

OTIMIZAÇÃO DO BALANÇO ENTRE AUXINA E CITOCININA PARA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Gerbera jamesonii* VAR. 'ORNELA'¹

CLEITON MATEUS SOUSA², RICARDO MOTTA MIRANDA³

2. Escola Agrotécnica Federal de Ceres, Rodovia GO – 154, km 3 – Zona Rural – CEP 76 300 000 – Ceres –GO- Fone/Fax (62) 3307 7100. sousacm@yahoo.com.br; 3. UFRRJ / IA – D.FITO – LCTV. Br 465 km 07, Campus da UFRRJ. Seropédica, RJ. 23890-000. fone/fax. 021 3787-3755. e-mail. rmottam@ufrj.br

RESUMO

As gérberas são flores de corte que apresentam diversidade na coloração e boa durabilidade. O uso de fitorreguladores na propagação de plantas *in vitro* está relacionado com a capacidade de induzir a proliferação de brotos e a diferenciação de raízes. Geralmente balanços favoráveis às auxinas induzem a diferenciação de raízes, enquanto, favoráveis as citocininas induzem a proliferação de brotos. No entanto, citocininas em excesso podem induzir a formação de plantas anormais e com baixo potencial para serem aclimatizadas. Avaliou-se o efeito de diferentes balanços entre auxina e citocinina no desenvolvimento *in vitro* de brotos de gérbera variedade Ornela. Os balanços foram formados pelas combinações de três níveis de auxina (0; 0,05 e 0,5 mg.L⁻¹ de AIB) com cinco níveis de citocinina (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹ de BAP ou kinetina). Oito semanas após a implantação do experimento, avaliou-se a percentagem de sobrevivência, de enraizamento, número de brotos formados em cada explante e a altura das brotações. A proliferação de brotos foi influenciada tanto pela concentração quanto pela fonte de citocinina. A citocinina BAP mostrou ser mais eficiente que kinetina para induzir a proliferação de brotos. BAP acima de 2,0 mg.L⁻¹ induziu a formação de plântulas com características indesejáveis durante a fase de multiplicação *in vitro*, enquanto isto não foi observado mesmo na maior concentração de kinetina (4,0 mg.L⁻¹). Os balanços com 0,5 mg.L⁻¹ BAP independentemente dos níveis de AIB apresentaram os melhores resultados para a multiplicação e produção de brotos com potencial para serem aclimatados. Somente o BAP inibiu a diferenciação de raízes.

Palavras-chave: Gérbera, Ácido Indolbultírico, Benzilaminopurina, kinetina, proliferação de brotos e enraizamento.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF BALANCE BETWEEN AUXIN AND CYTOKININ FOR *IN VITRO* MULTIPLICATION OF *Gerbera jamesonii* VAR. 'ORNELA'

Gerberas is cut flowers that present diversity in coloration and excellent durability. The use of growth regulators in plant propagation *in vitro* this related with the capacity for induce the proliferation of sprouts and differentiation of roots. Generally balances favorable the auxin induces the differentiation of roots, while favorable the cytokinin induces the proliferation of sprouts. However, cytokinins in excess can induce the formation of abnormal plants and with potential lower for acclimatization. Was evaluated the effect of different balances among auxin and cytokinins in the development *in vitro* of sprouts of gerbera variety Ornela. The balances were formed by combinations of three levels auxin (0; 0,05 and 0,5 mg.L⁻¹ of AIB) with five levels cytokinins (0; 0,5; 1,0; 2,0 and 4,0 mg.L⁻¹ of BAP or kinetin). Eight weeks after the implantation of experiment, was evaluated the rate survival, of rooting, numbers of sprouts formed in each explant and height of the sprouts. The proliferation of sprouts was influenced so much by the concentration as for the cytokinin source. The molecule BAP showed to be more efficient than kinetin for induce the proliferation of sprouts. BAP above 2,0 mg.L⁻¹ induced the formation of plantlets with undesirable characteristics during the phase of multiplication *in vitro*, while this was not observed even in the largest concentration of kinetin (4,0 mg.L⁻¹). The balances with 0,5 mg.L⁻¹ of BAP independent the levels of AIB presented the best results for multiplication and production of sprouts with potential for acclimatization. Only the BAP inhibited the differentiation of roots.

Key words: Gerbera, auxin, cytokinins, proliferation of sprouts and rooting.

1. Parte da dissertação do primeiro autor apresentada a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-GRaduação em Fitotecnica.

INTRODUÇÃO

Gérbera, margarida do Transvaal ou margarida da África é uma planta da família Asteraceae, de origem africana, herbácea perene, com 30 a 40 cm de altura, folhas em roseta, flores em capítulos, simples ou dobrados, solitários sobre hastes longas e firmes (Lorenzi & Souza, 1999). A maioria das gérberas cultivadas atualmente são híbridos procedentes de *Gerbera jamesonii*. Utilizadas tradicionalmente como planta ornamental para canteiros e bordaduras, vem ocupando espaço crescente no mercado como flor de corte, devido a boa durabilidade e a diversidade na coloração das inflorescências, suprimindo as exigências dos consumidores (Barbosa *et al.*, 1993).

A propagação de plantas *in vitro* tornou-se uma excelente alternativa para a multiplicação massal, ou seja, em escala que acompanhe a crescente demanda, de cultivares atualmente utilizadas na produção comercial de flores de corte.

Apesar de, desde o início da década de 70, pesquisadores já publicarem protocolos para a propagação *in vitro* de gérbera (Murashige *et al.*, 1974; Pierik *et al.*, 1982; Laliberté *et al.*, 1985 e Barbosa *et al.*, 1993), estes nem sempre são eficientes e viáveis para outras variedades.

Conforme Peres (2002), mesmo com os avanços da biotecnologia, a organogênese *in vitro* ainda continua sendo empírica, sendo necessário definir protocolos para cada genótipo estudado, uma vez que a indução para a diferenciação celular é principalmente controlada pelo balanço hormonal endógeno e sensibilidade celular dos tecidos, os quais são de difícil determinação e variam em função do genótipo e do estado fisiológico da planta.

Quanto ao balanços dos fitorreguladores, na década de 50 Skoog e Miller (1957) sugeriram que as concentrações relativas entre auxina e citocinina são mais importante do que as concentrações absolutas das mesmas para a indução da organogênese *in vitro*.

As auxinas, embora estejam relacionadas à indução de calos e enraizamento (Mathur *et al.*, 1995), podem ser utilizadas para estimular o crescimento das partes aéreas (Eapen *et al.*, 1998).

As citocininas estão envolvidas no controle de diversos e importantes processos associados com o crescimento e desenvolvimento vegetal. Elas fazem parte do controle da divisão celular, desenvolvimento de cloroplastos, diferenciação de gemas, iniciação e desenvolvimento de brotos, crescimento e senescência de folhas (Brault & Maldiney, 1999). Diante disso, é comum o uso de citocininas para induzir a diferenciação e o desenvolvimento de gemas vegetativas em culturas *in vitro* (Ohki & Sawaki, 1999).

O ajuste do processo da propagação *in vitro* para obter grande quantidade de plântulas com alta qualidade permite obter material propagativo com preços competitivos (Topoonyanont *et al.*, 2001).

Segundo Topoonyanont *et al.*, (1999), o incremento

de citocinina tem sido utilizado para aumentar a proliferação de brotos em culturas de gérbera *in vitro*. Entretanto, citocininas em excesso podem induzir a formação de tufos, plântulas anormais, e com baixo potencial para serem aclimatizadas. Os tufos são caracterizados por grande número de folhas, com pecíolo curto e pequena lâmina foliar, o que causa anomalias em plântulas *in vitro*. Este fator causa perda de até 30% na produção de mudas de gérbera durante o processo da propagação *in vitro* e na aclimação.

Por outro lado, apesar da relação direta das auxinas com a indução de formação de calos e enraizamento (Mathur *et al.*, 1995), podem ser utilizadas para estimular o crescimento das partes aéreas (Eapen *et al.*, 1998; Sudha, *et al.*, 1998), reduzindo os problemas com a formação de tufos durante a fase de multiplicação de várias espécies.

O objetivo deste trabalho foi comparar o efeito de diferentes combinações de auxina (AIB) com duas fontes de citocinina (BAP e kinetina) no desenvolvimento *in vitro* de brotos de gérbera variedade Ornela.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Utilizou-se plântulas de gérbera da variedade Ornela implantadas *in vitro*, enraizadas, com cerca de 3,5 cm de altura, repicadas por duas vezes seguidas, com intervalo de 30 dias cada, para meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) sem substâncias reguladoras de crescimento, a fim de uniformizar as plântulas e eliminar resíduos de fitorreguladores utilizados nas fases anteriores.

Foram realizados dois experimentos, um utilizando BAP como fonte de citocinina e o outro utilizando kinetina. Os experimentos foram implantados no delineamento experimental de blocos ao acaso, no esquema fatorial 5 x 3, sendo cinco níveis de citocinina (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹ de BAP ou kinetina) e três níveis de auxina (0; 0,05 e 0,5 mg.L⁻¹ de AIB), com quatro repetições e um frasco contendo seis explantes por cada unidade experimental.

O meio de cultura utilizado continha os sais do meio MS, vitaminas (2 mg.L⁻¹ de glicina; 0,5 mg.L⁻¹ de ácido nicotínico; 0,5 mg.L⁻¹ de piridoxina e 0,1 mg.L⁻¹ de tiamina), 100 mg.L⁻¹ de inositol, 30 g.L⁻¹ de sacarose, suplementado com as diferentes combinações dos fitorreguladores propostas, na consistência semi-sólida com 7 g.L⁻¹ de ágar, e o pH ajustado a 5,7 antes da autoclavagem.

Inoculou-se seis explantes em frascos de vidro, com capacidade de 600 mL, contendo 50 mL de meio de cultura. Posteriormente os frascos foram vedados com

filme de polietileno e, em seguida, transferidos à sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz ao dia, luminosidade em torno de $45 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, permanecendo até o final do experimento.

Oito semanas após a implantação do experimento coletou-se dados referentes à taxa de sobrevivência, número de brotos formados por cada explante, comprimento médio dos brotos e % de explantes enraizados.

Os dados foram submetidos a ANOVA (5% de probabilidade) e realizada análise de regressão para mostrar tendência de resposta nos níveis de citocinina estudados.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todas as combinações entre os níveis de auxina e de citocinina estudadas, apresentaram condições satisfatórias para a manutenção das culturas *in vitro*, totalizando 100% de sobrevivência em todos os tratamentos.

Nas duas fontes de citocinina, BAP ou kinetina, o

número de brotos, comprimento dos brotos e percentagem de enraizamento, não apresentaram diferenças significativas em função da interação dos níveis destes com os de auxina. Quando se utilizou, kinetina todas as plântulas enraizaram.

A figura 1 representa o desenvolvimento de explantes de gérbera, variedade Ornela, mantidos em diferentes combinações de AIB e BAP, demonstrando que a ocorrência de proliferação de brotos, formação de raízes ou de ambos os processos regenerativos, depende do balanço entre auxina e citocinina.

Na presença de BAP o número médio de brotos obtidos foi significativamente maior, cerca de cinco vezes, que na ausência deste fitorregulador e nos níveis de kinetina estudados (Figura 2). O aumento do nível de BAP até $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ favoreceu ao incremento do número médio de brotos, apresentando tendência de redução na concentração de 2 mg.L^{-1} , permanecendo estável até 4 mg.L^{-1} (Figura 2). Isso mostra que os balanços formados com $0,5$ ou $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP foram suficientes para induzir a diferenciação de gemas vegetativas; acima destes valores há uma ligeira tendência de redução no número de gemas diferenciadas, o que pode ser um efeito inibitório dos dois maiores níveis de BAP estudados.

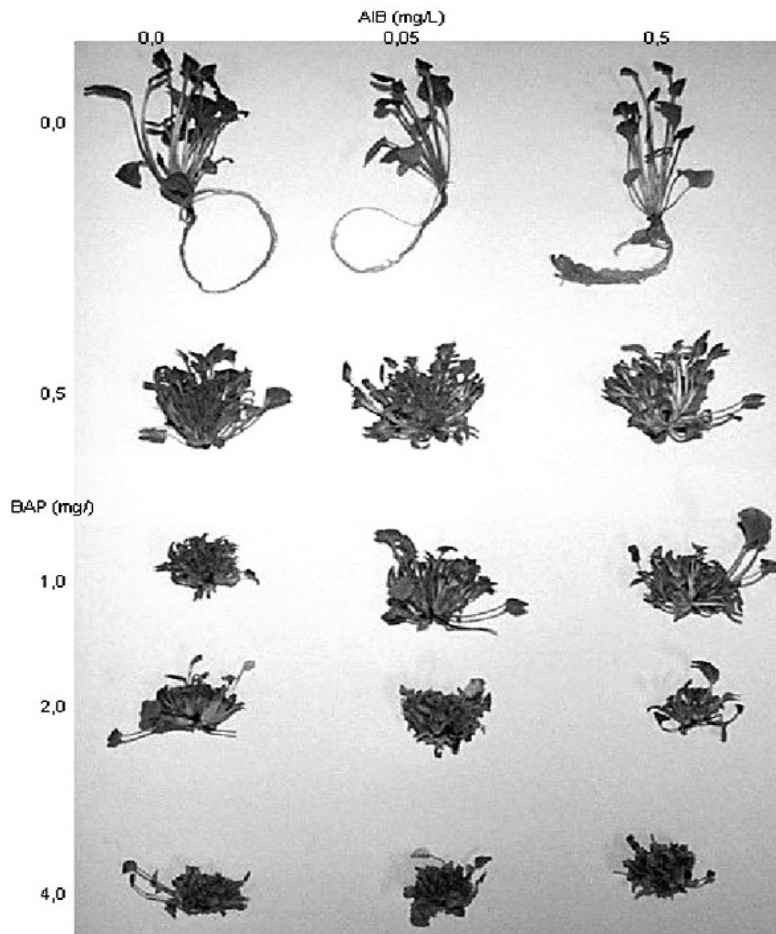


Figura 1 - Efeitos de diferentes balanços entre AIB e BAP na proliferação, no desenvolvimento de gemas vegetativas e na diferenciação de raízes em explantes de gérbera variedade Ornela oito semanas após a implantação do experimento.

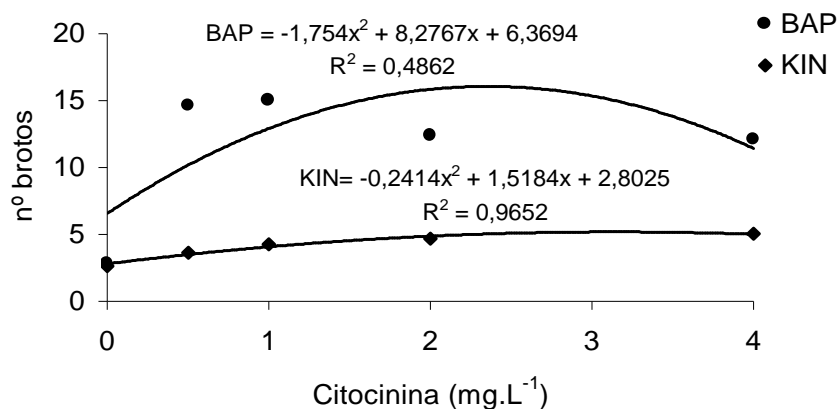


Figura 2 - Efeito do nível e do tipo de citocinina na proliferação de brotos em explante de gérbera var. 'Ornela', independente do nível de AIB, oito semanas após a implantação do experimento.

Os níveis de AIB estudados não influenciaram a proliferação de brotos. Barbosa et al., (1993), também verificaram que a presença de auxina (AIA) no meio de cultura não influenciou no número total médio de folhas novas com comprimento maior que 1,0 cm por explante inicial.

Conforme Murashige et al., (1974), o uso de auxina durante a fase de multiplicação de gérbera *in vitro* nem sempre é necessário, entretanto, o uso de AIA na concentração de 0,5 mg.L⁻¹ tem sido utilizado, uma vez que parece aumentar o vigor das plântulas.

No experimento com kinetina como fonte de citocinina, o número médio de brotos obtidos em cada explante foi inferior aos números obtidos na presença de BAP. Com o incremento da concentração de kinetina também houve um ligeiro aumento no número de brotos, apesar de inferior ao obtido com BAP como fonte de citocinina (figura 2).

Para a multiplicação de banana *in vitro* utilizando diversas fonte de citocinina, Arinaitwe et al., (2000) verificaram que, apesar do número de brotos ser diferente, as concentrações de BAP e KIN para obter maior número de brotos foram equivalentes (20,9 mM). No entanto, quando consideraram o custo do meio MS mais as citocininas utilizadas para produzir um broto, verificaram que o BAP foi mais econômico (US\$ 0.79 centavos) que KIN (US\$ 1.12 centavos). Desta forma, os resultados apresentados neste trabalho confirmam que o uso de BAP é o tratamento mais eficiente e econômico para a obtenção dos melhores resultados na multiplicação *in vitro*.

Pierik et al., (1982) e Barbosa et al., (1993) citam que é fundamental o uso de citocinina no meio de cultura para obter ótimas taxas de multiplicação. No entanto, Topoonyanont et al., (1999) citam que apesar da adição de citocinina ao meio de cultura ser utilizado para aumentar a proliferação de brotos em culturas de gérbera *in vitro*, seu excesso pode induzir a formação de tufos, plântulas anormais e com baixo potencial para

serem aclimatizadas. No presente trabalho características semelhantes a estas foram observadas nos maiores níveis de BAP (2,0 e 4,0 mg.L⁻¹), demonstrando que estes níveis estão acima do nível ótimo para produzir plântulas com alto potencial para ser aclimatizadas. O menor nível de BAP estudado (0,5 mg.L⁻¹) foi suficiente para induzir os melhores resultados quanto a proliferação de brotos (Figura 2).

Comparando-se o número de brotos por explante obtido no experimento utilizando BAP como fonte de citocinina, com resultados encontrados na literatura, verifica-se que o rendimento, através da taxa de multiplicação obtida, foi superior aos trabalhos encontrados na literatura com outras variedades (Murashige et al., 1974; Pierik et al., 1982; Laliberté et al., 1985; Barbosa et al., 1993). Deve-se ressaltar, ainda, que os níveis de citocinina, na maioria das vezes kinetina, utilizados na literatura são superiores a 0,5 mg.L⁻¹, concentração que apresentou os melhores resultados, no presente estudo.

De acordo com a espécie, estágio de desenvolvimento da cultura e condições ambientais, dentre outros fatores, cada fitorregulador apresenta uma concentração ótima para induzir determinada resposta fisiológica. Souza (2003) verificou que o aumento da concentração de BAP até um nível ótimo, incrementou também o número de brotos obtidos em explantes de arnica (*Lychnophora pinaster*). Acima dessa concentração, houve ligeira tendência de redução no número de brotos formados. No trabalho de Reis (2001) com *Catharanthus roseus*, também foi observado que o incremento de fitorreguladores até uma determinada concentração favoreceu determinadas respostas, acima desta, ocorreram efeitos inibitórios.

A diferenciação de raízes foi predominante na ausência de citocinina, ocorrendo acima de 90% de enraizamento das brotações. Já na presença de BAP, o menor nível (0,5 mg.L⁻¹) reduziu para abaixo de 10% e o maior nível (4,0 mg.L⁻¹) inibiu completamente a

diferenciação de raízes, o que resultou em diferenças significativas em relação ao controle. Não foram encontrados modelos de regressão significativos para mostrar a tendência de resposta do percentual de enraizamento. Na presença de kinetina não foi verificada diferença significativa entre seus diferentes níveis, ocorrendo enraizamento em todas as plântulas.

No trabalho de Barbosa et al., (1993) com a cv. Appelbloesem, foi observado que na ausência de BAP as culturas apresentaram 100% de enraizamento, nos diferentes níveis de AIA utilizados, a mesma tendência sendo observada para a variedade Ornela neste trabalho.

Na presença de BAP o início da diferenciação de raízes somente foi observado, cerca de três semanas após a implantação do experimento, enquanto que na ausência deste regulador de crescimento, bem como nos diferentes níveis de kinetina, logo após a implantação do experimento. Desta forma, no presente trabalho, a kinetina como fonte de citocinina demonstrou menor eficiência na indução de proliferação de brotos assim como na inibição da diferenciação de raízes em explantes de gérbera, variedade Ornela.

Blakesley et al., (1991) trabalhando com gérbera, verificaram que a maior parte do BAP adicionado ao meio de cultura acumulou-se nas culturas nos primeiros 20 dias, mostrando que, caso as células em estudo apresentem competência para diferenciação, este período é suficiente para induzir determinados eventos fisiológicos. No entanto, logo após a indução e posterior desenvolvimento da parte aérea, estas passam a ser novos sítios de síntese de auxina (Davies, 1995), podendo alterar o nível endógeno e, em seguida, disparar uma série de eventos fisiológicos dependentes de balanços favoráveis à auxina, incluindo a diferenciação de raízes.

Em relação à diferenciação de raízes, Grattapaglia & Machado (1998) citam que entre as diversas variáveis

que interferem no enraizamento, o tipo e a concentração das auxinas são as que, em geral, mais influenciam nesta resposta.

O fato de não se observar diferença significativa para a diferenciação de raízes nos níveis de AIB e na interação destes com os de BAP e kinetina, pode estar relacionado à hipótese de que esta espécie apresenta elevado nível endógeno de auxina e facilidade de enraizamento, uma vez que este evento ocorreu mesmo na ausência de auxina exógena. Sriskandarajah et al. (1982), com experimentos *in vitro*, verificaram que gemas de maçã (*Malus pumila*), após várias repicagem em meio suplementado com benziladenina aumentaram a capacidade de enraizamento. Considerando que os explantes de gérbera var. 'Ornela' utilizados nesse experimento terem sido repicados várias vezes, na maioria das vezes para meio com citocinina, durante a fase de multiplicação, este mesmo evento pode ter ocorrido.

Em algumas espécies a formação de raízes ocorre espontaneamente. A ocorrência deste fato, provavelmente deve estar associada à presença de primórdios radiculares já existentes nos explantes e que quando mantidos em condições favoráveis, somente ocorre o desenvolvimento destes (Van Staden & Harty, 1988)

Em relação ao comprimento médio das brotações, somente no experimento com BAP como fonte de citocinina, foram observadas diferenças significativas entre as concentrações utilizadas. Com o incremento do nível de BAP, também aumentou a tendência de redução na altura das brotações, sendo que as maiores brotações foram observados na ausência de BAP (Figura 3). No experimento com kinetina não foram verificadas diferenças significativas no comprimento médio das brotações (altura das plântulas), apresentando comprimento médio maior que o observado nos níveis de BAP (Figura 3).

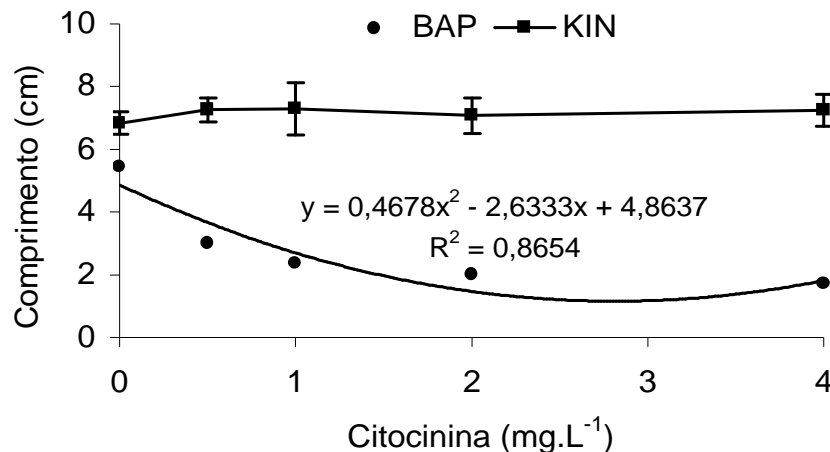


Figura 3 - Efeito do tipo e do nível de citocinina no comprimento dos brotos de gérbera var. 'Ornela', independente do nível de AIB, oito semanas após a implantação do experimento (barra na vertical das médias com KIN mostra o desvio padrão).

As citocininas inibem a dominância apical (Davies, 1995), reduzindo o comprimento das plântulas. Em trabalhos com cultura de tecidos vegetais, as auxinas, em alguns casos, podem ser utilizadas para estimular o crescimento da parte aérea (Eapen *et al.*, 1998). No entanto, na presença dos maiores níveis de BAP, os níveis de AIB utilizados não induziram tal característica. Isso possivelmente ocorreu devido aos níveis exógenos de auxina utilizados não terem sido suficientes para alterar os níveis endógenos, ou a presença de BAP inibiu o efeito da auxina. O alongamento de brotos de gerbera *in vitro* pode ser estimulado ou inibido com o uso de giberelinas, dependendo da forma utilizada (Topoonyanont *et al.*, 1999).

Apesar de não verificar diferença estatística significativa entre os níveis de AIB, e não ter sido realizada nenhuma avaliação em relação a qualidade das plântulas, as combinações de 0,0 e 0,5 mg.L⁻¹ de BAP com 0,5 mg.L⁻¹ de AIB apresentaram melhores características para a multiplicação da variedade Ornela (Figura 1).

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ARINAITWE, G.; RUBAIHAYO, P. R.; MAGAMBO, M. J. S. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa spp.*) cultivars. *Scientia Horticulturae*. v. 86, p. 13-21, 2000.
- BARBOSA, M.H.P.; PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P.; ARELLÓ, E. F. BARROS, I. Efeitos da benzilaminopurina e ácido indole-3-acético sobre a propagação *in vitro* de *Gerbera jamesonii* bolus ex. Hook cv. Appelbloesem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 28, n. 1, p. 15-19, 1993.
- BLAKESLEY, D.; LENTON, J. R.; HORGAN, R. Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in shoot cultures of *Gerbera jamesonii*. *Physiologia Plantarum*. v. 81, p. 343-348, 1991.
- BRAULT, M. & MALDINEY, R. Mechanisms of cytokinin action. *Plant Physiol. Biochem.* v. 37, n. 5, p. 403-412, 1999.
- DAVIES, P. J. The plant hormones concept: concentration, sensitivity and transport. In: DAVIES, P. J. (Ed.) *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht, Kluwer Acad. Publ., 1995. p. 13 - 38.
- EAPEN, S.; TIVAREKAR, S. & GEORGE, L. Thidiazuron-induced shoot regeneration in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* v.53, p.217-220, 1998.
- GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS. L. S. & BUSO, J. A. (Org.). *Cultura de Tecidos e Transformação de Genética de Plantas*. 1. Ed. Brasília: SPI.v.1. p.183-260, 1998.
- LALIBERTÉ, S.; CHRÉTIEN, L.; VIETH, J. *In vitro* plantlet production from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. *HortiScience*, v. 20, n. 1, p. 137-139, 1985.
- LORENZI, H. & SOUZA, H.M.S. *Plantas Ornamentais no Brasil*. 2. Ed. Nova Odessa, S.P.: Instituto Plantarum. 1999, 1120p.
- MATHUR, N.; RAMAWAT, K.G. & NANDWANI, D. Rapid *in vitro* multiplication of jujube through mature stem explants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* v. 43, p. 75 – 77, 1995.
- MURASHIGE, T.; SERPA, M.; JONES, J. B. Clonal multiplication of *Gerbera* through tissue culture. *HortiScience*, v. 9, n. 3, p. 175-180, 1974.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OHKI, S. & SAWAKI, S. The effects of inorganic salts and growth regulators on *in vitro* shoot proliferation and leaf chlorophyll content of *Delphinium cardinale*. *Scientia Horticulturae*. v. 81, p. 149-158, 1999.
- PERES, L. E. P. Bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento*. n. 25, p. 44-48, 2002.
- PIERIK, R. L. M.; STEEGMANS, H. H. M.; VERHAEGH, J. A. M. ; WOUTERS, A. N. Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of *Gerbera jamesonii* *in vitro*. *Neth. J. Agri. Sci.* v. 30, p. 341-346, 1982.
- REIS, C. V. *Estudos sobre Regeneração in vitro de Catharanthus roseus, sob diferentes balanços de reguladores de crescimento*. 2001. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). UFRRJ, Seropédica-RJ. 68 p.
- SKOOG, F. & MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-231, 1957.
- SOUZA, A. V. *Propagação in vitro e aspectos anatômicos de (Lychnophora pinaster)*. 2003. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). UFLA, Lavras - MG. p. 56-111.

- SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M. G.; NAIR, Y. Induction of adventitious rooting *in vitro* in difficult-to-propagate cultivars of apple. *Plant Science*. v. 24, p. 1-9, 1982.
- SUDHA, C. G.; KRISHWAN, P. N. & PUSHPANGADAN, P. *In vitro* propagation of *Holoestenia annulare* (Roxb.) K. Schum, a rare medicinal plant. *In vitro Cell, Dev. Biol.*, v.33, p. 57-63, 1998.
- TOPOONYANONT, N. & DEBERGH, P. C. Reducing bushiness in micropropagated Gerbera. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. v. 67, p. 133-144, 2001.
- TOPOONYANONT, N.; AMPAWAN, R.; DEBERGH, P. C. Bushiness in *Gerbera jamesonii*: Abnormal shoot development during micropropagation. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. v. 74, n. 6, p. 675-679, 1999.
- VAN STADEN, J. & HARTY, A. R. Cytokinins and adventitious root formation. IN. DAVIS, T. D., HAISSIG, B. E., SANKHLA, N. *Adventitious root formation in cuttings*. ed. Advances in Plant Sciences Series. v. 2. Dioscorides Press. Portland. Oregon. 1988, p. 185-201.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.