

Luminosidade e interação de reguladores de crescimento na micropropagação de gerânio (*Pelargonium graveolens* L)*

Oliveira, Ana Catarina Lima de¹; Arrigoni-Blank, Maria de Fatima²; Fonseca, Valéria O.¹; Blank, Arie Fitzgerald¹

¹UFS - Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos - DEA, Av. Marechal Rondon s/n, 49100-000 São Cristóvão-SE; ²UFS - Campus Prof. Alberto Carvalho - Núcleo de Ciências Biológicas - 49500-000 Itabaiana-SE. E-mail: arrigoni@ufs.br.

INTRODUÇÃO

Conhecida como gerânio ou malva-cheirosa é uma planta utilizada tanto como ornamental quanto para produção de óleos essenciais. Seu aroma quente e doce, semelhante ao de pétalas de rosa é comercialmente conhecido como óleo de gerânio e amplamente usado em sabonetes e nas indústrias de perfumaria e cosmético (Satyakala et al., 1995), na aromaterapia atuando no sistema nervoso como tônico ou sedativo e na medicina popular como expectorante, calmante, emoliente e infecções de garganta e brônquios (Martins et al., 1998).

Diferentes espécies e cultivares possuem características genéticas próprias que as fazem responderem diferentemente ao cultivo *in vitro*. As diferenças na capacidade de regeneração e multiplicação podem ser explicadas pelo tipo de explante utilizado (Pereira e fortes, 2001). São comuns os efeitos da posição e idade dos explantes sobre a regeneração e multiplicação. A homogeneidade dos explantes é de fundamental importância na precisão da estimativa de multiplicação.

Grande parte dos trabalhos de regeneração de plantas do gênero *Pelargonium* foram realizadas a partir de explantes jovens, tais como hipocótilos (Senaratha et al., 1999) ou hipocótilo e cotilédones (Murth et al., 1996), via embriogênese somática. Poucas informações estão disponíveis sobre organogênese e regeneração de plantas usando explantes maduros (Hassanein e Dorion, 2005). Trabalhando com *Pelargonium x hortorum*, Agarwal e Ranu (2000) encontraram uma alta habilidade de regeneração de pecíolo foliar, enquanto que Hassanein e Dorion (2005), obtiveram 100% de regeneração direta em *P. capitatum* e *P. graveolens* utilizando segmento foliar e meio MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA) em combinação com 1 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP) e zeatina na ausência de luz.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de reguladores de crescimento e luminosidade na micropropagação de gerânio (*P. graveolens*).

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizado no município de São Cristóvão-SE, Brasil.

O meio de cultura utilizado foi meio básico MS, modificados para 50% dos sais e acrescidos de 30 g.L⁻¹ de sacarose e 7 g.L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 ± 1, solidificado com ágar e submetido a autoclavagem por 15 minutos a uma temperatura de 121 ± 1 °C e pressão de 1,05 atm. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 25°C ± 2, fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de 60 µmol.m⁻².s⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4x3x2, sendo quatro concentrações (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L⁻¹) de 6-benzilaminopurina

* Apoio: CNPq e Raros

(BAP) e três concentrações (0; 0,1 e 0,5 mg.L⁻¹) de ácido naftaleno acético (ANA) e duas condições de luminosidade (presença e ausência), com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída de quatro tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura. Como fonte de explantes foram utilizados segmentos foliares provenientes de plantas estabelecidas *in vitro*.

Aos 40 dias após a implantação do ensaio, foram avaliadas as variáveis, regeneração (%), número de folhas e número de brotos. Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância pelo teste F e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05) e regressões polinomiais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A regeneração de plantas de gerânio a partir de segmentos foliares apresentou diferenças significativas entre os reguladores de crescimento e condições de luminosidade (Tabela 1). Na presença de luz, a maior porcentagem de regeneração é representada por uma equação quadrática, sendo o ponto máximo 1,3 mg.L⁻¹ de BAP + 0,5 mg.L⁻¹ de ANA, o que promoveu a maior regeneração. Já a ausência de luz, proporcionou maior porcentagem de regeneração de plantas, sendo representada também por uma equação quadrática, obtendo-se o maior valor (acima de 90% quando utilizado 1,2 mg.L⁻¹ de BAP + 0,1 mg.L⁻¹ de ANA (Tabela 1), sendo portanto a condição de escuro a mais indicada para regeneração de plantas de gerânio a partir de segmentos foliares. Resultados semelhantes foram obtidos na regeneração de plantas de *Pelargonium x hortorum* (95%) e *P. capitatum* (100%) (Hassanein e Dorion, 2005).

TABELA 1. Regeneração (%) *in vitro* de gerânio (*P. graveolens*) em função da interação de BAP x ANA x luminosidade. São Cristóvão, UFS, 2006.

BAP (mg.L ⁻¹)	ANA (mg.L ⁻¹)		
	0,0	0,1	0,5
Luz			
0,0	0,0 aA	0,0 aB	0,00 aB
0,5	0,0 bB	0,0 bB	41,67 aB
1,0	0,0 aB	0,0 aB	50,00 aB
2,0	25,0 aA	25,0 aB	41,67 aB
Equação (Y) =	$3,863 + 22,803 X - 2,272 X^2$ R ² = 79,79	$0,681 - 10,6818 X + 11,3636 X^2$ R ² = 98,79*	$2,045 + 84,6212 X - 32,5757 X^2$ R ² = 94,54**
Escuro			
0,0	0,0 bA	41,67 aA	58,33 aA
0,5	25,0 bA	58,33 abA	83,33 aA
1,0	16,7 bA	91,67 aA	83,33 aA
2,0	41,7 aA	66,67 aA	75,00 aA
Equação (Y) =	$5,00 + 18,0952 X$ R ² = 79,34**	$37,803 + 77,1970 X - 31,0606 X^2$ R ² = 79,57**	$60,151 + 46,515 X - 19,6970 X^2$ R ² = 91,74*
CV (%)	32,76		

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas entre luminosidades, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey (p≤0,05)

Em relação ao número de brotos por explante, houve diferenças significativas entre os reguladores de crescimento e luminosidade. A condição de escuro favoreceu o maior número de brotos, sendo todos os tratamentos representados por equações quadráticas, exceto quando foi utilizado 0,1 mg.L⁻¹ de ANA e BAP (1,0 - 2,0 mg.L⁻¹), na presença de luz, onde apesar de apresentar regeneração de 25% (Tabela 1), não foi possível a contagem do número de brotos

em virtude do tamanho dos mesmos (menores de 2 mm) (Tabela 2). Já a utilização de 0,5 mg.L⁻¹ de ANA + 1,0 mg.L⁻¹ de BAP, não apresentou diferenças significativas entre as duas condições de luminosidade, proporcionando uma média de 13 brotos por explante, enquanto que na ausência de luz, o maior número de brotos por explante foi obtido usando cerca 1,2 mg.L⁻¹ de BAP + 0,1 mg.L⁻¹ de ANA. Esses resultados superam os obtidos por Hassanein e Dorion (2005) de 7,3 brotos por explante, utilizando 0,2 mg.L⁻¹ de ANA + 1,0 mg.L⁻¹ de BAP e zeatina.

Em relação ao número de folhas, os maiores valores foram obtidos na presença de 1,0 mg.L⁻¹ de BAP + 0,5 mg.L⁻¹ de ANA e luz (Tabela 3). Na ausência de luz, não foi possível a contagem do número de folhas uma vez que as brotações estavam pequenas, dificultando a contagem.

TABELA 2. Número de brotos *in vitro* de gerânio (*P. graveolens*) em função da interação de BAP x ANA x luminosidade. São Cristóvão, UFS, 2006.

BAP (mg.L ⁻¹)	ANA (mg.L ⁻¹)		
	0,0	0,1	0,5
	Luz		
0,0	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
0,5	0,00 aA	0,00 aB	4,91 aB
1,0	0,00 bA	0,00 bB	14,16 aA
2,0	3,50 aB	0,00 bB*	3,16 abA
Equação (Y) =	0,095+1,495x+1,590x ² R ² = 98,79	ns	-1,159 + 23,659X - 10,651x ² R ² = 85,22
	Escuro		
0,0	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
0,5	5,00 bB	16,83 aA	13,22 aA
1,0	0,67 bA	18,33 aA	12,13 aA
2,0	11,50 abA	12,61 aA	5,00 bA
Equação (Y) =	1,295 -0,962X + 2,924X ² R ² = 75,59	1,016 + 33,072x - 13,722X ² R ² = 93,92	1,035 + 24,534x - 11,362X ² R ² = 88,77
CV (%)	34,38		

†Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas entre luminosidades, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey (p≤0,05).

*Início da regeneração, não possibilitando contagem de brotos.

TABELA 3. Número de folhas *in vitro* de gerânio (*P. graveolens*) em função da interação de BAP x ANA x luminosidade. São Cristóvão, UFS, 2006.

BAP (mg.L ⁻¹)	ANA (mg.L ⁻¹)		
	0,0	0,1	0,5
	Luz		
0,0	0,00 a	0,00 a	0,00 a
0,5	0,00 b	0,00 b	22,00 a
1,0	0,00 b	0,00 b	47,17 a
2,0	12,50 a	3,38 b	13,75 a
Equação (Y) =	0,341-5,341x+5,681x ² R ² = 98,79	0,092-1,443x+1,535x ² R ² = 98,79	-2,543+80,676x-36,053x ² R ² = 93,29
CV (%)	18,02		

†Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey (p≤0,05)

CONCLUSÃO

A utilização de 1,3 mg.L⁻¹ de BAP + 0,5 mg.L⁻¹ de ANA e segmentos foliares, são eficientes na regeneração direta de plantas de gerânio, sendo a condição de escuro a mais indicada. Essa mesma condição promoveu o maior número de brotos por explante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, P.K.; RANU, R.S. Regeneration of plantlets from leaf and petiole explants of *Pelargonium x hortorum*. **In vitro Cell Development Biology - Plant**, v.36, p.392-397, 2000.

HASSANEIN, A.; DORION, N. Efficient plant regeneration system from leaf discs of zonal (*Pelargonium x hortorum*) and two scented (*P. capitatum* and *P. graveolens*) geraniums. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.83, p.231-240, 2005.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 1998.220p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

MURTH, B.N.S.; SINGH, R.P.; SAXENA, P.K. Induction of high-frequency somatic embryogenesis in geranium (*pelargonium x hortorum* Bailey cv Ringo Rose) cotyledonary cultures. **Plant Cell Report**, v.15, p.423-426, 1996.

PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo em meio de cultura de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.417-410, 2001.

SATYAKALA, G.; RAO, M.M; SITA, G.L. *In vitro* micropropagation of scented geranium (*Pelargonium graveolens* L. Her. ex Ait: syn *P. roseum* Willd). **Current Science**, v. 68, n.7, p.762-765, 1995.

SENARATHA, T.; DIXON, K.; BUNN, E.; TOUCHELL, D. Smoke-saturated water promotes somatic embryogenesis in geranium. **Plant Growth Regulator**, v.28, p.95-99, 1999.

PALAVRAS-CHAVES

Pelargonium graveolens (L.); micropropagação; reguladores.