta cúbica nos níveis de BAP (Figura 10C), com a redução do comprimento do broto à medida que aumentou-se a concentração de BAP. A resposta foi quadrática nos níveis de ANA (Figura 10D), com a melhor concentração para a variável CMB quando se utilizou 1,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

SIMÃO et al. (2016) avaliaram o efeito de diferentes fitorreguladores na indução de brotos de *Billbergia euphemiae* (Bromeliaceae) e perceberam respostas diferentes àquelas encontradas neste trabalho. Segundo os autores, na ausência de citocinina as melhores respostas para NBE e CMB foram obtidas na presença de 0,97 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA, após oito semanas de cultivo *in vitro*. Os autores também analisaram que, como o explante foi originado de folhas, provavelmente a concentração endógena de citocininas nesses explantes foi suficiente para promover um equilíbrio hormonal com a auxina presente no meio de cultura e estimulou o efeito notado nas respostas morfogênicas.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo GR está apresentada na figura 11.

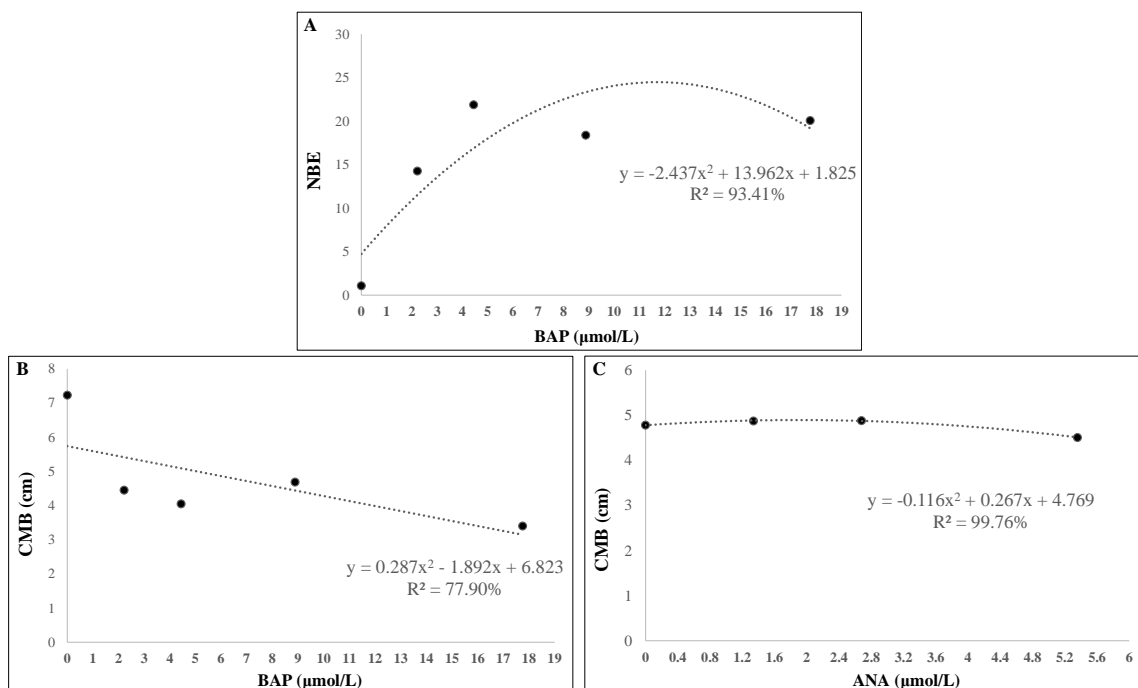


Figura 11. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo GR submetida a diferentes níveis de citocininas (A e B) e auxina (C) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

No genótipo GR, verificou-se uma resposta quadrática nos níveis de BAP (Figura 11A), com a melhor concentração observada para NBE quando utilizou-se $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ (21,875 brotos). Mas, pela equação de regressão de BAP, com uma concentração de $11,54 \mu\text{mol L}^{-1}$, constatou-se que seria possível obter valor máximo de 26,28 brotos. Para os níveis de ANA a análise de variância da regressão mostrou que os mesmos não foram significativos, ou seja, a adição ou não de auxina não tem influência sobre a produção de brotos.

Para a variável CMB, a resposta dos níveis de BAP foi quadrática (Figura 12B), com a redução do comprimento dos brotos à medida que aumentou-se a concentração de BAP. A resposta também foi quadrática para os níveis de ANA (Figura 12C), com a melhor concentração observada para a variável CMB (4,8 cm) quando foi utilizado $2,68 \mu\text{mol L}^{-1}$. Entretanto, pela equação de regressão de ANA, com uma concentração de $1,88 \mu\text{mol L}^{-1}$, seria possível obter brotos com 4,9 cm.

A análise de regressão dos níveis de citocinina e auxina testados para o genótipo GL está apresentada na figura 12.

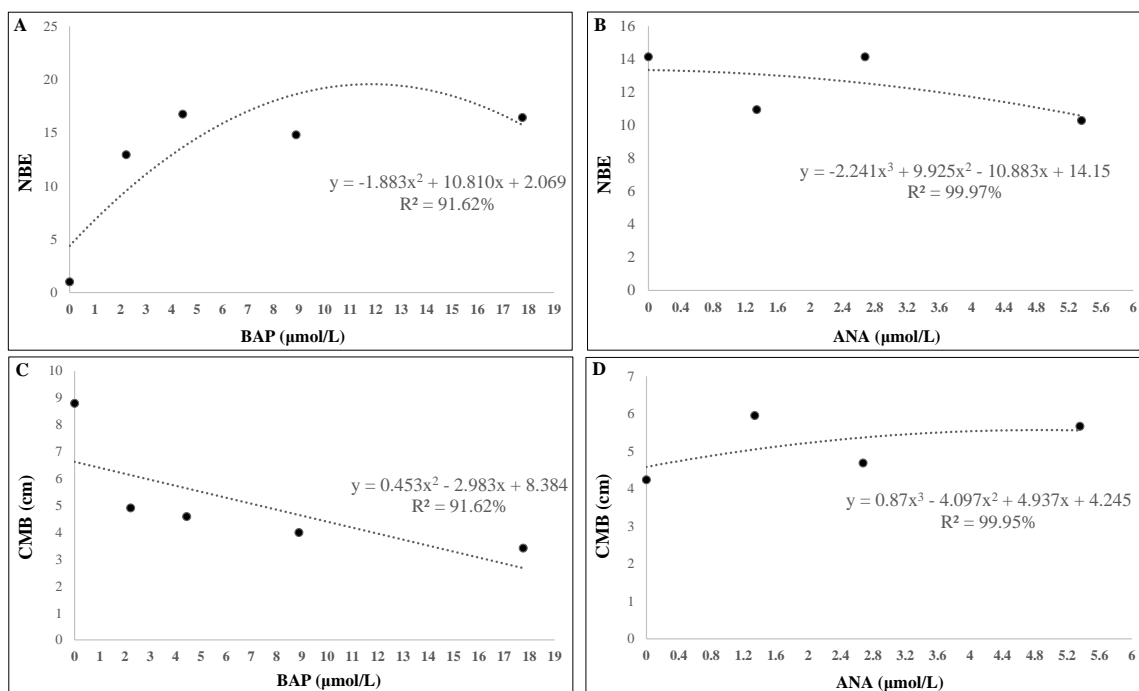


Figura 12. Regressão polinomial dos valores médios do número de brotos por explante (NBE) e comprimento médio de brotos (CMB) do genótipo GL submetido a diferentes níveis de citocininas (A e C) e auxinas (B e D) após oito semanas de cultivo *in vitro*.

Para a variável NBE, a resposta dos níveis de BAP foi quadrática (Figura 12A), com o maior valor notado (16,75) nessa variável quando foi utilizado $4,44 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. Porém, de acordo com a equação de regressão de BAP, a uma concentração de $11,54 \mu\text{mol L}^{-1}$, seria possível obter valor máximo de 19,26 brotos. Nos níveis de ANA a resposta foi cúbica (Figura 13B). Deve-se atentar que dois níveis tiveram médias de NBE iguais quando ausência de ANA (14,18 brotos) e a concentração $2,68 \text{ mg L}^{-1}$ (14,15). Neste caso, a ausência de auxina teria a mesma resposta se ela fosse adicionada ao meio de cultura.

O resultado para a variável CMB foi quadrático nos níveis de BAP (Figura 12C). Como foi observado em todos os genótipos anteriores, o aumento da concentração da citocinina testada provocou uma redução do tamanho dos brotos. Para os níveis de ANA a resposta foi cúbica (Figura 12D), sendo que a concentração de $1,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ exibiu maior CMB.

FREITAS et al. (2016) desenvolveram um protocolo de micropropagação de segmentos nodais de *Justicia pectoralis*. Os autores testaram diferentes combinações de meio de cultura (MS, WPM e B5), citocininas (BAP e cinetina) e auxinas (ANA e AIB) e relataram o maior NBE na concentração de $19,98 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e maior CMB sem adição de auxina em meio de cultura MS.

RODRIGUES et al. (2016) avaliaram a indução de brotações *in vitro* de *Heliconia latispatha* em função de diferentes concentrações de BAP e ANA e declararam maior NBE na presença de $11,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP + $5,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ANA.

Em todos os genótipos testados, verificou-se que a adição de BAP proporcionou a proliferação de brotos *in vitro* até certo ponto considerado ideal, e posteriormente a maior concentração provocou a redução da proliferação. Esses resultados são consistentes com a afirmação de RODRIGUES e KERBAUY (2009), que relataram que elevadas concentrações de citocininas podem reduzir a multiplicação e tamanho das brotações no cultivo *in vitro*.

É interessante notar que os maiores comprimentos de brotos, por sua vez, foram obtidos em meio de cultura sem suplementação com fitorreguladores. Possivelmente, a concentração endógena de fitohormônios dos genótipos estudados seja suficiente para estimular o crescimento dos brotos formados. Essa constatação ratifica a teoria de que a indução ou a

inibição dos processos morfogênicos *in vitro* dependem do balanço e da interação entre as substâncias de crescimento endógenas e exógenas (GRATTAPAGLIA; MACHADO). Assim, sugere-se que após a multiplicação, os brotos dos genótipos sejam transferidos para meio de cultura sem fitorreguladores, para promoção de seu crescimento.

SANTOS et al. (2016) avaliaram a taxa de multiplicação *in vitro* de bastão-do-imperador 'Porcelana', utilizando explantes obtidos a partir de brotações de mudas estabelecidas *in vitro*, obtidas no segundo recultivo. Os autores utilizaram diferentes combinações de fitorreguladores e verificaram maior NBE quando foi utilizado 11,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP. SANTOS et al. (2017) em outro trabalho com a mesma espécie e cultivar, testaram diferentes composições do meio MS e tipos de auxina (ANA, AIA e AIB) visando o alongamento e enraizamento dos brotos. Os autores perceberam maior CMB quando foi utilizado meio MS (60%) e a concentração de 0,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIA.

WERNER et al. (2017) estabeleceram um protocolo de micropropagação de *Crambe Abyssinica* a partir da combinação de diferentes citocininas (BAP, cinetina e TD) e auxinas (ANA e AIB). Os autores apuraram o maior NBE quando foi utilizado 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP e maior CMB sem adição de BAP e ANA.

De modo geral, diferenças no balanço hormonal auxina/citocinina nos genótipos de gérbera foi constatado. Nesse caso, vários fatores são considerados como responsáveis pelas diferentes respostas organogênicas verificadas nos distintos genótipos. Dentre estes, destaca-se que no processo de regeneração, explantes com intensidades variadas de determinação celular adquirem nova competência, por meio da ação de sinais químicos (balanço hormonal auxina/citocinina), que ativam seletivamente determinado grupo de genes (epigênese), ocorrendo diferentes respostas na formação de calos, gemas, brotos e, ou embriões (RODRIGUES; KERBAUY, 2009). Além disso, para GEORGE et al. (2008), houve a inibição do alongamento após a indução do BAP, pois a citocinina promove a cauligênese e inibe o alongamento.

NUNES et al. (2015) avaliaram a resposta dos fitorreguladores BAP e ANA em diversas concentrações nos explantes foliares da gérbera de vaso 'Cherry', para a obtenção de calos para posterior estudo de micropropagação. Assim, relataram que as melhores combinações dos fitorreguladores para obtenção de calos friáveis foram 4,44/5,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP/ANA e 4,44/10,74 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BAP/ANA. Os autores relataram ainda que a organogênese é controlada pela concentração e balanço auxina/citocinina existentes em meio de cultura sendo a citocinina ativa na indução e regeneração de parte aérea das plântulas e inibindo a formação de raízes. Por outro lado, estimula a formação de gemas axilares, o que leva a formação de calos comandada pela auxina.

Neste contexto, a figura 13 apresenta o exemplo do balanço hormonal auxina/citocinina obtido no genótipo 'Pacific' com as concentrações (BAP+ANA), representando assim, os demais genótipos estudados nesta pesquisa.

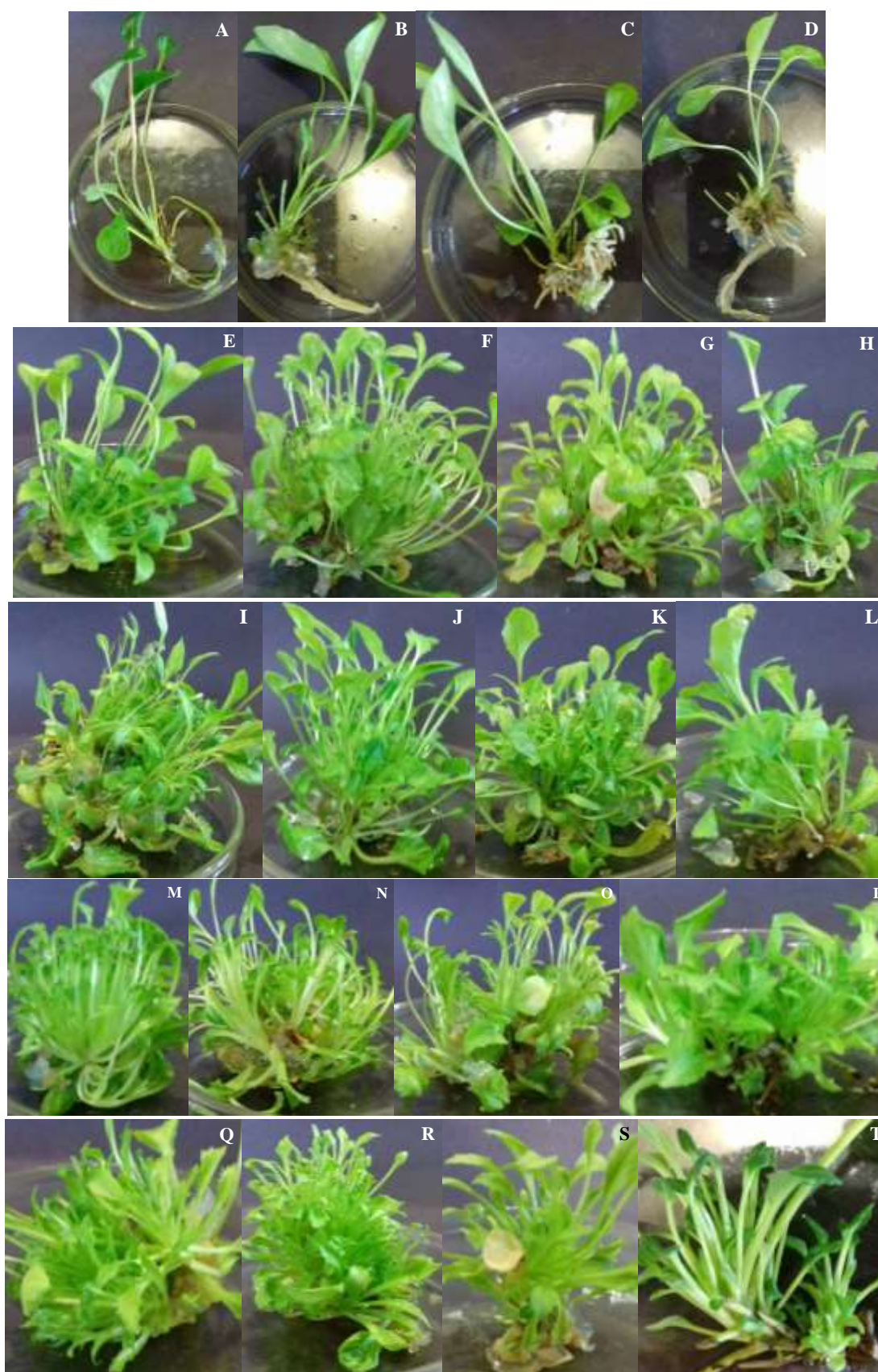


Figura 13. Concentração BAP+ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$) na micropropagação do genótipo 'Pacific' após oito semanas de cultivo *in vitro*. (A) 0,0+0,0; (B) 0,0+1,34; (C) 0,0+2,68; (D) 0,0+5,36; (E) 2,22+0,0; (F) 2,22+1,34; (G) 2,22+2,68; (H) 2,22+5,36; (I) 4,44+0,0; (J) 4,44+1,34; (K) 4,44+2,68; (L) 4,44+5,36; (M) 8,88+0,0; (N) 8,88+1,34; (O) 8,88+2,68; (P) 8,88+5,36; (Q) 17,76+0,0; (R) 17,76+1,34; (S) 17,76+2,68; (T) 17,76+5,36.

5.4 CONCLUSÕES

Os balanços de BAP e ANA ideais para cada genótipo de gébera são variáveis, portanto, não deve ser recomendado de forma genérica. Para os genótipos estudados as recomendações são:

Genótipo	BAP ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		ANA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	
	Multiplicação	Enraizamento	Multiplicação	Enraizamento
'Pacific'	8,88	0,0	1,34	0,0
'Igloo'	11,54	0,0	2,68	0,0
'Igor'	9,77	0,0	2,68	0,0
'Mephisto'	10,65	0,0	0,0	0,0
GA	10,21	0,0	1,34	1,34
GR	11,54	0,0	0,0	1,88
GL	11,54	0,0	0,0	1,34

6 CONCLUSÕES GERAIS

Foi possível estimar a diversidade morfológica dos genótipos de gérbera da coleção da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ (‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, ‘Lionela’, ‘Orca’, ‘Kozak’, ‘Orange Dino’, “GA1”, “GR1”, “GL1”, “GA2”, “GR2” e “GL2”) por meio da distância Euclidiana e Mahalanobis, utilizando descritores quantitativos e por meio do algoritmo de Gower utilizando descritores quantitativos e qualitativos.

Os componentes principais permitiram a identificação e o descarte do descritor quantitativo redundante: largura da flor ligulada do raio externo.

Estabeleceu-se a micropropagação de sete genótipos de gérbera (‘Pacific’, ‘Igloo’, ‘Igor’, ‘Mephisto’, GA, GR e GL) a partir do explante folha peciolada.

A combinação $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ BAP + $5,36 \mu\text{mol L}^{-1}$ ANA mostrou-se eficiente para produção de brotos em todos os sete genótipos de gérbera estudados.

Foi possível promover o enraizamento e crescimento *in vitro* dos sete genótipos de gérbera a partir do meio de cultura B&G® Orquídeas suprimento.

A aclimatização em casa de vegetação mostrou-se viável nos períodos avaliados, proporcionando alta taxa de sobrevivência das mudas dos sete genótipos de gérbera.

Estabeleceu-se a concentração ideal de BAP e ANA visando a micropropagação dos sete genótipos de gérbera estudados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, F.B.; LEAL, N.R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SILVA, D.J.H. Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem de crescimento indeterminado. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.3, p.547-552, 2004.

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 & Biotechnology**, Bangladesh, v. 22, n. 2, p. 143-152, 2012.

ALTAF, N.; KHAN, A.R.; ALI, L.; BHATTI, I.A. Tissue culture of gerbera. **Pakistan Journal of Botany**, v.41, n.1, p.7-10, 2009.

ALVES, R.M.; GARCIA, A.A.F.; CRUZ, E.D.; FIGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.807-818, 2003.

AMARAL JÚNIOR, A.T.; VIANA, A.P.; GONÇALVES, L.S.A.; BARBOSA, C.D. Procedimentos multivariados em recursos genéticos vegetais. In: PEREIRA, T.N.S. (ed) **Germoplasma: conservação, manejo e uso no melhoramento de plantas**. 1ª Edição. Viçosa, MG: Arka, 2010, 254p.

AMORIM, E.P.; RAMOS, N.P.; UNGARO, M.R.G.; KIIHL, T.A.M. Genetic divergence in sunflower genotypes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, p.1637-1644, 2007.

AMORIM, E.P.; RAMOS, N.P.; UNGARO, M.R.G.; KIIHL, T.A.M. Correlações e análise de trilha em girassol. **Bragantia**, p.307-316, 2008.

ARAGÓN, C.E.; ESCALONA, M.; RODRIGUEZ, R.; CAÑAL, M.J.; CAPOTE, I.; PINA, D.; GONZÁLEZ-OLMEDO, J. Effect of sucrose, light, and carbon dioxide on plantain micropropagation in temporary immersion bioreactors. **In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Washington, v. 46, p. 89-94, 2010.

ARAÚJO, F.P.; SILVA, N.; QUEIROZ, M.A. Genetic divergence among *Passiflora cincinnata* Mast accessions based on morphoagronomic descriptors. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.723-730, 2008.

ARELLO, E.F.; PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P.; BARBOSA, M.H.P. Estabelecimento *in vitro* de explantes e regeneração de plântulas de *Gerbera jamesonii* Bolus Ex Hook em cultura de tecidos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.2, p. 269-273, 1991.

ARMAS, P.M.; PEÑALVER, D.A.; SÁNCHEZ, N.A.; SÁNCHEZ, D.D.; FLEITES, L.G. Micropropagación de *Gerbera jamesonii* H. Bolus. **Biotecnología vegetal**, v.2, n.3, p.169-178, 2002.

ASWATH, C.; CHOUDHARY, M.L. Mass propagation of gerbera (*Gerbera jamesonii*) through shoot culture. **Indian Journal of Horticulture**, New Delhi, v. 59, p. 95-99, 2002.

ASWATH, C.; WAZNEEN, S. An improved method for *in vitro* propagation of gerbera. **Journal of Ornamental Horticulture**, New Delhi, v. 7, p. 141-146, 2004.

AZEVÊDO, J.A.G.; PEREIRA, J.C.; CARNEIRO, P.C.S.; QUEIROZ, A.C.; BARBOSA, M.H.P.; FERNANDES, A.M.; RENNÓ, F.P. Avaliação da divergência nutricional de variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1431-1442, 2003.

BARBOSA, M.H.P.; PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P.; ARELLO, E.F.; BARROS, I. Efeitos da benzilaminopurina e ácido índole-3-acético sobre a propagação *in vitro* de *Gerbera jamesonii* Bolus Ex. Hook cv. Appelbloesem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 15-19, 1993.

BARBOSA, M.H.P.; PINTO, J.E.B.P.; PINTO, C.A.B.P.; INNECCO, R. *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook cv. 'Appelbloesem' using young capitulum. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 41, p. 386-395, 1994.

BARROSO, L.P.; ARTES, R. **Análise multivariada**. Lavras: UFLA, 2003. 151p.

BENEMANN, D.P.; ARGE, L.W.P.; BARROS, W.S.; SEGEREN, M.I; BIANCHI, V.J.; PETERS, J.A. Estimation of genetic variability of a *Gerbera* Brazilian collection based on morphological traits and EST-SSR markers. **Australian Journal of Crop Science**, Inala, v. 8, n. 5, p. 722-729, 2014.

BERTINI, C.H.C.M.; ALMEIDA, W.S.; SILVA, A.P.M.; SILVA, J.W.L.; TEÓFILO, E.M. Análise multivariada e índice de seleção na identificação de genótipos superiores de feijão-caupi. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.4, p.613-619, 2010.

BHARGAVA, B.; DILTA, B.S.; GUPTA, Y.C.; DHIMAN, S.R.; MODGIL, M. Studies on micropropagation of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). **Indian Journal of Applied Research**, v.3, n.11, p.8-11, 2013.

BONETT, L.P.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SCHUELTER, A.R.; FILHO, P.S.V.; GONELA, A.; LACANALLO, G.F. Genetic divergence in germplasm of common bean in Paraná State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n.4, p.547-560, 2006.

BOSA, N.; CALVETE, E.O.; KLEIN, V.A.; MARILEI SUZIN. Crescimento de mudas de gipsofila em diferentes substratos. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.3, p.514-519, 2003.

CALVETE, E.O.; KÄMPF, A.N.; BERGAMASCHI, H.; DAUDT, R.H.S. Avaliação do crescimento de plantas de morangueiro durante a aclimatização *ex vitro*. **Horticultura Brasileira**, v.18, n.3, p.188-192, 2000.

CARDOSO, J.C.; ROSSI, M.L.; ROSALEMC, I.B.; SILVA, J.A.T. Pre-acclimatization in the greenhouse: An alternative to optimizing the micropropagation of gerbera. **Scientia Horticulturae**, v.164, p.616-624, 2013.

CARDOSO, J.C.; SILVA, J.A.T. Gerbera micropropagation. **Biotechnology Advances**, v.1, n.1, p.1-14, 2013.

CARDOSO, R.D.L.; GRANDO, M.F.; BASSO, S.M.S.; SEGEREN, M.I.; AUGUSTIN, L., SUZIN, M. Chromosome number, pollen viability and gerbera hybridization. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 40-44, 2009.

CARDOSO, R.D.L.; SCHEFFER-BASSO, S.M.; GRANDO, M.F. Divergência genética em gérbera com base em marcadores morfológicos. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl. 1, p.462-464, 2007.

CASTRO, A.F.N.M.; CASTRO, R.V.O.; CARNEIRO, A.C.O.; LIMA, J.E.; SANTOS, R.C.; PEREIRA, B.L.C.; ALVES, I.C.N. Análise multivariada para seleção de clones de eucalipto destinados à produção de carvão vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.6, p.627-635, 2013.

CASTRO, A.P.G.; FALEIRO, F.G.; CARVALHO, D.D.C.; FONSECA, K.G.; VILELA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V.; CARES, J.E. Genetic variability of *Passiflora* spp. from commercial fields in the Federal District, Brazil. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.996-1002, 2011.

CHAKRABARTY, D.; DATTA, S.K. Micropropagation of gerbera: lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities during acclimatization process. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, p. 325-331, 2008.

CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 32, p. 1199-1205, 2010.

CHUNG, M.; KIM, M.B.; CHUNG, Y.M.; NOU, I.; KIM, C.K. In vitro shoot regeneration and genetic transformation of the gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) cultivar 'Gold Eye'. **Plant Biotechnology Journal**, v.43, p.255-260, 2016.

COIMBRA, R.R.; MIRANDA, G.V.; CRUZ, C.D.; MELO, A.V.; ECKERT, F.R. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.1, p.159-166, 2010.

COLOMBO, R.C.; FAVETTA, V.; CRUZ, M.A.; CARVALHO, D.U.; ROBERTO, S.R.; FARIA, R.T. Acclimatization and growth of ornamental pineapple seedlings under organic substrates. **Ornamental Horticulture**, v.23, n.3, p.257-262, 2017.

CONTERATO, I.F.; DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; MONTARDO, D.P.; PONTALTI, G.C.; ALMEIDA, D. Morphoagronomic variation in natural populations of *Trifolium riograndense* (Burkart). **Scientia Agricola**, v.67, n.6, p.675-684, 2010.

COSTA JUNIOR, D.S.; SOUZA, E.H.; COSTA, M.A.P.C.; PEREIRA, M.E.C.; SOUZA, F.V.D. Clonal evaluation of new ornamental pineapple hybrids to use as cut flowers. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.38, n.4, p.475-483, 2016.

COSTA, L.V.; BENTES, J.L.S.; LOPES, M.T.G.; ALVES, S.R.M.; VIANA JÚNIOR, J.M. Caracterização de acessos de pimentas do Amazonas. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.3, p.290-298, 2015.

COUTO, T.R.; SILVA, J.R.; MORAES, C.R.O.; RIBEIRO, M.S.; TORRES NETTO, A.; CARVALHO, V.S.; CAMPOSTRINI, E. Photosynthetic metabolism and growth of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) cultivated *ex vitro*. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**. v.28, p.1-7, 2016.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos ao melhoramento genético**. v.2. 3 ed. Viçosa: UFV, 2014, 668p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos ao melhoramento genético**. v.1. 4 ed. Viçosa: UFV, 2012, 514p.

DAHER, R.F., MORAES, C.F., CRUZ, C.D.; PEREIRA, A.V.; XAVIER, D.F. Seleção de caracteres morfológicos em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.2, p.247-259, 1997.

DAMASCENO, L.M.O.; ANDRADE JÚNIOR, A.S.; GHEYI, H.R.; RIBEIRO, V.Q.; DIAS, N.S. Cultivation of gerbera irrigated with treated domestic effluents. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, p. 582-588, 2010.

DENG, Z.; BHATTARAI, K. Gerbera. In: VAN HUYLENBROECK, J. **Ornamental Crops, Handbook of Plant Breeding**. 11. ed. Springer International Publishing, 2018. cap.17, p.417-438. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0_17>. Acesso em: 30 jul. 2018.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – EMATER/RJ. **Censo da floricultura no Estado do Rio de Janeiro**, 2004.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – EMATER/RJ. <http://www.emater.rj.gov.br>. Acesso em março de 2018.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

FREITAS, R.M.O.; NOGUEIRA, N.W.; PRAXEDES, S.C. *In vitro* propagation of *Justicia pectoralis*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.11, n.3, p.159-163, 2016.

FRÓMETA, O.M.; MORGADO, M.M.E.; SILVA, J.A.T.; MORGADO, D.T.P.; GRADAILLE, M.A.D. *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker f. in a temporary immersion bioreactor. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Springer, 2017.

GANTAIT, S.; MANDAL, N.; BHATTACHARYYA, S.; DAS, P.K. An elite protocol for accelerated quality-cloning in *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.46, p.537-548, 2010.

GANTAIT, S.; SINNIAH, U.R. *In vitro* direct rhizogenesis from *Gerbera jamesonii* Bolus leaf. **Acta Physiologiae Plantarum**, Springer, 2014.

GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; DE KLERK, G. (Org.). **Plant Propagation by Tissue Culture**. 3. ed. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2008. 504 p. v. Volume 1. The Background.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O.; FRAGA, H.P.F.; VIEIRA, L.N.; FRITSCHÉ, Y. **FIT5507 – BIOTECNOLOGIA I: APOSTILA.** Disponível em: <<http://lfdgv.paginas.ufsc.br/files/2014/08/Apostila-Biotec-2016.1-Final.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2017.

GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C.P. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, v.7, n.4, p.1289-1297, 2008.

GONG, L.; DENG, Z. EST-SSR markers for gerbera (*Gerbera hybrida*). **Molecular Breeding**, v.26, p.125-132, 2010.

GONG, L.; DENG, Z. Selection and application of SSR markers for variety discrimination, genetic similarity and relation analysis in gerbera (*Gerbera hybrida*). **Scientia Horticulturae**, v.138, p.120-127, 2012.

GONZÁLEZ-OLMEDO, J.L.; FUNDORA, Z.; MOLINA, L.A.; ABDULNOR, J.; DESJARDINS, Y.; ESCALONA, M. New contributions to propagation of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). **In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Washington, v. 47, p. 87-90, 2005.

GOWER, J.C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v.27, p.857-874, 1971.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, A. Micropropagação. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, Brasília, v. 1, 1998, p.183-260.

GUISELINI, C.; SENTELHAS, P.C.; PANDORFII, H.; HOLCMAN, E. Manejo da cobertura de ambientes protegidos: radiação solar e seus efeitos na produção da gébera. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, p. 645-652, 2010.

HASBULLAH, N.A.; SALEH, A.; TAHA, R.M. Establishment of somatic embryogenesis from *Gerbera jamesonii* Bolus EX. Hook F. through suspension culture. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 10, n. 63, p. 13762-13768, 2011.

HASBULLAH, N.A.; TAHA, R.M.; AWAL, A. Growth optimization and organogenesis of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook f. *in vitro*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Karachi, v. 11, n. 11, p. 1449-1454, 2008.

HASBULLAH, N.A.; TAHA, R.M.; AWAL, A. Identification of embryogenic callus and somatic embryo formation in *Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f. *in vitro*. **The International Journal of Environmental Science**, Heidelberg, v. 2, p. 113-117, 2007.

HITMI, A.; BARTHOMEUF, C.; SALLANON, H. Rapid mass propagation of *Chrysanthemum cinerariaefolium* by callus culture. **Plant and Cell Reports**, v.19, p.156-160, 1999.

HUSSEIN, G.M.; ISMAIL, I.A.; HASHEM, M.E.S.; MINIAWY, S.M.E.M.; ABDALLAH, N.A. *In vitro* regeneration of gerbera. **Agriculture and Forestry - Research**, v. 58, p. 97-102, 2008.

INFOAGRO. **El cultivo de la gerbera**. Disponível em: <http://www.infoagro.com/flores/flores/gerbera.htm>. Acesso em: março de 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Dados gerais do setor**. Disponível em: http://www.ibraflor.com/ns_mer_interno.php. Acesso em: março de 2018.

ISLAM, M.M.; MAMUN, A.A.; DASH, P.K.; KUNDU, R.R.; AKTER, J. A sustainable technique of rapid multiplication of gerbera (*Gerbera jamisonii*) using *in vitro* seed culture. **International Journal of Current Research**, v.9, n.8, p.55326-55329, 2017.

JAIN, Monica (Org.). **Plant Tissue Culture - Lab Practices Made Easy**. 1. ed. Palhar Nagar: ISCA, 2016. 75 p. v.1.

JUCÁ, M.P.; GAÍVA, H.N.; PEREIRA, W.E.; MILESKI, A. Comportamento vegetativo de seis cultivares de coqueiro-anão (*Cocos nucifera* L.), em Santo Antônio de Leverger – MT. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p.463-467, 2002

JUNGHANS, T.G.; SOUZA, A.S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. 2 ed. Brasília, DF : Embrapa, 2013, 407p.

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**, Campinas, v.20, n.2, p.115-120, 2014.

KADAM, D.D.; CHHATRE, A.A.; LAVALE, S.A.; SHINDE, N.A. Low-Cost Alternatives for conventional tissue culture media. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.7, n.4, p.2523-2529, 2018.

KADU, A.R. *In vitro* micropropagation of gerbera using auxillary bud. **Asian Journal of Bio Science**, v.8, n.1, p.15-18, 2013.

KANWAR, J.K.; KUMAR, S. *In vitro* propagation of Gerbera – A Review. **Horticultural Science**, v.35, n.1, p.35–44, 2008.

KARASAWA, M.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C.P.; SILVA, M.P.; RIVA, E.M.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Aplicação de métodos de agrupamento na quantificação da divergência genética entre acessos de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v.23, p.1000-1005, 2005.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 452p.

KIYUNA, I.; FRANCISCO, V.L.F.S.; COELHO, P.J.; CASER, D.V.; ASSUMPCÃO, R.; ÂNGELO, J. A. A floricultura brasileira no início do século XXI: O perfil do produtor. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 8, p. 57-76, 2002.

KLOSS, W.E.; GEORGE, C.G.; SORGE, L.K. Dark disk color in the flower of *Gerbera hybrida* is determined by a dominant gene, Dc. **HortScience**, Alexandria, v. 40, p. 1992-1994, 2005.

KUMAR, S.; KANWAR, J.K. Plant regeneration from cell suspensions in *Gerbera jamesonii* Bolus. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, Mazovia, v. 15, p. 157-166, 2007.

KUMAR, S.; KANWAR, J.K. Regeneration ability of petiole, leaf and petal explants in gerbera cut flower cultures *in vitro*. **Folia Horticulturae**, Krakow, v. 18, p. 57-64, 2006.

KUMARI, S.; KUMAR, A.P.; SARKHEL, S.; SINGH, P.; KUMAR, R. Standardization of *in vitro* mass multiplication protocol for gerbera cv. Partrizia. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.7, n.4, p.514-519, 2018.

LIMA, C.O.C.; MARCHI, M.N.G.; BRITO, A.L.; CARNEIRO, C.E.; BELLINTANI, M.C.; SANTANA, J.R.F. Organogênese direta de *Orthophytum mucugense*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, 2012.

LÍRIO, V.S.; SILVA, C.A.B. **Diagnóstico da cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais no Estado do Rio de Janeiro**, UFV/FUNARBE – Rio de Janeiro, 157p. 2003.

LUDWIG, F.; FERNANDES, D.M.; MOTA, P.R.D.; VILLAS BÔAS, R.L. Electrical conductivity and pH of the substrate solution in gerbera cultivars under fertigation. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 356-360, 2013.

MACHADO NETO, A.S.; JASMIM, J.M. Perfil da produção de flores tropicais no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.18, n.1, p.5-13, 2012.

MACHADO, C.F.; JESUS, F.N.; LEDO, C.A.S. Divergência genética de acessos de maracujá utilizando descritores quantitativos e qualitativos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.2, p.442-449, 2015.

MAESSCHALCK, R.; JOUAN-RIMBAUD, D.; MASSART, D.L. The Mahalanobis distance. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 50, n.1, p.1-18, 2000.

MANNING, J.C.; SIMKA, B.; BOATWRIGHT, J.S.; MAGEE, A.R. A revised taxonomy of *Gerbera* sect. *Gerbera* (Asteraceae: Mutisieae). **South African Journal of Botany**, v.104, 142-157, 2016.

MATTOS, L.A.; AMORIM, E.P.; AMORIM, V.B.O.; COHEN, K.O.; LEDO, C.A.S.; SILVA, S.O. Agronomical and molecular characterization of banana germplasm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 2, p. 146-154, 2010.

MELÃO, A.V.; PEREIRA, M.G.; KRAUSE, W.; GONÇALVES, L.S.A.; MOREIRA, W.G. Caracterização agrônômica e divergência genética entre acessos de abacaxizeiro nas condições do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.4, p.952-960, 2015.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. REGISTRO NACIONAL DE PROTEÇÃO DE CULTIVARES. **Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de Gérbera**. 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 jul. 2014.

MISHRA, S.J.; CHANDRA, R.; PRASAD, L.; PATEL, R.K. Influence of some phytohormones based culture medium on *in vitro* multiplication of gerbera (*Gerbera jamesonii*). **HortFlora Resesarch Spectrum**. v.3, n.1, p.65-68, 2014.

MITTELMANN, A.; MIRANDA FILHO, J.B.; NASS, L.L.; LIMA, G.J.M.M.; HARA-KLEIN, C.; SILVA, R.M. Quantitative variation for grain quality in Brazilian maize populations. **Scientia Agricola**, v.68, n.1, p.50-56, 2011.

MODH, F.K.; DHADUK, B.K.; SHAH R.R. Factors affecting micropropagation of gerbera from capitulum explants. **Journal of Ornamental Horticulture**, New Delhi, v. 5, p. 4-6, 2002.

MOHAMED, S.A.; ÖZZAMBAKB, M.E. Shoot regeneration capacity of *in vitro* cultures of some Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) explants. **Sudanese Journal of Agricultural Sciences**, v.1, p.24-29, 2014.

MORAIS, T.P.; ASMAR, S.A.; LUZ, J.M.Q. Reguladores de crescimento vegetal no cultivo *in vitro* de *Mentha x Piperita* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.16, n.2, p.350-355, 2014.

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

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 473- 497, 1962.

NAMH, S.; AKBAŞ, F.; IŞIKALAN, C.; TILKAT, E.A.; BAŞARAN, D. The effect of different plant hormones (PGRs) on multiple shoots of *Hypericum retusum* Aucher. **Plant Omics Journal**, v.3, n.1, p.12-17, 2010.

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**, Lagos, v. 11, n. 37, p. 9048-9053, 2012.

NAZARI, F.; KHOSH-KHUI, M.; AZADI, P.; SALEHI, H.; NIAZI A. Growth regulators affected *in vitro* propagation of pot gerbera (*Gerbera jamesonii* cv. Royal Soft Pink). **International Journal of Agriculture and Biosciences**, v.3, n.4, p.85-189, 2014.

NEVES, M.F.; PINTO, M.J.A. **Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais do Brasil**. São Paulo: OCESP, 2015. Câmara Setorial Federal de Flores e Plantas Ornamentais, Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR). 132 p.

NHUT, D.T.; HUONG, N.T.D.; DON, N.T.; HAI, N.T.; NTHIEN, N.Q.; VU, N.H. 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. 24, p. 146-151, 2007.

NUNES, G.H.S.; MELO, D.R.M.; DANTAS, D.J.; ARAGÃO, F.A.S.; NUNES, E.W.L.P. Divergência genética entre linhagens de melão do grupo Inodorus. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.2, p.448-456, 2011.

NUNES, R.C.A.; VIANA, R.S.; MACHADO NETO, N.B. Atividade enzimática da superóxido dismutase em resposta aos fitorreguladores em *Gerbera jamesonii*. **Comunicata Scientiae**, v.6, n.1, p.83-89, 2015.

OLIVEIRA, M.A.P.; VALLS, J.F.M. Morphological characterization and reproductive aspects in genetic variability studies of forage peanut. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.299-304, 2003.

OLIVEIRA, M.S.P.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. Divergência genética entre acessos de açazeiro fundamentada em descritores morfoagronômicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.4, p.501-506, 2007.

OLIVEIRA, O.V.Z.; GUTIERREZ, E.M.A.; ANDRADE, R.M. *In vitro* culture of gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) and its acclimatization in greenhouse. **Bioagro**, Tarabana, v. 12, p. 75-80, 2000.

OLIVERA-ORTEGA, V.Z.; GUTIÉRREZ-ESPINOSA, M.A.; GUTIÉRREZ-ESPINOSA, J.A.; RODRÍGUEZ, M.A. Cultivo *in vitro* de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) y su aclimatación en invernadero. **Bioagro**, v.12, n.3, p.75-80, 2000.

ORLIKOWSKA, T.; NOWAK, E.; MARASEK, A.; KUCHARSKA, D. Effects of growth regulators and incubation period on *in vitro* regeneration of adventitious shoots from gerbera petiole. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Philadelphia, v. 59, p. 95-102, 1999.

PADUCHURI, P.Y.; DEOGIRKAR, G.V.; KAMDI, S.R.; KALE, M.C.; RAJURKAR, M.D. *In vitro* callus induction and root regeneration studies in *gerbera jamesonii*. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, v.1, n.2, p.87-90, 2010.

PAIVA, A.L.C.; TEIXEIRA, R.B.; YAMAKI, M.; MENEZES, G.R.O.; LEITE, C.D.S.; TORRES, R.A. Análise de componentes principais em características de produção de aves de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.285-288, 2010.

PARK, W.T.; KIM, Y.K.; KIM, Y.S.; PARK, N.I.; LEE, S.Y.; PARK, S.U. *In vitro* plant regeneration and micropropagation of *Liriope platyphylla*. **Plant Omics Journal**, v.4, n.4, p.199-203, 2011.

PARVIN, S.; ONA, A.F.; AHMAD, H.; NAHIYAN, A.S.M.; UDDIN, A.F.M.J. Callus induction of gerbera explants with different growth regulator compositions. **International Journal of Business, Social and Scientific Research**, v.6, n.1, p.68-73, 2017.

PAWŁOWSKA, B.; ŻUPNIK, M.; SZEWCZYK-TARANIEK, B.; CIOĆ1, M. Impact of LED light sources on morphogenesis and levels of photosynthetic pigments in *Gerbera jamesonii* grown *in vitro*. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v.59, n.1, p.115-123, 2018.

PRASAD, M.P. *In vitro* optimization of growth hormones in the micropropagation of Gerbera species. **International Journal of Current Biotechnology**, Tamilnadu, v. 2, n. 2, p. 1-5, 2014.

QUINTAL, S.S.R.; VIANA, A.P.; GONÇALVES, L.S.A.; PEREIRA, M.G.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Divergência genética entre acessos de mamoeiro por meio de variáveis morfoagronômicas. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.1, p.131-142, 2012.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**: The R Foundation for Statistical Computing. Version 3.3.2. Vienna, Austria. 2016. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 04 abr. 2016.

RAHMAN, M.; AHMED, B.; ISLAM, R.; MANDAL, A.; HOSSAIN, M. A Biotechnological approach for the production of red gerbera (*Gerbera Jamesonii* Bolus). **Nova Journal of Medical and Biological Sciences**, v.2, n.1, p.1-6, 2014.

RAJESHBABU, P.; GOPALAKRISHNAN, M.; JANARTHANAN, B.; SEKAR, T. An efficient and rapid regeneration protocol for micropropagation of *Rosa bourboniana* from nodal explants. **International Journal of Current Biotechnology**, Tamilnadu, v. 2, n. 1, p. 24-29, 2014.

RAY, T.; SAHA, P.; ROY S.C. *In vitro* plant regeneration from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. **Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology**, v. 6, p. 35-40, 2005.

REN, G.; LI, L.; HUANG, Y.; WANG, Y.; ZHANG, W.; ZHENG, R.; ZHONG, C.; WANG, X. GhWIP2, a WIP zinc finger protein, suppresses cell expansion in *Gerbera hybrida* by mediating crosstalk between gibberellin, abscisic acid, and auxin. **New Phytologist**, p.1-15, 2018.

REZENDE, R.K.S.; PAIVA, L.V.; PAIVA, R.; CHALFUN JÚNIOR, A.; TORGA, P.P.; CASTRO, E.M. Organogênese em capítulos florais e avaliação de características anatômicas da folha de *Gerbera jamesonii* adlam. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 821-827, 2008.

RIBEIRO, M.N.O.; PASQUAL, M.; SILVA, A.B.; RODRIGUES, V.A. Diferentes concentrações de sais do meio MS e de sacarose na multiplicação *in vitro* de *Zantedeschia aethiopica* L. Spreng. (copo-de-leite). **Revista Ciência Agronômica**, v.39, n.1, p.101-106, 2008.

ROCHA, M.C.; GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES, R.; SILVA, P.R.A.; CARMO, M.G.F.; ABOUD, A.C.S. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.3, p.423-431, 2010.

RODRIGUES, A.A.J.; EDER DE OLIVEIRA SANTOS, E.O.; CARVALHO, A.C.P.P. Photoperiod and growth regulators on *in vitro* shoot induction in *Heliconia latispatha*. **Ornamental Horticulture**, v.22, n.3, p.343-349, 2016.

RODRIGUES, M.A.; KERBAUY, G.B. Meristemas: fontes de juventude e plasticidade no desenvolvimento vegetal. **Hoehnea**, v.36, n.4, p.525-549, 2009.

RODRÍGUEZ, V.M.; CARTEA, M.E.; PADILLA, G.; VELASCO, P.; ORDÁS, A. The nabicol: a horticultural crop in northwestern Spain. **Euphytica**, v.142, p.237-246, 2005.

ROZALI, S.E.; RASHID, K.A.; TAHA, R.M. Micropropagation of an exotic ornamental plant, *Calathea crotalifera*, for production of high quality plantlets. **The ScientificWorld Journal**, p.1-12, 2014.

SANTOS, E.O.; RODRIGUES, A.A.J.; CARVALHO, A.C.P.P. Concentrations of the MS medium and auxins on *in vitro* rooting of the torch ginger (*Etlingera elatior*). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.13, n.1, p.7-14, 2017.

SANTOS, E.O.; RODRIGUES, A.A.J.; SILVA, E.R.; CARVALHO, A.C.P.P. Multiplicação de bastão-do-imperador em resposta a concentrações de BAP e número de subcultivos. **Ornamental Horticulture**, v.22, n.1, p.88-93, 2016.

SANTOS, R.C.; MOREIRA, J.A.N.; FARIAS, R.H.; DUARTE, J.M. Classificação de genótipos de amendoim baseada nos descritores agromorfológicos e isoenzimáticos. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.55-59, 2000.

SATO, A.Y.; PINTO, J.E.B.P.; MORAIS, A.R.; LAMEIRA, O.A.; CASTRO, N.E.A. efeito de diferentes níveis de nitrogênio, em presença ou ausência de benzilaminopurina, na multiplicação de gérbera (*Gerbera* sp.) de vaso. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1071-1078, 2001.

SCHWERTNER, A.B.S.; ZAFFARI, G.R. Micropropagação de singônio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.9, n.2, p.135-142, 2003.

SECRETARIA DE AGRICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. **Programa de Apoio a Floricultura no Estado do Rio de Janeiro – FLORESCER**. <http://www.agricultura.rj.gov/florescer>. Acesso em março de 2018.

SEVERINO, C.A.M. (Org.). **Cultivo de gérberas de corte e potes: *Gerbera jamesonii***. Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA. 1. ed. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT, 2007. 28 p. v. 1.

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**, v.10, n.57, p.12211-12217, 2011.

SHABBIR, K.; AHMAD, T.; HAFIZ, I.A.; HUSSAIN, A.; ABBASI, N.A.; AHMAD, J. *In vitro* regeneration of *Gerbera jamesonii* cv. Sunglow. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n.42, p.9975-9984, 2012.

SHARMA, G.; SRIVASTAVA, R. Combinations and concentrations of growth regulators for somatic embryogenesis in gerbera. **Annals of Agricultural Research**, New Delhi, v. 26, p. 214-217, 2005.

SHYLAJA, M.R.; SASHNA, P.; CHINJUSHA, V.; NAZEEM, P.A. An efficient micropropagation protocol for *Gerbera jamesonii* bolus from flower buds. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v.4, n.1, p.641-643, 2014.

SILVA, A.R.; CECON, P.R.; DIAS, C.T.S.; PUIATTI, M.; FINGER, F.L.; CARNEIRO, A.P.S. Morphological phenotypic dispersion of garlic cultivars by cluster analysis and multidimensional scaling. **Scientia Agricola**, v.71, n.1, p.38-43, 2014.

SILVA, C.A.; COSTA, P.R.; DETONI, J.L.; ALEXANDRE, R.S.; CRUZ, C.D.; SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E.R. Divergência genética entre acessos de cajazinho (*Spondias mombin* L.) no norte do Espírito Santo. **Revista Ceres**, v.61, n.3, p.362-369, 2014.

SILVA, F.C.S.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A.F.; BEZERRA, A.R.G.; ROSA, D.P.; FERREIRA, L.V.; CRUZ, C.D. Identification of new descriptors for differentiation of soybean genotypes by Gower algorithm. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.11, p.961-966, 2016.

SILVA, K.A.; MELLO, V.S.; KARSBURG, I.V. Propagação *in vitro* de *Arundina bambusifolia* lindl. com diferentes potenciais hidrogenionicos. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, n.22, p.31-34, 2015.

SIMÃO, M.J.; FARIA, D.V.; WERNER, E.T.; SOARES, T.C.B.; GONTIJO, A.B.P.L. Induction of *in vitro* shoots of *Billbergia euphemiae* E. Morren (Bromeliaceae) from leaf explants. **Acta Scientiarum. Biological Science**, v.38, n.2, p.207-213, 2016.

SINGH, B.; PINDER, R.; RANJAN SRIVASTAVA, R.; PAL, V. Genetic variability studies of gerbera cultivars under poly-house conditions. **HortFlora Research Spectrum**, v.6, n.1, p.35-38, 2017.

SINGH, P.; SINGH, A.K.; SHARMA, M.; SALGOTRA, S.K. Genetic divergence study in improved bread wheat varieties (*Triticum aestivum*). **African Journal of Agricultural Research**, v.9, n.4, p.507-512, 2014.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendograms by objective methods. **Taxonomy**, v.11, n.1, p.33-40, 1962.

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 Sciences**, v.24, n.3, p.354-357, 2011.

SONG, X.; DENG, Z.; GONG, L.; HUC, J.; MAB, Q. Cloning and characterization of resistance gene candidate sequences and molecular marker development in gerbera (*Gerbera hybrida*). **Scientia Horticulturae**, v.145, p.68-75, 2012.

SOUSA, C.M.; MIRANDA, R.M. Otimização do balanço entre auxina e citocinina para multiplicação *in vitro* de *Gerbera jamesonii* var. 'Ornela'. **Agronomia**, Seropédica, v. 40, n. 1-2, p. 66-72, 2006.

SOUSA, C.M.; SANTOS, R.P.; MIRANDA, R.M. Otimização da concentração dos sais do meio MS na propagação *in vitro* de gérbera var. 'Ornela'. **Agronomia**, Seropédica, v. 40, n. 1-2, p. 52-58, 2006.

STRAPASSON, E.; VENCovsky, R.; BATISTA, L.A.R. Seleção de descritores na caracterização de germoplasma de *Paspalum* sp. por meio de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.373-381, 2000.

SUDRÉ, C.P.; RODRIGUES, R.; SILVA, M.P.; RIVA, E.M.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; PEREIRA, T.N.S. Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. **Horticultura Brasileira**, v.24, n.1, p.88-93, 2006.

SWANDARI, T.; SETYORINI, D.T. *In vitro* callus induction of *Gerbera jamesonii* with combination of NAA and BAP. **AGROISTA Jurnal Agroteknologi**, v.1, n.2, p.192-196, 2017.

THAKUR, P.S.; GHORADE, R.B.; RATHOD, T.H. Micropropagation studies in gerbera. **Annals of Plant Physiology**, v. 18, p. 133-135, 2004.

THORPE, T.A. **Morphogenesis and regeneration**. In: VASIL, I.K.; THORPE, T.A. (Ed.). Plant cell and tissue culture. Dordrecht: Kluwer Academic, 1994. p.17-36.

TORRES, D.F.U. **Análise prospectiva para o setor atacadista de flores e plantas ornamentais no brasil e suas tecnologias da informação e comunicação**. 2015. 110 p. Dissertação (Mestre em Agronegócios) - Centro de Estudos e Pesquisas em Agronegócios, Universidade Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

TORRES, F.E.; VALLE, C.B.; LEMPP, B.; TEODORO, P.E.; RIGON, J.P.G.; RIBEIRO, L.P.; CORRÊA, C.C.G.; LUZ JÚNIOR, R.A.A. Estimativa da divergência entre ecótipos de braquiária baseada em descritores quantitativos e qualitativos. **Ciência Rural**, v.45, n.3, p.485-491, 2015.

TSIVELIKAS, A.L.; KOUTITA, O.; ANASTASIADOU, A.; SKARACIS, G.N.; TRAKA-MAVRONA, E.; KOUTSIKA-SOTIRIOU, M. Description and analysis of genetic diversity among squash accessions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.2, p.271-283, 2009.

VEILING HOLAMBRA – Flores e plantas ornamentais. Disponível em: <http://www.veiling.com.br>. Acesso em: abril de 2018.

VERMA, N.; ANAND, A. Micropropagation of *Gerbera jamesonii* (Bolus) on different culture media. **Advances in Plant Sciences**, Ghaziabad, v. 19, p. 19-22, 2006.

VICINI, L.; SOUZA, A.M. **Análise multivariada da teoria à prática**. Santa Maria : UFSM, CCNE, 215 p., 2005.

VIEIRA, E.A.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; KOPP, M.M.; ZIMMER, P.D.; BENIN, G.; SILVA, J.A.G.; HARTWIG, I.; MALONE, G.; OLIVEIRA, A.C. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.392-399, 2007.

WAMSER, G.H.; ARRUDA, B.; STINGHEN, J.C.; ROZZETTO, D.S.; BERTOLDO, J.G.; LANNES, S.D.; GUIDOLIN, A.F.; COIMBRA, J.L.M. Caracterização e estimativa da variabilidade genética de genótipos de cebola. **Horticultura Brasileira**, v.30, p.327-332, 2012.

WERNER, E.T.; GONTIJO, A.B.P.L.; AMARAL, J.A.T.; LUBER, J.; SCHMILDT, E.R. Micropropagation of *Crambe Abyssinica* Hochst. Ex R.E. Fr. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, n.8, p.925-931, 2017.

WERNER, E.T.; MOTTA, L.B.; MARTINS, M.Q.; LIMA, A.B.P.; SCHMILDT, E.R. Coeficiente de variação como medida da precisão em experimentos de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.8, n.1-2, p.27-36, 2012.

WINARTO, B.; YUFDY, M.P. Establishment of *in vitro* propagation protocol of *gerbera jamesonii* bolus ex hook f.: explant and media selection to plantlet acclimatization. **Journal of Agricultural Science**, v.28, n.1, p.1-9, 2017.

XI, M.; SHI, J.S. Tissue culture and rapid propagation of *Gerbera jamesonii*. **Journal Wanjing Forestry University**, v. 27, p. 33-36, 2003.

YAACOB, J.S.; YUSSOF, A.I.M.; TAHA, R.M.; MOHAJER, S. Somatic embryogenesis and plant regeneration from bulb, leaf and root explants of African blue lily (*Agapanthus praecox* ssp. *minimum*). **Australian Journal of Crop Science**, v.6, n.10, p.462-1470, 2012.

YUNIARTO, K.; KURNIATI, R.; SURYAWATI; MEILASARI, R. The Phenotypic Performances of Gerbera Local Bali X Rubby Red Hybrids. **AGRIVITA Journal of Agricultural Science**, v.40, n.1, p.8-14, 2018.

ZHANG, M.; ZHAO, D.; MA, Z.; LI, X.; XIAO, Y. Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. **HortScience**, Alexandria, v. 44, p. 757-763, 2009.

ZHANG, W.Z. Research on rapid propagation of *Gerbera jamesonii*. **Fujian Agricultural Science and Technology**, v. 1, p. 17-18, 2002.

ZUIN, G.C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; KVITSCHAL, M.V.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; COIMBRA, G.K. Divergência genética entre acessos de mandioca-de-mesa coletados no município de Cianorte, região Noroeste do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.1, p.21-30, 2009.

ANEXOS

Tabela 1. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo ‘Pacific’ da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	fraco	3
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	esparsa	3
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	pouco profundas	3
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	muito forte	9
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	simples	1
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às	em contato	2

flores liguladas do raio externo		
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	média	5
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	acima	3
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	reto	3
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	3

20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	uma	1
24. Apenas cultivares de uma cor: flor ligulada do raio externo: distribuição da cor em direção ao ápice	mais clara	3
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	presentes	2
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	rosa	7
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco	ausente	1

escuro (antes da abertura das flores do disco)		
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	amarelo	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	amarelo	2
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais escura	3
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 2. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo 'Igloo' da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na		

face superior (exceto na nervura principal)	média	5
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	profundas	7
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	moderadamente agudo	3
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	ausente ou muito fraca	1
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	presente	2
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	grande	7
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo:	irregular	2

contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno		
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	separada	1
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	fraca	3
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	acima	3
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estrito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	moderadamente reflexo	4
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2

19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	convexo	3
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	pouco profunda	2
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	uma	1
24. Apenas cultivares de uma cor: flor ligulada do raio externo: distribuição da cor em direção ao ápice	mais clara	3
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração	branco-amarelado	2

principal da face do raio externo		
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	amarelo	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	branco	1
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	branco	1
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	igual	2
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 3. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo ‘Igor’ da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	forte	7
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	esparsa	3
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	pouco profundas	3
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	arredondado	9
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das	pequeno	3

flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)		
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	irregular	2
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	fraca	3
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	no mesmo nível	2

16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	côncavo	1
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	uma	1
24. Apenas cultivares de uma cor: flor ligulada do	mais clara	3

raio externo: distribuição da cor em direção ao ápice		
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	rosa	7
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	amarelo	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	branco	1
36. Estigma: coloração principal	amarelo	2
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1

38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais escura	3
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 4. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo ‘Mephisto’ da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	forte	7
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	média	5
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	pouco profundas	3
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	fraca	3
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	simples	1

12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	média	5
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	acima	3
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção	reto	3

transversal na porção mediana da lígula		
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2

28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	presente	2
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: coloração secundária	branco	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	rosa	7
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	rosa	4
34. Disco: coloração		

principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	roxo	6
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	branco	1
36. Estigma: coloração principal	roxo	6
37. Anteras: coloração principal	marrom	6
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais clara	1
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 5. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo 'Lionela' da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	esparsa	3
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	pouco profundas	3
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7

5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	média	5
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	pequeno	3
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	regular	1
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2

13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	fraca	3
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	acima	3
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	fortemente encurvado	1
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	côncavo	1
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2

21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	pouco profunda	3
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	uma	1
24. Apenas cultivares de uma cor: flor ligulada do raio externo: distribuição da cor	ausente	1
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	amarelo	5
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco		

das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	amarelo	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	roxo	6
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	roxo	6
37. Anteras: coloração principal	marrom	6
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais escura	3
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 6. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo ‘Orca’ da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	ausente ou muito fraco	1
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	média	5
3. Folha: profundidade das incisões na porção	profundas	7

mediana da lâmina		
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	médio	5
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	presente	2
9. Capítulo: tipo	simples	1
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	forte	7
15. Flores liguladas do raio externo: nível do		

ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	no mesmo nível	2
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito elíptica	1
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	2
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	presente	2
23. Flor ligulada do raio	uma	1

externo: número de cores		
24. Apenas cultivares de uma cor: Flor ligulada do raio externo: distribuição da cor	ausente	1
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	branco	1
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	marrom	7
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	branco	1
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2

36. Estigma: coloração principal	branco	1
37. Anteras: coloração principal	amarelo	6
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais clara	1
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 7. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo ‘Orange Dino’ da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	ausente ou muito esparsa	1
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	médias	5
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	médio	5
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1

8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	médio	5
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	regular	1
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
14. Capítulo: intensidade da pigmentação	fraca	3

antociânica na porção distal das brácteas internas		
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	abaixo	1
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	convexo	3
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	pouco profunda	3
22. Flor ligulada do raio	presente	2

externo: tendência a formar longas pétalas livres		
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	presente	2
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	presente	2
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo:	amarelo	2

coloração secundária		
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	alaranjado	6
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	amarelo	2
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais clara	1
39. Anteras: estrias longitudinais	presentes	2

Tabela 8. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo ‘Kozak’ da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	média	5
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	médias	5
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	médio	5
5. Folha: forma do ápice	moderadamente agudo	3
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	média	5
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das	médio	5

flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)		
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	regular	1
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	fraca	3
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	acima	3

16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito elíptica	1
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	2
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	pouco profunda	3
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio	ausentes	1

externo: estrias		
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	presente	2
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	presente	2
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: coloração secundária	amarelo	2
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	alaranjado	6
32. Apenas cultivares simples ou		

semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	amarelo	2
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	igual	2
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 9. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo “GA1” da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	ausente ou muito fraco	1
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	ausente ou muito fraca	1
3. Folha: profundidade das incisões na porção	pouco profundas	3

mediana da lâmina		
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	claro	3
5. Folha: forma do ápice	moderadamente agudo	3
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	média	5
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	simples	1
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	forte	7
15. Flores liguladas do raio externo: nível do		

ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	no mesmo nível	2
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	côncavo	1
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio	uma	1

externo: número de cores		
24. Apenas cultivares de uma cor: Flor ligulada do raio externo: distribuição da cor	ausente	1
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	amarelo	5
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	amarelo	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	marrom	7
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2

36. Estigma: coloração principal	marrom	7
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	igual	2
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1

Tabela 10. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo “GA2” da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	forte	7
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	densa	7
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	profundas	7
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	muito forte	9
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1

8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	médio	5
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	irregular	2
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	ausente	1
14. Capítulo: intensidade da pigmentação	fraca	3

antociânica na porção distal das brácteas internas		
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	abaixo	1
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	2
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio	presente	2

externo: tendência a formar longas pétalas livres		
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	ausente	1
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo:	alaranjado	3

coloração secundária		
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	amarelo	5
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	amarelo	2
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais clara	1
39. Anteras: estrias longitudinais	presentes	2

Tabela 11. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo “GR1” da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	médio	5
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	profundas	7
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	presente	2
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das	médio	5

flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)		
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	irregular	2
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	média	5
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	no mesmo nível	2

16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	moderadamente reflexo	4
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	reto	3
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	2
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	agudo	1
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio	ausentes	1

externo: estrias		
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	ausente	1
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: coloração secundária	branco	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	rosa	7
32. Apenas cultivares simples ou		

semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	branco	1
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	branco	1
36. Estigma: coloração principal	branco	1
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais clara	1
39. Anteras: estrias longitudinais	presentes	2

Tabela 12. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo “GR2” da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	médio	5
3. Folha: profundidade das incisões na porção	Pouco profundas	3

mediana da lâmina		
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	moderadamente agudo	3
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	ausente	1
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do invólucro	presente	2
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	médio	5
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	regular	1
12. Capítulo: posição da		

porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	média	5
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	no mesmo nível	2
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	moderadamente encurvado	2
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção	côncavo	1

mediana da lígula		
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	média	5
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2
28. Apenas cultivares de		

duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	presente	2
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: coloração secundária	branco	1
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	rosa	7
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	rosa	4
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	branco	1
36. Estigma: coloração principal	rosa	4

37. Anteras: coloração principal	marrom	6
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	mais escura	3
39. Anteras: estrias longitudinais	presentes	2

Tabela 13. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo “GL1” da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	médio	5
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	densa	7
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	profundas	7
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	escuro	7
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	simples	1

12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	forte	7
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em relação ao ápice do involúcro	acima	3
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito obovada	2
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	reto	3
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	2
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2

21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2
25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	presente	2
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	presente	2

30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: coloração secundária	amarelo	2
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	alaranjado	6
32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	ausente	1
33. Apenas cultivares simples: Flores do disco das fileiras externas: coloração principal do lóbulo do perianto	alaranjado	3
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	amarelo	2
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	igual	2

39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1
------------------------------------	----------	---

Tabela 14. Descritores qualitativos de folhas e flores para caracterização do genótipo “GL2” da coleção de *Gerbera* sp. da UFRRJ, Seropédica/RJ, 2018.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição
1. Folha: brilho da lâmina	ausente ou muito fraco	1
2. Folha: pilosidade na face superior (exceto na nervura principal)	densa	7
3. Folha: profundidade das incisões na porção mediana da lâmina	pouco profundas	3
4. Folha: intensidade da coloração verde da face superior	médio	5
5. Folha: forma do ápice	estreito agudo	1
6. Pedúnculo: pigmentação antociânica na base	forte	7
7. Pedúnculo: pigmentação antociânica na ponta	presente	2
8. Pedúnculo: brácteas abaixo do involúcro	ausente	1
9. Capítulo: tipo	semidobrado	2
10. Apenas cultivares semidobradas ou		

dobradas: Capítulo: largura do conjunto das flores liguladas do raio interno (A) comparado à largura do capítulo (B)	pequeno	3
15. Apenas cultivares semidobradas ou dobradas: Capítulo: contorno do conjunto das flores liguladas do raio interno	irregular	2
12. Capítulo: posição da porção distal das brácteas em relação às flores liguladas do raio externo	em contato	2
13. Capítulo: pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	presente	2
14. Capítulo: intensidade da pigmentação antociânica na porção distal das brácteas internas	forte	7
15. Flores liguladas do raio externo: nível do ápice das flores em	acima	3

relação ao ápice do invólucro		
16. Flor ligulada do raio externo: forma	estreito elíptica	1
17. Flor ligulada do raio externo: eixo longitudinal	reto	3
18. Flor ligulada do raio interno: eixo longitudinal	fortemente encurvado	1
19. Flor ligulada do raio externo: perfil em seção transversal na porção mediana da lígula	reto	2
20. Flor ligulada do raio externo: forma do ápice	arredondado	2
21. Flor ligulada do raio externo: profundidade das incisões no ápice	ausente ou pouco profunda	1
22. Flor ligulada do raio externo: tendência a formar longas pétalas livres	ausente	1
23. Flor ligulada do raio externo: número de cores	duas	2

25. Flor ligulada do raio externo: estrias	ausentes	1
26. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade basal	presente	2
27. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na metade distal	ausente	1
28. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na margem	ausente	1
29. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: cor secundária na extremidade	ausente	1
30. Apenas cultivares de duas cores: Flor ligulada do raio externo: coloração secundária	amarelo	2
31. Flor ligulada do raio externo: coloração principal da face do raio externo	alaranjado	6

32. Apenas cultivares simples ou semidobradas: Disco escuro (antes da abertura das flores do disco)	presente	2
34. Disco: coloração principal dos lóbulos do perianto das flores bissexuadas	amarelo	2
35. Pistilo: coloração principal da porção distal	amarelo	2
36. Estigma: coloração principal	alaranjado	3
37. Anteras: coloração principal	amarelo	1
38. Anteras: coloração do ápice em relação às demais partes	igual	2
39. Anteras: estrias longitudinais	ausentes	1