

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

PROPAGAÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA EM PLANTAS NATIVAS COM
POTENCIAL ORNAMENTAL

Bolsista: Lorena de Paula Cabral, CNPq

MANAUS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

PIB-B/0072/2012
PROPAGAÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA EM PLANTAS COM POTENCIAL
ORNAMENTAL

Bolsista: Lorena de Paula Cabral, CNPq
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eva Maria Alves Cavalcanti Atroch.

MANAUS

2013

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciência da Informação e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciência da Informação e se caracteriza como sub projeto do projeto de pesquisa Bibliotecas Digitais.

Lista de Ilustrações

Figura 1. <i>Xiphidium caeruleum</i>	08
Quadro 1. Tratamentos para assepsia de sementes de <i>Xiphidium caeruleum</i>	08
Figura 2. <i>Psychotria rosea</i>	09
Figura 3. <i>Chrysothemis pulchella</i>	09
Quadro 2: Tratamentos para enraizamento de miniestacas de <i>Chrysothemis pulchella</i>	10
Quadro 3: Tratamentos para enraizamento de estacas foliares de <i>Chrysothemis pulchella</i>	10
Quadro 4: Análise da variância do efeito de cinco tratamentos de assepsia sobre a ocorrência de contaminação por fungos e bactérias em sementes de <i>Xiphidium caeruleum</i> . Sendo os tratamentos: T1, Hipoclorito de Sódio 2% (10 min); T2: Hipoclorito de Sódio 2% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T3: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min); T4: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T5: Somente lavagem em água destilada.....	11
Quadro 5: Média dos efeitos de cinco tratamentos de assepsia, sobre a ocorrência de contaminação por fungos, em sementes de <i>Xiphidium caeruleum</i> . Sendo os tratamentos, Sendo os tratamentos: T1, Hipoclorito de Sódio 2% (10 min); T2: Hipoclorito de Sódio 2% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T3: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min); T4: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T5: Somente lavagem em água destilada.....	12
Quadro 6: Análise da variância do efeito do tipo de estaca (região mediana do ramo e ápice), sobre o crescimento relativo em altura e peso de matéria seca de parte aérea e raiz, em miniestacas de <i>Psychotria rosea</i> . Sendo os tratamentos: T1 estacas do meio e T2 estacas do ápice.....	12
Quadro 7: Médias do efeito do tipo de estaca (região mediana do ramo e ápice), sobre o crescimento relativo em altura e peso de matéria seca de parte aérea e raiz, em miniestacas de <i>Psychotria rosea</i> . Sendo os tratamentos: T1 estacas do meio e T2 estacas do ápice.....	13
Quadro 8: Porcentagem de sobrevivência, enraizamento e brotações em miniestacas de <i>Chrysothemis pulchella</i> avaliadas no período de 30 dias submetidas aos seguintes tratamentos com reguladores de crescimento (n=5): T1(ANA 0,3 mg/L), T2 (AIB 0,3 mg/L), T3 (BAP (1mg/L) + ANA (1mg/L) , T4 (BAP (1mg/L) + AIB (1mg/L) e T5 controle (0,0 regulador).....	13
Quadro 9: Porcentagem de sobrevivência, enraizamento e brotações em estacas foliares de <i>Chrysothemis pulchella</i> avaliadas no período de 30 dias submetidas aos seguintes tratamentos com reguladores de crescimento (n=5): T1 (BAP (1mg/L) + ANA (1mg/L) , T2 (BAP (1mg/L) + AIB (1mg/L) e T3 controle (0,0 regulador).....	14

SUMÁRIO

1. Introdução.....	05
2. Material e Métodos.....	08
2.1. Assepsia em sementes de <i>Xiphidium caeruleum</i> para estabelecer protocolo de micropropagação.....	08
2.2. Propagação de <i>Psychotria rosea</i> via miniestacas.....	09
2.3. Propagação de <i>Chrysothemis pulchella</i> via miniestacas.....	09
2.4. Propagação de <i>Chrysothemis pulchella</i> via estacas foliares.....	10
2.5. Delineamento experimental e análises estatísticas.....	11
3. Resultados.....	11
3.1. Assepsia em sementes de <i>Xiphidium caeruleum</i> para estabelecer protocolo de micropropagação.....	11
3.2. Propagação de <i>Psychotria rosea</i> via miniestacas.....	12
3.3. Propagação de <i>Chrysothemis pulchella</i> via miniestacas.....	13
3.4. Propagação de <i>Chrysothemis pulchella</i> via estacas foliares.....	14
4. Discussão.....	14
4.1. Assepsia em sementes de <i>Xiphidium caeruleum</i> para estabelecer protocolo de micropropagação.....	14
4.2. Propagação de <i>Psychotria rosea</i> via miniestacas.....	15
4.3. Propagação de <i>Chrysothemis pulchella</i> via miniestacas.....	16
4.4. Propagação de <i>Chrysothemis pulchella</i> via estacas foliares.....	16
5. Conclusão.....	16
6. Referências.....	17

1. Introdução

A diversidade de espécies amazônicas é fonte de plantas para diferentes aplicações econômicas no mercado de madeira, essências, medicamentos, alimentos, entre outras. Com menor relevância, também algumas espécies ornamentais, como orquídeas, helicones e bromélias. Entretanto é evidente o potencial ornamental que muitas espécies apresentam e que, de forma sustentável, podem enriquecer o mercado de plantas tropicais. Esta condição pode ser observada nas três espécies que são objeto deste trabalho, *Xiphidium caeruleum* Aubl. (Haemodoraceae), *Psychotria rosea* (Benth.) Müll. Arg. (Rubiaceae) e *Chrysothemis pulchella* (Donn) Decne. (Gesneriaceae).

Haemodoraceae é uma família de ervas tropicais, consistindo de 14 gêneros e cerca de 80 espécies. Autores mais recentes reconhecem duas tribos dentro da família: Haemodoreae e Conostylideae. A tribo Conostylideae consiste de seis gêneros endêmica para o oeste da Austrália: *Anigozanthos*, *Blancoa*, *Conostylis*, *Macropidia*, *Phlebocarya*, e *Tribonanthes*. A segunda tribo, Haemodoreae, é composta de três gêneros africanos (*Barberetta*, *Dilatris*, e *Wachendorfia*), um australiano e da Nova Guiné, *Haemodorum*, e quatro americanos (*Lachnanthes*, *Pyrrothiza*, *Schiekia*, e *Xiphidium*) (Costa, 2008). *Xiphidium caeruleum* é uma erva perene que em seu ambiente natural propaga-se vegetativamente por meio de estolões, e por sementes. A planta tem aspecto ornamental tanto em sua fase vegetativa como reprodutiva, sendo muito adequada para ocupar espaços sombreados onde forma uma linda forração. Embora não tenha sido encontrado registro de cultivo, há indicação de comercialização de algumas mudas em feiras livres de Manaus (comunicação pessoal do prof. Valdeli Knup, IFAM/Manaus).

A família Rubiaceae conta com cerca de 10.700 espécies, distribuídas em 637 gêneros e 44 tribos, é uma das maiores famílias de dicotiledôneas. Ocorre em todo o mundo, predominantemente nas regiões tropicais. Os hábitos são bem variados, podendo ser ervas, arbustos, arvoretas e árvores de grande porte, inclusive lianas e epífitas. Algumas espécies de Rubiaceae têm importância econômica, como o café, *Coffea arabica*, e, nas regiões neotropicais, o jenipapo (*Genipa americana*). *Cinchona officinale* é uma espécie de importância medicinal, da qual é extraído o quinino. Existem espécies de *Palicourea* e *Psychotria* tóxicas para o gado. Diversos gêneros, entre eles *Gardenia*, *Ixora* e *Mussaenda*, possuem espécies utilizadas como plantas ornamentais (Ribeiro *et al*, 1999). As espécies do gênero *Psychotria* ocorrem geralmente em formações de sub-bosque de florestas no Brasil

(SOUZA e LORENZI, 2008) e são referenciadas como fontes importantes de alimento para animais polinizadores e dispersores (ALMEIDA e ALVES, 2000).

A beleza de *Psychotria rosea* e sua ocorrência em áreas de sub-bosque próximas a Manaus, incentivou nosso interesse em conhecer as formas de propagação da planta, no sentido de produção de mudas e estudos de tolerância a estresses abióticos. Os ensaios de propagação nessa espécie indicaram uma excelente capacidade de propagação, seja por via seminal ou vegetativa. Estas características colocaram *P. rosea* no centro dos esforços para estabelecer uma coleção de plantas matrizes, para produção de mudas.

Gesneriaceae é uma família pantropical com cerca de 125 gêneros e mais ou menos 2000 espécies, principalmente ervas, arbustos, (hemi)epífitas sublenhosas ou terrestres, algumas vezes lianas herbáceas. As espécies desta família são principalmente utilizadas como plantas ornamentais e cultivadas em vasos, existindo ainda registros de uso na medicina popular (Ribeiro *et al*, 1999). O gênero *Chrysothemis* é nativo dos trópicos americanos. As plantas são verticais com 18 cm de altura, com folhas grandes, largas, verdes ou escuro-avermelhadas, com flores em cachos axilares. Embora as flores sejam pequenas e de curta duração, os cálices são muitas vezes coloridos e ornamentais. Eles persistem por várias semanas, prolongando o aspecto ornamental depois que as flores morrem. *Chrysothemis pulchella* tem folhas brilhantes, verdes ou avermelhadas, com cálices laranja e amarelo ou vermelho. (The Gesneriad Society, 2007).

Embora a beleza das espécies nativas seja um fato reconhecido, o emprego dessas espécies para uso ornamental demanda informações que garantam a proteção das populações naturais. Assim é importante o domínio das formas de propagação que, além de garantir a produção de mudas, se caracteriza como passo inicial para a domesticação dessas plantas.

A propagação pode ser obtida de forma sexuada, via sementes, bem como assexuada a partir de estruturas vegetativas da planta. Entretanto, a melhor maneira de alcançar a produção em larga escala depende das características da espécie, como por exemplo, a produção e viabilidade das sementes ou o sucesso no “pegamento” de estacas. Outra maneira refere-se à aplicação da biotecnologia vegetal, via micropropagação. Este método tem como principal vantagem a propagação em escala, contudo o gargalo inicial imposto pelas dificuldades de assepsia em muitas espécies, tem limitado o estabelecimento dos protocolos de micropropagação especialmente em plantas nativas.

A multiplicação vegetativa de plantas via estaquia (macropropagação), se constitui em uma prática frequentemente utilizada na propagação assexuada. O sucesso do estabelecimento destes propágulos depende de vários fatores sendo alguns deles relacionados às propriedades biológicas, como a capacidade de resposta dos tecidos alvo a reguladores de crescimento

(Pasqual *et al.*, 2001; TONIETTO *et al.*, 2001; ANDRADE *et al.*, 2003), às características do segmento escolhido tais como, tamanho (MAYER *et al.*, 2002), presença de folhas (MAGINGO *et al.*, 1998); maturidade, posição no ramo e grau de lignificação (HARTMANN *et al.* 1997).

A proposta geral deste trabalho foi organizada com o propósito de avaliar as diferentes formas de propagação, com dois principais enfoques: a) conhecer as características da reprodução sexuada da espécie, no que se refere ao potencial germinativo e as possibilidades de armazenamento das sementes; e b) conhecer as características da propagação vegetativa, por meio de estacas caulinares em viveiro, e a micropropagação *in vitro*. Estas linhas de investigação estão sendo aplicadas a todas as espécies elencadas em um levantamento preliminar de plantas nativas com potencial ornamental no fragmento de mata da Universidade Federal do Amazonas e áreas de outras instituições federais, de acordo com a disponibilidade de material propagativo. Assim, apresentamos agora os resultados obtidos para micropropagação da planta palma-da-fortuna (*Xiphidium caeruleum* – Haemodoraceae), da propagação via miniestacas de *Psychotria rosea* (Rubiaceae) e da propagação por miniestaquia caular e estacas foliares de *Chrysothemis pulchella* (Gesneriaceae).

2. Material e Métodos

2.1. Assepsia em sementes de *Xiphidium caeruleum* para estabelecer protocolo de micropropagação.



Fig. 1. *Xiphidium caeruleum*
Fonte: saintlucianplants.com

Sementes de *Xiphidium caeruleum* provenientes de coletas feitas no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – IFAM, campus Manaus Zona leste, com aproximadamente 90 dias de coleta, foram submetidas aos seguintes tratamentos de assepsia, com três repetições cada:

Quadro 1: Tratamentos para assepsia de sementes de *Xiphidium caeruleum*.

Tratamentos	Constituição
T1	Hipoclorito de Sódio 2% (10 min)
T2	Hipoclorito de Sódio 2% (10 min) + Álcool 70% (1 min)
T3	Hipoclorito de Sódio 1% (10 min)
T4	Hipoclorito de Sódio 1% (10 min) + Álcool 70% (1 min)
T5	Somente lavagem em água destilada

Após cada imersão, as sementes foram lavadas por três vezes com água destilada autoclavada, e então inoculadas em placas de petri contendo 20 mL de meio de cultura de MS (1962). Cada placa continha 20 sementes, compondo uma repetição. Após a inoculação, as placas foram colocadas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, e temperatura de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$. O experimento foi avaliado após sete dias de inoculação, observando-se a ocorrência de contaminação por fungos e bactérias.

2.2. Propagação de *Psychotria rosea* via miniestacas.



Fig. 2. *Psychotria rosea*
Foto: L. Cabral

As miniestacas foram obtidas por meio da decepta da parte aérea de mudas com até 6 pares de folhas, estabelecidas em viveiro, deixando-se as minicepas com aproximadamente 04 cm de altura. Do material coletado foram elaboradas miniestacas da região apical e mediana, com 01 par de folhas, que se constituíram nos 02 tratamentos avaliados, contendo 10 repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por uma miniestaca. Na sequência, foram plantadas em tubetes contendo areia adubada com solução dos sais do meio de MS (1962). Ao final de 30 dias os dois tratamentos foram comparados quanto à capacidade de enraizamento e ganho de biomassa, por meio das medidas de número de folhas e massa seca de parte aérea e raiz.

2.3. Propagação de *Chrysothemis pulchella* de miniestacas.



Fig. 3. *Chrysothemis pulchella*
Foto: L. Cabral

Plantas adultas estabelecidas em vaso e acondicionadas em viveiro foram utilizadas como fonte de material vegetal para confecção de miniestacas de tamanho médio de 08 cm, contendo um par de folhas cortadas ao meio. Estas tiveram suas bases imersas por dois

minutos em tratamentos constituídos dos seguintes reguladores de crescimento: ácido aftalenoacético (ANA), ácido indolbutírico (AIB) e 6-benzilamino purina (BAP). Os tratamentos estão listados na tabela abaixo com suas respectivas concentrações utilizadas.

Quadro 2: Tratamentos para enraizamento de miniestacas de *Chrysothemis pulchella*.

Tratamentos	Constituição
T1	ANA 0,3 mg/L
T2	AIB 0,3 mg/L
T3	BAP (1mg/L) + ANA (1mg/L)
T4	BAP (1mg/L) + AIB (1mg/L)
T5	0,0 mg/L de regulador (controle)

Cada tratamento foi composto por 05 repetições, sendo cada repetição constituída por uma miniestaca. Em seguida, as miniestacas foram plantadas em tubetes contendo uma mistura de substrato comercial Vivatto® e vermiculita (1:1), em casa de vegetação. O experimento foi acompanhado semanalmente por 30 dias, e durante este período foram observadas a ocorrência de brotações, turgescência das folhas, sobrevivência e emissão de raízes.

2.4. Propagação de *Chrysothemis pulchella* via estacas foliares

As folhas foram obtidas do segundo e terceiro nó do ramo, das mesmas plantas matrizes que foram fontes das miniestacas. Suas bases foram tratadas com as seguintes concentrações de reguladores de crescimento, durante 02 minutos:

Quadro 3: Tratamentos para enraizamento de estacas foliares de *Chrysothemis pulchella*.

Tratamentos	Constituição
T1	BAP (1mg/L) + ANA (1mg/L)
T2	BAP (1mg/L) + AIB (1mg/L)
T3	0,0 mg/L de regulador (controle)

Cada tratamento foi constituído por 05 repetições de uma folha. Depois as mesmas foram plantadas em tubetes contendo (1:1) de substrato comercial Vivatto® e vermiculita, e

acondicionadas em casa de vegetação. O experimento foi acompanhado pelo período de 30 dias, sendo observado diariamente a turgescência e sobrevivência das folhas, e ao final enraizamento e ocorrência de brotações.

2.5. Delineamento experimental e análises estatísticas.

Os ensaios foram organizados em delineamento inteiramente casualizado, e os dados submetidos à Análise de variância (ANAVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey com $p < 0,05$ utilizando-se o programa computacional SISVAR.

3. Resultados

3.1. Assepsia em sementes de *Xiphidium caeruleum* para estabelecer protocolo de micropropagação.

A análise de variância demonstrou que houve efeitos diferenciados dos tratamentos sobre o controle da contaminação, e que a média de incidência de fungos é maior em relação à de bactérias ($p \leq 0,001$) (Quadro 4).

Quadro 4: Análise da variância do efeito de cinco tratamentos de assepsia sobre a ocorrência de contaminação por fungos e bactérias em sementes de *Xiphidium caeruleum*. Sendo os tratamentos ($n=20$): T1, Hipoclorito de Sódio 2% (10 min); T2: Hipoclorito de Sódio 2% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T3: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min); T4: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T5: Somente lavagem em água destilada.

F.V	GL	QUADRADOS MÉDIOS	
		FUNGO	BACTÉRIA
Tratamentos	4	101,26**	7,10 **
Erro	10	2,06	0,73
Média Geral		6,13	1,53
CV (%)		23,44	55,85

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

A comparação das médias apresentada no Quadro 4 ($p \leq 0,005$), informa que os tratamentos 2 e 4 foram os mais eficientes na assepsia das sementes. Ademais, apresentaram os mesmos valores, entre os tratamentos, em cada variável (Quadro 5). Os tratamentos 2 e 4 têm em comum a combinação de duas substâncias desinfestantes (hipoclorito de sódio e álcool), sendo que no tratamento 2 a concentração do hipoclorito foi dobrada, em relação ao tratamento 4. Observou-se também que, quando o hipoclorito foi aplicado isoladamente nos tratamentos 1 e 3, a eficiência foi semelhante entre as duas concentrações testadas. É

interessante ressaltar que, em relação ao controle (T5), os melhores tratamentos (2 e 4) alcançaram um excelente desempenho de assepsia, especialmente na inibição do crescimento de fungos. Por outro lado, o tratamento T3, que continha uma concentração menor de Hipoclorito de Sódio (1%) não foi superior ao tratamento 5, na eliminação de bactérias (Quadro 5).

Quadro 5: Média dos efeitos de cinco tratamentos de assepsia, sobre a ocorrência de contaminação por fungos, em sementes de *Xiphidium caeruleum*. Sendo os tratamentos, Sendo os tratamentos (n=20): T1, Hipoclorito de Sódio 2% (10 min); T2: Hipoclorito de Sódio 2% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T3: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min); T4: Hipoclorito de Sódio 1% (10 min) + Álcool 70% (1 min); T5: Somente lavagem em água destilada.

TRATAMENTOS	FUNGO	BACTÉRIA
T1	5,66 b	0,66 ab
T2	1,00 a	0,33 a
T3	8,00 b	2,66 bc
T4	1,00 a	0,33 a
T5	15,00 c	3,66 c

¹Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2. Propagação de *Psychotria rosea* via miniestacas.

A ANAVA indicou que a posição de onde as miniestacas foram retiradas, na planta matriz, causou efeitos diferenciados para ganho em altura, peso de matéria seca da parte aérea e da raiz ($p \leq 0,001$) Quadro 6.

Quadro 6: Análise da variância do efeito do tipo de estaca (região mediana do ramo e ápice), sobre o crescimento relativo em altura e peso de matéria seca de parte aérea e raiz, em miniestacas de *Psychotria rosea*. Sendo os tratamentos (n=10): T1 estacas do meio e T2 estacas do ápice.

F.V	GL	QUADRADOS MÉDIOS		
		CRESCIMENTO RELATIVO EM ALTURA	MATÉRIA SECA (PARTE AÉREA)	MATÉRIA SECA (RAIZ)
Tratamentos	1	3.2270**	0.0267**	0.0032**
Erro	18	0.0643	0.0009	0.0002
Média Geral		1.497	0.8162	0.7341
CV (%)		16.94	3.72	1.89

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 7: Médias do efeito do tipo de estaca (região mediana do ramo e ápice), sobre o crescimento relativo em altura e peso de matéria seca de parte aérea e raiz, em miniestacas de *Psycotria rosea*. Sendo os tratamentos (n=10): T1 estacas do meio e T2 estacas do ápice.

TRATAMENTOS	CRESCIMENTO RELATIVO EM ALTURA	MATÉRIA SECA (PARTE AÉREA)	MATÉRIA SECA (RAIZ)
T1	1,0960 (0,7490)	0,7796 (0,1085)	0,7214 (0,0205)
T2	1,8994 (3,1760)	0,8527 (0,2282)	0,7469 (0,0581)

¹Médias transformadas e (médias originais).

As miniestacas provenientes da região apical do caule apresentaram melhor desenvolvimento, para todas as variáveis, em relação às medianas. Contudo observou-se que ambas são adequadas para propagação vegetativa uma vez que todas geraram novas mudas. (Quadro 7).

3.3. Propagação de *Chrysothemis pulchella* via miniestacas.

Quadro 8: Porcentagem de sobrevivência, enraizamento e brotações em miniestacas de *Chrysothemis pulchella* avaliadas no período de 30 dias submetidas aos seguintes tratamentos com reguladores de crescimento (n=5): T1(ANA 0,3 mg/L), T2 (AIB 0,3 mg/L), T3 (BAP (1mg/L) + ANA (1mg/L) , T4 (BAP (1mg/L) + AIB (1mg/L) e T5 controle (0,0 regulador).

TRATAMENTOS	SOBREVIVÊNCIA	ENRAIZAMENTO	BROTAÇÃO
T1	100	100	100
T2	20	0	20
T3	20	0	20
T4	100	40	60
T5	100	100	100

Observou-se que o tratamento que obteve as melhores porcentagens para sobrevivência, enraizamento e brotação foi o T1, composto do regulador de crescimento ANA, no entanto verificou-se que ele não foi diferente de T5, tratamento controle que consistia apenas de água. Porém, em campo, o tamanho e desenvolvimento das raízes de T1 foi visivelmente superior a T5 (Quadro 8). Os efeitos dos tratamentos na regeneração de uma muda a partir das estacas, com o enraizamento e o desenvolvimento das gemas axilares, sofreu um efeito negativo da aplicação do AIB isoladamente (T2) e da combinação dos reguladores BAP e ANA (T3). Tal efeito estende-se também à sobrevivência das estacas (Quadro 8). Verifica-se ainda, ao compararmos os efeitos dos tratamentos T1 e T2 sobre todas as variáveis, que a auxina AIB apresenta um efeito tóxico, ou inibitório do

crescimento, em relação à auxina ANA. Embora o dado não tenha sido analisado, a constatação de melhor desenvolvimento das raízes com a utilização do ANA nas estacas indica um efeito favorável para o estabelecimento da muda, em relação ao tratamento controle.

3.4. Propagação de *Chrysothemis pulchella* via estacas foliares.

Quadro 9: Porcentagem de sobrevivência, enraizamento e brotações em estacas foliares de *Chrysothemis pulchella* avaliadas no período de 30 dias submetidas aos seguintes tratamentos com reguladores de crescimento (n=5): T1 (BAP (1mg/L) + ANA (1mg/L) , T2 (BAP (1mg/L) + AIB (1mg/L) e T3 controle (0,0 regulador).

TRATAMENTOS	SOBREVIVÊNCIA	ENRAIZAMENTO	BROTAÇÃO
1	100	80	0
2	80	80	0
3	80	60	0

Houve uma boa taxa de sobrevivência para todos os tratamentos e estes foram eficientes para o enraizamento das folhas. Diferente das estacas caulinares, as foliares apresentaram efeito positivo da combinação de auxina (ANA) e citocinina (BAP) na sobrevivência e enraizamento (T1 e T2). Aqui também se verifica um melhor desempenho da auxina ANA (T1), em relação ao AIB (T2), quando combinadas com o (BAP). Em geral, a utilização dos reguladores se mostrou mais eficiente para o enraizamento e a sobrevivência, em relação ao controle (Quadro 9). Entretanto, as estacas foliares não foram capazes de emitir brotações e assim regenerar uma nova planta.

4. Discussão

4.1. Assepsia em sementes de *Xiphidium caeruleum* para estabelecer protocolo de micropropagação.

A assepsia é o primeiro gargalo para o estabelecimento de plantas *in vitro*. Embora exista um grande número de substâncias que podem ser utilizadas para este fim, se faz necessário definir a concentração e o tempo de exposição do material biológico à solução desinfestante, de forma a não comprometer a qualidade do explante. Frequentemente os protocolos disponíveis na literatura utilizam hipoclorito de sódio e álcool, por serem substâncias eficientes, solúveis em água e de baixo custo (Grattapaglia e Machado, 1998; Barrueto Cid e Zimmermann, 2006).

A concentração de hipoclorito utilizada na assepsia para micropropagação de plantas varia bastante em relação ao tipo de explante inoculado. De forma que para atingir maior

eficiência na atividade biocida, em muitos casos, empregam-se soluções com até 2% de cloro ativo, conforme relatado por Chaves *et al.*, (2004) no controle de contaminação em segmentos nodais de *Prunus* cv Mr. S 2/5. Para assepsia de *Xiphidium caeruleum*, no presente trabalho, o hipoclorito de sódio foi utilizado nas concentrações de 1% e 2% (v/v), e nos tratamentos em que esteve presente (Quadro 1), obteve-se um controle satisfatório da contaminação (Quadro 5), sem que houvesse diferença entre as duas concentrações, para o controle de fungos. Contudo o controle mais eficiente do crescimento de bactérias exigiu a concentração de 2% (Quadro 5). A combinação com o álcool nos tratamentos 2 e 4, resultou em um salto na eficiência da assepsia, inibindo principalmente o crescimento de fungos que foram os organismos mais frequentes.

4.2. Propagação de *Psychotria rosea* via miniestacas.

Diferentes fatores influenciam a capacidade de enraizamento de estacas e a subsequente formação da muda. Estes fatores reúnem aspectos da planta, como a presença de compostos fenólicos, tecidos lenhosos, conteúdo de reservas e hormônios, etc; e do ambiente, especialmente substrato, umidade do ar, luz e temperatura, os quais podem interagir entre si favorecendo ou dificultando o enraizamento (HARTMANN, *et al.*, 1997). Dentre os fatores intrínsecos à planta, a posição do segmento utilizado como propágulo, no ramo de origem, em muitos casos promove respostas diferenciadas no enraizamento da estaca e regeneração do indivíduo (OLIVEIRA *et al.*, 2001). Tal fenômeno foi observado em *Psychotria rosea* que, embora não tenha restringido o enraizamento em qualquer tipo de estaca, influenciou no desenvolvimento das mudas (Quadro 6), de maneira que aquelas provenientes do ápice do ramo apresentaram maior crescimento relativo em altura, bem como maior acúmulo de biomassa em toda a planta (Quadro 7). Possivelmente esta resposta reflete a influência do conteúdo de auxina presente na gema apical, em direcionar recursos para o enraizamento e o desenvolvimento do sistema radicular formado. Resposta semelhante foi observada por Pio *et al.*, (2006) ao comparar o enraizamento de estacas basais, mediana e apicais de *Ficus carica*. Estes autores argumentam que a superioridade das estacas apicais possivelmente está relacionada ao conteúdo de carboidratos. Tal explicação relaciona-se com a influência que as auxinas na gema apical exercem na alocação de carboidratos. Diferente do verificado com *P. rosea*, Silva *et al* 2009 observaram que em baunilha (*Vanilla planifolia*) os segmentos coletados na região abaixo do ápice apresentaram melhor enraizamento. Também Rocha *et al*

(2012) relataram um melhor desempenho em estacas medianas e basais, na propagação vegetativa de *Alternanthera brasiliana*. De forma semelhante, verificou-se em outros trabalhos que muitas espécies apresentam melhor enraizamento quando se utilizam estacas medianas ou basais, conforme relatado por Nicoloso (1999) na propagação de *Pfaffia glomerata*, e por Lima et al (2006) na propagação de aceroleira, quando constataram que as estacas medianas são melhores que as apicais e basais.

4.3. Propagação de *Chrysothemis pulchella* via miniestacas.

O aumento no número de brotações com o incremento na concentração de BAP é uma característica da ação das citocininas no desenvolvimento da parte aérea das plantas (GOUSSARD, 1981), pois as citocininas induzem grupos de células responsivas, existentes no explante, a se multiplicarem e a formarem brotações (KERBAUY, 1998). O incremento na concentração de BAP ativa um maior número destes grupos de células. O aumento da concentração de BAP tende a reduzir o tamanho das brotações formadas (OLIVEIRA et al., 1995). Este efeito negativo foi verificado ao combinarmos o BAP com o ANA (T 3), no entanto ao combinarmos o BAP com outra auxina, o AIB, esse efeito não foi constatado (T 4) (QUADRO 8).

4.4. Propagação de *Chrysothemis pulchella* via estacas foliares.

A indução de regeneração em explantes desprovidos de regiões meristemáticas, como folhas e pecíolos, requer, em muitos casos, a utilização de auxinas conjuntamente com citocininas, pois estes tipos de explantes, geralmente apresentam reduzidas concentrações endógenas de auxinas (TAIZ e ZEIGER, 2004).

A violeta-africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl), que pertence à mesma família, embora possa ser multiplicada por sementes, que é o método propício à obtenção de novas cultivares, sua propagação é feita assexuadamente pelo emprego de estacas foliares compostas por uma folha (limbo e pecíolo) (LORENZI e SOUZA, 1999; SOARES, 1998; TOMBOLATO, 1993). Sendo assim, esperava-se que *Chrysothemis pulchella* pudesse vir a ter o mesmo resultado, no entanto, apesar do bom desenvolvimento radicular, as estacas foliares submetidas aos tratamentos do experimento, não foram capazes de regenerar uma nova planta (Quadro 9).

5. Conclusão

- A combinação de hipoclorito de sódio a 1 e 2% de cloro ativo, associada com álcool etílico 70%, em solução, é eficiente para assepsia de sementes de *Xiphidium caeruleum*.

- A miniestaquia é um método eficiente para propagação de *Psychotria rosea*.
- Miniestacas apicais de *Psychotria rosea* apresentam melhor desempenho em acúmulo de biomassa.
- A propagação por miniestaquia de *Chrysothemis pulchella* não depende da utilização de reguladores de crescimento.
- O regulador de crescimento ácido naftaleno acético (ANA) é mais adequado que o ácido indolil acético (AIB), para sobrevivência e crescimento.
- A propagação de *Chrysothemis pulchella* por estacas foliares, pode ser melhorada com a utilização de reguladores de crescimento.

6. Referências

ALMEIDA, E. M.; ALVES, M. A. S. Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. brasiliensis* (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica do sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v.14, p. 335-346, 2000.

ANDRADE, R. A. DE, MARTINS, A. B. G. **Propagação vegetativa de porta-enxertos para citros**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 25, n. 1, 2003.

BARRUETO CID, L. P.; ZIMMERMANN, M. J. 2006. A contaminação *in vitro* de plantas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 20p.

CHAVES, A.C.; SCHUCH, M.W.; BIANCHI, V.J. 2004. Desinfestação de explantes de *Prunus* cv. mr. s. 2/5 com hipoclorito de sódio e cálcio. **Revista Brasileira de Agrociência**, 10: 249-250.

COSTA, D.P.. **Flora Neotropica Monograph**; Rio de Janeiro, 2008. 169pp

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. (1998) Micropropagação. In: , A.C.; CALDAS, L. S.; #, J. A. (Eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**,1:183-260. Brasília: Embrapa.

GOUSSARD, P.G. Effects of cytokinins on elongation, proliferation and total mass shoot derived from shoot apices of grapevine cultured in vitro. *Vitis*, Piracicaba, v.20, n.3, p.228-234, 1981.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.; DAVIES, F.; GENEVE, R. **Plant Propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 pp.

KERBAUY, G. B. Competência e determinação celular em culturas de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A. L.; CALDAS, L. S., BUSO, J.A. *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. Brasília: ASCTP/EMBRAPA – CNPH, v.2, p. 519-531, 1998.

LIMA, R. L.S.; SIQUEIRA, D. L.; WEBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 1, p. 83-86, Abril 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ªed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

MAYER, N. A.; PEREIRA, F.M.; NACHTIGAL, J.C. Efeito do comprimento de estacas herbáceas de dois clones de umezeiro (*prunus mume sieb & zucc.*) no enraizamento adventício. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n.2, 2002.

MAGINGO, D. J.; SMITH, R.I.F; MCBEATH, C. Rooting ability of *Leucaena leucocephala* stem cuttings. **Agroforestry Systems**, v. 42, n. 2, p. 149-157, 1998.

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P.; FOGAÇA, M. A. F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (spreng.) Pedersen em dois substratos. **Cien. Rural**, Santa Maria, v.29, n. 2, mai./jun. 1999.

OLIVEIRA, M. C. de; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. da S.; REZENDE, M. E. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria**. Brasília, DF: Embrapa, 2001. 4 p. (Recomendação técnica, 41).

OLIVEIRA, P. D. de; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito de diferentes reguladores de crescimento sobre a proliferação in vitro de brotos de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) Ciência e Prática, Lavras, v.19, n.4, p.397-408, 1995.

PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J.D. 1998. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações – introdução: fundamentos básicos**. Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 159 pp.

PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D.; VALE, M. R. do; SILVA, C. R. de R. e. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 137 pp.

PIO, R.; CHAGAS; E.A.; BARBOSA, W.; MENDONÇA, V.; SCARPARE FILHO, J.A.; GUIMARÃES, V.F. Enraizamento de estacas de figueira coletadas em diferentes posições no ramo e ambientes de propagação distintos. **Scientia Agrária Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.5, n.1, p.05-10, 2006.

RIBEIRO, J.E.L.S, HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C. 1999. **Flora da Reserva Ducke. Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 793 pp.

ROCHA, B. N.; ZULIANI, A. J. B.; LÖBLER, L.; BERTÊ, R.; LUCHO, S. R. 3; PARANHOS, J. T. **Influência da posição da estaca no ramo e do tipo de substrato sobre o enraizamento de *Alternanthera brasiliana* L. (Kuntze)**. Disponível em <<http://www.unifra.br/eventos/sepe2012/Trabalhos/6241.pdf> acessado em 30/01/2013> Acesso em: 30 janeiro 2013

SILVA, M.D.D.;PASQUAL, M; SILVA, F.P.; DIAS, J. M. M.; ARAÚJO, A. G. **.Enraizamento de estacas da baunilha (*Orchidaceae*)**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n. 1, p. 71-80, jan./mar. 2009.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2008.

TONIETTO, A.; FORTES, G. R. DE L.; SILVA, J. B. DA. Enraizamento de miniestacas de amexeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, 2001.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais do Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 2. Ed. Nova Odessa: Plantarum, 1999. 1088 p.

SOARES, M.P. **Verdes urbanos e rurais**: orientação para arborização de cidades e sítios campestres. Porto Alegre: Cinco continentes, 1998. 242 p.

TOMBOLATO, A. F. C. et al. Tipos de substrato para formação de mudas de violeta-africana (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 6., 1987, Campinas-SP. **Programa e resumos...** Campinas: Instituto Agrônomo, 1987.