



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES

GERMINAÇÃO DE DIÁSPOROS E MICROPROPAGAÇÃO DA SEMPRE-VIVA
Paepalanthus chiquitensis Herzog (ERIOCAULACEAE)

UBERLÂNDIA-MG
2018

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES

GERMINAÇÃO DE DIÁSPOROS E MICROPROPAGAÇÃO DA SEMPRE-VIVA
Paepalanthus chiquitensis Herzog (ERIOCAULACEAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof. Dra. Denise Garcia de Santana

UBERLÂNDIA-MG
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M188g Magalhães, Carollayne Gonçalves, 1992
2018 Germinação de diásporos e micropropagação da sempre-viva
Paepalanthus chiquitensis Herzog (Eriocaulaceae) / Carollayne
Gonçalves Magalhães. - 2018.
82 f. : il.

Orientador: Denise Garcia de Santana.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.794>

Inclui bibliografia.

1. Agronomia - Teses. 2. Monocotiledônea - Teses. 3. Germinação -
Teses. 4. - Teses. I. Santana, Denise Garcia de, . II. Universidade
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III.
Título.

CDU: 631

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES

GERMINAÇÃO DE DIÁSPOROS E MICROPROPAGAÇÃO DA SEMPRE-VIVA
Paepalanthus chiquitensis Herzog (ERIOCAULACEAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 16 de fevereiro de 2018

Prof. Dr. João Paulo Ribeiro de Oliveira

UFU

Profa. Dra. Tâmara Prado de Moraes

UFU

Profa. Dra. Marilda da Conceição Ribeiro e Barros

PUC-GO

Profa. Dra. Denise Garcia de Santana
ICIAG-UFU
(Orientadora)

UBERLÂNDIA-MG
2018



Fonte: Tumblr. (2018). Disponível em: <<http://tirasarmandinho.tumblr.com/>>. Acesso em: 22 jan. 2018

Aos admiradores da natureza e aos apaixonados pela pesquisa científica,
DEDICO!



Fonte: Prezi Premium Templates (2018). Disponível em: <<http://prezipremiumtemplates.com/>>. Acesso em: 25 jan. 2018

Na natureza ou no mundo moderno, resiliência é uma arte!

A autora (2018)

AGRADECIMENTOS

A Deus, o autor da vida, por me conceder sabedoria e me ajudar em todos os momentos.

À minha família por estar ao meu lado, mesmo de longe.

Ao meu querido Ariel, pelo companheirismo e carinho tão constantes.

À Universidade Federal de Uberlândia-UFU, pela oportunidade de prosseguir com meus estudos.

Ao Prof. Dr. Valdeir Dias Gonçalves, por me ensinar a ter amor pela pesquisa científica e me incentivar a fazer mestrado, se não fossem os seu incentivos constantes, talvez eu não teria escolhido essa carreira.

Ao Prof. Ms. Edson Marcos Viana Porto, que me ajudou a dar os primeiros passos no “mundo científico”, por sempre acreditar no meu potencial e torcer por meu sucesso.

À minha orientadora Profa. Dra. Denise Garcia de Santana, por aceitar me orientar, pela dedicação e empenho com essa pesquisa e por me ajudar a crescer em muitos aspectos da vida, serei sempre grata.

Ao Prof. Dr. João Paulo Ribeiro de Oliveira, pela amizade e carinho, por tudo que me ensinou durante o mestrado e por sempre oferecer o seu melhor naquilo que faz, sejam coisas pequenas ou grandes. Com você, aprendi lições preciosas sobre a vida!

Às Profas. Dra. Tâmara Prado de Moraes e Dra. Simone Abreu Asmar, que me acompanharam desde o começo nos experimentos sobre cultivo *in vitro*, pelas técnicas e ensinamentos que me passaram. Vocês foram essenciais para a realização desses ensaios!

À Profa. Dra. Marilda da Conceição Ribeiro e Barros, por ter aceitado participar da minha banca de defesa e por gentilmente nos acompanhar na coleta de material em Mossâmedes-GO/Parque Estadual da Serra Dourada. Sem você ficaria impossível compreendermos muitos aspectos importantes sobre a espécie!

Ao Prof. Dr. Marcelo Trovó Lopes de Oliveira, pelas dicas e esclarecimentos de dúvidas sobre a espécie e sobre a família Eriocaulaceae.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Biotecnologia, Herick Fernando, Rayssa Camargo e Sabrina Trento, por toda ajuda que me ofereceram na Cultura de Tecidos Vegetais.

Ao meu amigo Bruno Gomes do INGEB/UFU, que me socorreu em muitos momentos na condução de experimentos, pela amizade, companheirismo e palavras de incentivo.

Aos amigos do mestrado Gabriella Aloise e Ewander Cristóvão, pelo carinho e apoio de sempre.

Aos amigos do Laboratório de Sementes Florestais-LASEF, Ana Flávia, Adílio Júnior, Daiane Marques e Gabriella Alves, pelos momentos de alegria.

Aos amigos da república, Andressa Simas, Daniel Chalaupka, Victor Mota, Lucas Dalle, Marcela Falcão e Paula Mara, pessoas com quem convivi por mais de um ano e foram minha família em Uberlândia.

Às amigas Jacirene Oliveira, Jéssica Camila e Jéssica Silva pela força que me deram em momentos difíceis.

Aos meus padrinhos Ana Neves Xavier e Carlos Pereira Xavier, que me receberam com amor em Uberlândia-MG.

Aos professores e funcionários do Instituto de Ciências Agrárias/ICIAG e do Programa de Pós Graduação em Agronomia-PPGAG.

E a todos aqueles que de forma direta ou indireta, contribuíram para a minha formação e para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Obrigada!

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: Uma revisão sobre o potencial produtivo e conservação <i>ex situ</i> de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae).....	14
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OS PRIMEIROS INDIVÍDUOS DE <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog CULTIVADOS <i>ex situ</i>	19
2.1 A capacidade de germinação e o desenvolvimento das plântulas <i>ex situ</i>	20
3 A CONTRIBUIÇÃO DO CULTIVO DE <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog PARA A FAMÍLIA ERIOCAULACEAE.....	22
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
REFERÊNCIAS.....	24
CAPÍTULO II: Germinação de diásporos de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae).....	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
1 INTRODUÇÃO.....	31
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1 Coleta das inflorescências e beneficiamento dos diásporos.....	34
2.2 Curva de entrada da água.....	35
2.3 Tratamentos térmicos e reguladores de crescimento na germinação dos diásporos.....	36
2.4 Viabilidade dos diásporos com Tetrazólio.....	37
2.4.1 Pré-teste.....	37
2.4.2 Diásporos remanescentes.....	38
2.4.3 Medidas de germinação de diásporos e análise estatística.....	38
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4 CONCLUSÕES.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
CAPÍTULO III: Micropropagação da sempre-viva <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae).....	54
RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
1 INTRODUÇÃO.....	56
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
2.1 Descrição morfológica de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog.....	59
2.2 Coleta das inflorescências e beneficiamento dos diásporos.....	59
2.3 Estabelecimento <i>in vitro</i> de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog.....	60
2.4 Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog.....	61
2.5 Enraizamento <i>in vitro</i> de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog.....	62
2.5.1 Germinação dos diásporos e obtenção das plantas.....	62
2.5.2 Transplântio das plântulas e variações de auxina.....	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4 CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

*	- Asterisco
%	- Porcentagem
±	- Variação de mais ou menos
2iP	- 2-isopenteniladenina
AIA	- Ácido indolacético
AIB	- Ácido indolbutírico
ANA	- Ácido naftalenoacético
Atm	- Atmosfera
BOD	- Biochemical Oxygen Demand
BAP	- 6-benzilamino-purina
°C	- Grau Celsius
Ca(ClO) ₂	- Hipoclorito de cálcio
Cl ₂	- Cloro
ClO ⁻	- Hipoclorito
COPAM	- Conselho Estadual de Política Ambiental
CV	- Coeficiente de variação
CV _t	- Coeficiente de variação do tempo
DMS	- Diferença Mínima Significativa
G	- Germinabilidade
G	- Grama
GA ₃	- Ácido Giberélico
g L ⁻¹	- Grama por litro
H ₂ O	- Água
HClO	- Ácido hipocloroso
ICMBio	- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
KIN	- Cinetina-6-furfurilaminopurina
KNO ₃	- Nitrato de potássio
M	- Metro
m ² s ⁻¹	- Metro quadrado por segundo
Máx	- Máximo
μM	- Micromolar (10 ⁻⁶ M)
Mmol	- Micromol
mg L ⁻¹	- Miligrama por litro
Mín	- Mínimo
mL	- Mililitro (0,001 litro)
Mm	- Milímetro
MS	- Meio nutritivo elaborado por (MURASHIGE; SKOOG, 1962)
Na ⁺	- Sódio
NaClO	- Hipoclorito de sódio
OH ⁻	- Radical hidroxil

- pH - Potencial hidrogeniônico
- PVC - Policloreto de polivinila ou policloreto de vinil
- \bar{t} - Tempo médio de germinação
- t_f - Tempo final de germinação
- TDZ - Thidiazuron
- UNESCO -United Nations Educational,Scientific and Cultural Organization
- UR - Umidade relativa
- VE - Velocidade de emergência
- Z - Sincronia
- W - Watt ou whatts
- WPM - Wood Plant Medium, meio nutritivo elaborado por (LLOYD; MCCOWN, 1981)

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I.....	14
Figura 1. Indivíduo de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae). Seta vermelha indica brotação lateral a partir do eixo principal. Fonte: Arquivo pessoal.....	17
Figura 2. Plantas de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) com três anos de idade; b. produção de flores e frutos em viveiro; c. disposição das folhas na forma de roseta em volta do eixo e alongamento do caule; d. sistema radicular. Fonte: Ribeiro (1999).....	19
CAPÍTULO II.....	29
Figura 1. Beneficiamento de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae). a. amostra (inflorescência) contendo diferentes capítulos; b. capítulo mostrando a linha dos diásporos, antes da extração; c. visão superior e d. visão lateral depois da extração; e. diásporos depois de peneirar; f. frutos sem o envoltório de fibras; g. restos florais. Escala: 0,5 cm (Figuras b, c, d, e, f) e 1 cm (Figura g). Fonte: Arquivo pessoal.....	35
Figura 2. Viabilidade dos diásporos de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) com Cloreto de 2,3,5-Trifenil (Tetrazólio a 0,1%). Letras: a, b, c, d, e, correspondem ao pré teste. a. início do processo de coloração, imersão por 1 hora; b. imersão por 2 horas; c. imersão por 3 horas; d. imersão por 4 horas; e. diásporo aberto ao final das avaliações; f. diásporo remanescente imerso por 3 horas. Escala: 1 mm, diásporos medindo aproximadamente 5 mm ² (Figuras a, b, c, d, e, f). Fonte: Arquivo pessoal.....	38
Figura 3. Distribuições de frequências dos percentuais de germinação de diásporos de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae). a. testemunha; b. controle; sementes embebidas em 100 mg L ⁻¹ de GA ₃ (c) e 200 mg L ⁻¹ de GA ₃ (d); expostas a temperaturas de 35 °C (e) e 70 °C (f). Fonte: Arquivo pessoal.....	45
Figura 4. Figura 3. Capacidade relativa de embebição de diásporos de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) nas primeiras 12 horas (a) e 144 horas após embebição (b). Fonte: Arquivo pessoal.....	46
CAPÍTULO III.....	54
Figura 1. Germinabilidade e porcentagem de plântulas de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) originados da desinfestação dos diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Letras maiúsculas para germinabilidade e minúsculas para plântulas. Fonte: Arquivo pessoal.....	65
Figura 2. Percentuais de contaminação primária e secundária de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) estabelecidos <i>in vitro</i> a partir de diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Letras maiúsculas para contaminação primária e minúsculas para secundária. Fonte: Arquivo pessoal.....	66

- Figura 3. Tempos inicial, médio e final da germinação *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) originados da desinfestação dos diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Letras minúsculas para tempo inicial, maiúsculas em itálico para tempo médio e maiúsculas sem itálico, para tempo final. Fonte: Arquivo pessoal..... 67
- Figura 4. Frequência relativa da germinação *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) originadas da desinfestação dos diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Fonte: Arquivo pessoal..... 68
- Figura 5. Plantas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) provenientes dos diferentes tratamentos. a. planta da testemunha indicando crescimento ereto e normal; b. planta submetida ao 2iP e c. planta submetida ao BAP, indicando falta de firmeza nas folhas ou crescimento prostrado; d. presença de calo friável em planta submetida ao BAP; e. planta submetida ao TDZ indicando mortalidade; f. presença de calo não friável em planta submetida ao TDZ. Escala: 1 cm (Figuras a, b, c, d, e, f). Fonte: Arquivo pessoal..... 69

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II.....	29
Tabela 1. Altitudes e coordenadas geográficas dos 36 indivíduos de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) distribuídos no Parque Estadual da Serra Dourada, Mossâmedes-GO.....	34
Tabela 2. Medidas de germinação de diásporos de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) expostas a temperaturas entre 35 e 70 °C e estimuladores de crescimento (giberelina-GA ₃ e nitrato de potássio-KNO ₃).....	40
CAPÍTULO III.....	54
Tabela 1. Características da parte aérea de plantas de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) desenvolvidas em meio de cultura contendo auxina e citocininas.....	69
Tabela 2. Características do sistema radicular de plantas de <i>Paepalanthus chiquitensis</i> Herzog (Eriocaulaceae) submetidas a diferentes concentrações de auxina (ANA-ácido naftalenoacético) e presença de carvão ativado.....	72

CAPÍTULO I

Uma revisão sobre o potencial produtivo e conservação *ex situ* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES. **Germinação de diásporos e micropropagação da sempre-viva *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae).** 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.¹

RESUMO

Na ciência e no senso comum há certa retórica de que espécies que ocorrem ou se distribuem em ambientes muito particulares são difíceis de serem cultivadas *ex situ* em função das dificuldades de suprir as exigências, garantidas em condições naturais. Informações acumuladas de seis anos de pesquisa com *Paepalanthus chiquitensis* Herzog revelou a capacidade da espécie em se propagar sob condições *ex situ*, produzindo indivíduos capazes de se reproduzir sexualmente. Não seria uma pesquisa com resultados tão relevantes, se a espécie não fosse distribuída nos campos rupestres da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo/ Parque Estadual da Serra Dourada, GO, fitofisionomia marcada por apresentar condições edafoclimáticas difíceis de serem reproduzidas em sistemas de cultivo como topografia acidentada, elevada altitude (entre 800 e 1.200 m) e afloramentos rochosos com solos rasos, ácidos e pobres em nutrientes. Essa pesquisa foi o grande estímulo e referência para os capítulos 2 e 3 desta dissertação, que abordam aspectos do processo de germinação e da micropropagação, respectivamente.

Palavras-chave: Espécie ornamental. Sempre-viva. Monocotiledôneas. Campos rupestres. *Paepalanthus speciosus* (Bong.) Körn.

¹Orientadora: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

CHAPTER I

A review of the productive potential and *ex situ* conservation of *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES. **Germination of diaspores and micropropagation of the evergreen *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae).** 2018. 82f. Dissertation (Master Degree in Agronomy/Phytotechnology), Federal University of Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.²

ABSTRACT

In science and common sense there is a certain rhetoric that species occurring or being distributed in very particular environments are difficult to cultivate *ex situ* due to the difficulties of meeting the demands, guaranteed under natural conditions. Accumulated information from six years of research with *Paepalanthus chiquitensis* Herzog revealed the ability of the species to propagate under *ex situ* conditions, producing individuals capable of reproducing sexually. It would not be a research with such relevant results if the species were not distributed in the ruptured fields of the José Ângelo Rizzo Biological Reserve / Serra Dourada State Park, GO, a phytophysiognomy marked by presenting difficult edaphoclimatic conditions to reproduce in cropping systems such as rugged topography, high altitude (between 800 and 1,200 m) and rocky outcrops with shallow, acidic and nutrient-poor soils. This research was the great stimulus and reference for chapters 2 and 3 of this dissertation, which discuss aspects of the germination process and micropropagation, respectively.

Keywords: Ornamental species. Evergreen. Monocotyledons. Rock fields. *Paepalanthus speciosus* (Bong.) Körn.

²Advisor: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

1. INTRODUÇÃO

Dotada de partes vegetativas e reprodutivas com notáveis atributos estéticos, *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) é uma espécie do grupo das populares “sempre-vivas”, assim conhecidas por preservarem o aspecto original pós-colheita (GIULIETTI et al., 1988; NUNES et al., 2008; MOTA; WANDERLEY 2013). O nome *chiquitensis* é uma referência à província de Chiquitos, departamento de Santa Cruz, localizada na Bolívia, onde Theodor Carl (Karl) Julius Herzog fez a identificação da espécie no ano de 1924. As folhas dispostas na forma de rosetas basais, de onde partem os longos escapos com densas inflorescências capituliformes, conferem à espécie beleza singular (RIBEIRO, 1999; SANO; GIULIETTI, 2000).

Sempre-vivas, especialmente as pertencentes às famílias Eriocaulaceae, Poaceae, Cyperaceae, Rapateaceae e Xyridaceae, são muito almejadas por suas partes reprodutivas como inflorescências, escapos e hastes. No entanto a colheita dessas estruturas antes do completo desenvolvimento dos frutos afeta sensivelmente a dispersão e a reprodução por sementes (GIULIETTI et al., 1996). As frequentes queimadas, as atividades de garimpo e a mineração estão entre as causas do decréscimo da produção de flores e do eminente risco de extinção das espécies dessas famílias (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO 1994a; Conselho Estadual de Política Ambiental-COPAM 1997; NUNES et al., 2008; Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade-ICMBio, 2011). Uma alternativa para reduzir a pressão sobre essas populações naturais de Eriocaulaceae é o cultivo a partir de sementes ou por propagação vegetativa.

Produtoras de consideráveis quantidades de diásporos, *P. chiquitensis* apresentam alta capacidade de germinação (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994a; RIBEIRO, 1999) e as sementes tendem a manter essa capacidade por meses, sob condições favoráveis de armazenamento (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994b). Algumas espécies de Eriocaulaceae, notadamente *P. chiquitensis*, são monocárpicas de evento reprodutivo único, por vezes acompanhado do fim do ciclo de vida do indivíduo (TROVÓ et al., 2010). Apesar da monocarpia, há perspectiva de manter a variabilidade genética do indivíduo por propagação vegetativa. A presença de brotações laterais e perfilhamentos a partir da roseta, o desenvolvimento de escápulas secundárias indicam a presença de gemas, estruturas importantes para a propagação vegetativa (Figura 1). Escápulas secundárias também foram registradas em *Paepalanthus erectifolius* Silveira (TROVÓ et al., 2010). Estudos anatômicos e ontogenéticos da década de 70 apontaram que algumas espécies da família Eriocaulaceae

podem propagar-se vegetativamente a partir das inflorescências (MONTEIRO-SCANAVACCA et al., 1976; MONTEIRO-SCANAVACCA; MAZZONI, 1976a; MONTEIRO-SCANAVACCA, MAZZONI, 1976b). No entanto não existem relatos científicos para *P. chiquitensis*.



Figura 1. Indivíduo de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae). Seta vermelha indica brotação lateral a partir do eixo principal. Fonte: Arquivo pessoal

Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com espécies do gênero *Paepalanthus*, com abordagem mais frequente em taxonomia (GIULIETTI et al., 1996; OLIVEIRA, 2010; ANDRADE, 2012; SILVEIRA, 2012; ANDRINO; COSTA, 2013; SILVA; TROVÓ, 2014; SANO et al., 2015), anatomia (CASTRO; MENEZES, 1995; SCATENA et al., 1998; MACHADO et al., 2000; SCATENA; ROSA, 2001; COAN et al. 2002; SCATENA et al., 2005; GIULIETTI et al., 2012; ALVES et al., 2013) e composição florística (GIULIETTI et al., 1987; United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization-UNESCO, 2002; TANNUS; ASSIS, 2004; OLIVEIRA, 2005; CARMO, 2006; LEMES, 2009; MEYER;

FRANCESCHINELLI, 2010; SANO et al., 2010; CHAVES; SOARES-SILVA, 2012; ECHTERNACHT et al., 2012; ANDRADE, 2013; ANDRINO, 2013; RESENDE et al., 2013). Dentre as espécies do gênero, as cinco mais estudadas são *P. bromelioides* Silveira, *P. chiquitensis* Herzog (principal sinonímia *P. speciosus* (Bong.) Körn, *P. flaccidus* (Bong.)Kunth., *P. geniculatus* (Bong.) Kunth. e *P. planifolius* (Bong.)Koern.

Tais informações confirmam a afirmação de Sano (1996) quanto ao aumento progressivo de pesquisas sobre o gênero *Paepalanthus*, denotando a inestimável contribuição científica do engenheiro e botânico Álvaro Astolpho da Silveira para os estudos taxonômicos da família (GIULIETTI et al., 1996; OLIVEIRA, 2010; ANDRADE, 2012; SILVEIRA, 2012; ANDRINO; COSTA, 2013; SILVA; TROVÓ, 2014; SANO et al., 2015). Esses registros podem parecer insuficientes para uma família representada por cerca de 1200 espécies, entre elas 338 do gênero *Paepalanthus* (SANO et al., 2015), porém esses relatos já permitem o conhecimento sobre os aspectos reprodutivos e de propagação.

2. OS PRIMEIROS INDIVÍDUOS DE *Paepalanthus chiquitensis* Herzog CULTIVADOS *ex situ*

O único registro científico da capacidade de reprodução de plantas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog cultivadas *ex situ*, foi feito por Ribeiro (1999) e deixou um legado científico para o cultivo de outras espécies de Eriocaulaceae (Figura 2. a,b,c,d). Esse registro, apesar de único, é um relato detalhado de seis anos de pesquisas relativas ao ciclo reprodutivo da espécie, desde a colheita dos diásporos em habitat natural até a comprovação da capacidade de floração e de viabilidade dos diásporos oriundos de indivíduos cultivados *ex situ*.



Figura 2. a. Plantas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) com três anos de idade; b. produção de flores e frutos em viveiro; c. disposição das folhas na forma de roseta em volta do eixo e alongamento do caule; d. sistema radicular. Fonte: Ribeiro (1999).

Para essa pesquisa, diásporos da espécie foram coletados em julho de 1990 nos campos rupestres da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo no Parque Estadual da Serra Dourada, GO, local onde a espécie se distribui de forma agregada em altitudes que variam de 726 a 1.100 m (RIBEIRO, 1999; CARMO JÚNIOR et al., 2013). Os diásporos foram

colocados para germinar em placas de Petri em agosto de 1990 e a primeira repicagem ocorreu em setembro do mesmo ano com a passagem das plântulas para caixas, contendo solo da própria reserva cobertos por plásticos transparente para evitar a perda excessiva de evaporação. O solo do Parque varia conforme o local, podendo ser argilo-pedregoso próximo a cursos de água; com afloramentos de arenito em solos argilo-pedregosos ou pedregosos em áreas de cerrado *stricto sensu*; solos litólicos ou arenosos em cerrados rupestres ou campos limpos (CARMO JÚNIOR et al., 2013). Duas repicagens se sucederam, uma para sacos de 250 g em outubro, cerca de dois meses após sementeira (2ª repicagem) e outra em novembro, três meses após sementeira para sacos de 500 g (3ª repicagem) permanecendo sob arboreto.

2.1 A capacidade de germinação e o desenvolvimento das plântulas *ex situ*

O transplântio definitivo para os canteiros ocorreu em dezembro de 1991. Essas plantas cultivadas *ex situ* vieram a florir em setembro de 1992. A colheita dos diásporos ocorreu entre agosto e setembro de 1992 e os mesmos permaneceram armazenados por seis meses em frascos âmbar à temperatura ambiente até março de 1993. Nessa época, os diásporos foram dispostos sobre areia e o florescimento de parte das plantas foi observado em julho de 1996, 27 meses após sementeira. Desses indivíduos floridos, a colheita dos diásporos ocorreu entre agosto e setembro de 1996 dando início às primeiras investigações sobre a fisiologia e qualidade dos diásporos, morfologia e desenvolvimento de plântulas e desenvolvimento das plantas jovens produzidas *ex situ*.

A embebição efetiva dos diásporos ocorreu em 2 horas indicando que não há restrição do tegumento para a entrada de água (RIBEIRO, 1999). De formato esférico, os diásporos possuem em média 5 mm². A germinação dos diásporos provenientes de plantas desenvolvidas fora do seu ambiente natural foi de 86,4% (RIBEIRO, 1999), considerada pela autora equivalente à germinação de diásporos colhidos em seu ambiente natural, 97% (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994).

Para fins comparativos em relação ao desenvolvimento das plantas, diásporos da espécie foram dispostos em ambiente natural no Parque estadual da Serra Dourada e em condição de viveiro, *ex situ*. Durante todo o período de desenvolvimento, as plantas permaneceram em viveiro com fotoperíodo de 16 horas, radiação fotossintética ativa de 800 μmol. fótons/m². s⁻¹ e temperaturas entre 18 °C e 35°C. As plantas foram irrigadas e suplementadas quinzenalmente com a solução nutritiva Hoagland e nessas condições, a raiz atingiu 20 cm de comprimento aos 180 dias após a emergência e a altura da parte aérea não

ultrapassou 2 cm (RIBEIRO, 1999). Com tempo similar, 173 dias, plantas desenvolvidas *in situ*, cresceram, em média, 1,4 cm em altura e apenas oito folhas, em média, emergiram das rosetas. Por particularidades morfológicas, as rosetas de plantas cultivadas *in situ* e *ex situ* apresentaram pequeno crescimento. O baixo incremento em altura do cultivo *ex situ* foi compensado pelo aumento do número de folhas emergidas das rosetas que passou de duas aos trinta dias para vinte e duas aos cento e oitenta dias da emergência (RIBEIRO, 1999). Esse aumento do número de folhas não foi observado no cultivo *in situ*, apenas 8, devido as condições adversas como falta de água, queimadas e baixa fertilidade do solo causada pela alta acidez característica dos campos rupestres da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo, Parque Estadual da Serra Dourada em Mossâmedes-GO.

As massas da matéria seca do sistema radicular e da parte aérea apresentaram incrementos similares até os 165 dias após a emergência, quando o incremento em massa do sistema radicular ao superar o da parte aérea mostrou ser o principal órgão dreno (RIBEIRO, 1999). Os acúmulos de ambas as massas foram baixos até os noventa dias, quando tanto parte aérea e sistema radicular aumentaram as taxas de incremento em decorrência do aumento da taxa fotossintética.

3. A CONTRIBUIÇÃO DO CULTIVO DE *Paepalanthus chiquitensis* PARA A FAMÍLIA ERIOCAULACEAE

A combinação de grande produção de diásporos por indivíduo e a alta capacidade germinativa está entre as vantagens da propagação de Eriocaulaceae para fins de domesticação e cultivo. Uma desvantagem desse tipo de propagação é o longo período juvenil. Em *P. chiquitensis*, o ciclo completo de indivíduos cultivados fora do ambiente natural, se encerra três anos após a semeadura (RIBEIRO, 1999).

Dentre os problemas principais para o cultivo *ex situ* de *P. chiquitensis* está a dificuldade para o estabelecimento de plântulas, havendo uma grande mortalidade de indivíduos nessa fase, contudo este problema é comum entre muitas espécies nativas. Sendo assim, percebe-se a importância da identificação de soluções por meio de estudos sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas, a fim de se obter informações importantes sobre a reprodução da espécie e contribuir ao mesmo tempo para o cultivo de outras sempre-vivas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo *ex situ* de espécies ornamentais nativas do Bioma Cerrado, consiste em uma importante alternativa para a perpetuação de indivíduos em riscos de extinção, com longo ciclo reprodutivo e alto potencial de exploração econômica. Em fitofisionomias como os Campos rupestres é comum a presença de espécies ameaçadas pela intervenção humana, tais como o extrativismo e a ocorrência de queimadas em épocas de seca. Nesse sentido, pesquisas científicas envolvendo os aspectos germinativos de formação e estabelecimento de plântulas, bem como a utilização de técnicas biotecnológicas podem contribuir para o conhecimento de estratégias reprodutivas, visando à obtenção de mudas para a produção comercial ou reflorestamento.

REFERÊNCIAS

- ALVES, P. G. M.; SCATENA, V. L.; TROVÓ, M. Anatomy of scapes, bracts, and leaves of *Paepalanthus* sect. *Diphyomene* (Eriocaulaceae, Poales) and its taxonomic implications. **Brittonia**, New York, v. 65, n. 2, p. 262–272, 2013. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12228-012-9263-z.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- ANDRADE, L. E. **Sistemática de *Comanthera* e *Syngonanthus* (Eriocaulaceae)**. 2012. 294f. Tese (Doutorado em Ciências-Botânica) - Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, SP, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-01052013-125358/es.php>>. Acesso em: 07 mar. 2017.
- ANDRADE, E. A. **Composição florística e estrutura da vegetação de campos rupestres sobre quartzito do “complexo Serra da Bocaina”**. 2013. 91f. Tese (Doutorado em Ecologia- Ecologia e Conservação de Recursos Naturais em Ecossistemas Fragmentados e Agrossistemas) – Universidade Federal de Lavras-UFLA, Lavras, MG, 2013. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1449/1/TESE_Composi%C3%A7%C3%A3o%20flor%C3%ADstica%20e%20estrutura%20da%20vegeta%C3%A7%C3%A3o%20de%20campo%20rupestre%20sobre%20quartzito%20no%20Complexo%20Serra%20da%20Bocaina-MG.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2017.
- ANDRINO, C. O.; COSTA, F. N.; SANO, P. T. O gênero *Paepalanthus* Mart. (Eriocaulaceae) no Parque Estadual do Biribiri, Diamantina, Minas Gerais, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.66, n.2, p.393-419, 2015. Disponível em: <https://rodriguesia-seer.jbrj.gov.br/index.php/rodriguesia/article/view/ID%201030/pdf_178>. Acesso em: 21 jun. 2017.
- ANDRINO, C. O.; COSTA, F. N. *Paepalanthus* subgen. *Xeractis* (Eriocaulaceae) na porção central da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 1, p.075-089, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rod/v64n1/08.pdf>>. Acesso em: 20 maio. 2017.
- CARMO, M. R. B. **Caracterização fitofisionômica do Parque Estadual do Guartelá, município de Tibagi, estado do Paraná**. 2006. 142f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Biologia Vegetal) – Universidade Estadual Paulista – UNESP, “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, SP, 2006. Disponível em: <http://200.145.6.238/bitstream/handle/11449/100628/carmo_mrb_dr_rcla.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 13 jan. 2017.
- CARMO JÚNIOR, J. E.; SODRÉ, R. C.; SILVA, M. R. Manihot (Euphorbiaceae s.s.) no Parque Estadual da Serra Dourada, Goiás, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.64, n. 4, p.727-746, 2013. Disponível em: <http://rodriguesia-seer.jbrj.gov.br/index.php/rodriguesia/article/view/ID%20672/pdf_65>. Acesso em: 10 abr. 2017.
- CASTRO, N. M.; MENEZES, N. L. Aspectos da anatomia foliar de algumas espécies de *Paepalanthus* Kunth, Eriocaulaceae da Serra do Cipó (Minas Gerais). **Acta Botânica**

Brasilica, [S. l.], v.9, n.2, p. 213-229, 1995. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/abb/v9n2/v9n2a03.pdf>>. Acesso em: 05 abr. 2017.

CHAVES, E.; SOARES-SILVA, L. H. Floristic Survey of the Herbaceous-Shrub Layer of a Gallery Forest in Alto Paraíso de Goiás - Go, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, n. 5, p. 715-724, 2012. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/babt/v55n5/11.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2017.

COAN, A. I.; SCATENA, V. L.; GIULIETTI, A. M. Anatomia de algumas espécies aquáticas de Eriocaulaceae brasileiras. **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana, v.16, n.4, p. 371-384, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v16n4/a01v16n4.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2017.

Conselho Estadual de Política Ambiental -COPAM. **Lista das espécies ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais**. Deliberação COPAM 085/97. Belo Horizonte: COPAM, 1997. 48 p. Disponível em:

<<http://www.biodiversitas.org.br/florabr/mg-especies-ameacadas.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

ECHTERNACHT, L.; TROVÓ, M.; COSTA, F. N.; SANO, P. T. Análise comparativa da riqueza de Eriocaulaceae nos parques estaduais de Minas Gerais, Brasil. **MG.Biota**, Belo Horizonte, v.4, n.6, p.18-29, 2012. Disponível em:

<<http://www.ief.mg.gov.br/images/stories/MGBIOTA/mgbiota4v6/mg%20biota%20v.4%20n.6.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2017.

GIULIETTI, A. M. Novas espécies do gênero *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae) para o Brasil. **Boletim de Botânica**, São Paulo, v.15, p.63-71, 1996. Disponível em:

<<https://www.revistas.usp.br/bolbot/article/view/57944/60997>>. Acesso em: 04 fev. 2017.

GIULIETTI, A. M.; MENEZES, N. L.; PIRANI, J. R.; MEGURO, M.; WANDERLEY, M. G. L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caracterização e lista das espécies. **Boletim de Botânica**, Universidade de São Paulo, v.9, p.1-151, 1987. Disponível em:

<<http://www.revistas.usp.br/bolbot/article/view/57726/60779>>. Acesso em: 08 fev. 2017.

GIULIETTI, N.; GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R.; MENEZES, N.L. Estudos em sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.1, n.2, p.179-193, 1988. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/abb/v1n2s1/v1n2s1a18.pdf>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

GIULIETTI, A. M.; ANDRADE, M. J.; SCATENA, V. L.; TROVÓ, M.; COAN, A. I.; SANO, P. T.; SANTOS, F. A. R.; BORGES, R. L. B.; BERG, C. V. D. Molecular phylogeny, morphology and their implications for the taxonomy of Eriocaulaceae. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.63, n. 1, p.001-019, 2012. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/rod/v63n1/a01v63n1.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade -ICMBio. **Sumário Executivo do Plano de Ação Nacional para Conservação das Sempre-Vivas**. 2011. 8 p. Disponível em:

<http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-sempre-vivas/sempre_vivas.pdf>. Acesso em: 03 jan. 2017.

LEMES, F. O. A. **Relações florísticas, fitossociológicas e aspectos edáficos de comunidades de Campos rupestres da Serra do Itacolomi e Serra do Ouro Branco, Minas Gerais**. 2009. 94f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal de Ouro Preto-UFOP, Ouro Preto, MG, 2009. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/2129>>. Acesso em: 14 abr. 2017.

MACHADO, S. R.; ESTELITA, M. E. M.; GREGÓRIO, E. A. Ultrastructure of the intercellular protuberances in leaves of *Paepalanthus superbus* Ruhl. (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.23, n.4, p. 451-457, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v23n4/a11v23n4.pdf>>. Acesso em: 07 maio. 2017.

MEYER, S. T.; FRANCESCHINELLI, E. V. Estudo florístico de plantas vasculares associadas às áreas úmidas na Cadeia do Espinhaço (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, [S. l.], v.33, n.4, p.677-691, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v33n4/15.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2017.

MOTA, N. F. O.; WANDERLEY, M. G. L. *Xyris riopretensis* (Xyridaceae): uma nova espécie para Minas Gerais, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n.3, p.555-560, 2013. Disponível em: <<https://rodriguesia-seer.jbrj.gov.br/index.php/rodriguesia/article/view/ID%20643/302>>. Acesso em 17 jul. 2017.

MONTEIRO-SCANAVACCA, W. R.; MAZZONI, S. C. Aspectos morfológicos em ápices de inflorescências de Eriocaulaceae. **Boletim de Botânica**, Universidade de São Paulo, n. 4, p.23-30, 1976a.

MONTEIRO-SCANAVACCA, W. R.; MAZZONI, S. C. Origem do brotamento em inflorescência de *Leiotrix fluitans* (Mart.) Ruhl. (Eriocaulaceae). **Boletim de Botânica**, Universidade de São Paulo, n. 4, p.105-112, 1976b. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/bolbot/article/view/57651/60707>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

MONTEIRO-SCANAVACCA, W. R.; MAZZONI, S. C.; GIULIETTI, A. M. Reprodução vegetativa a partir da inflorescência em Eriocaulaceae. **Boletim de Botânica**, Universidade de São Paulo, n. 4, p.61-72, 1976. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/bolbot/article/view/57647/60703>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

NUNES, U.R.; NUNES, S.C.P.; FONSECA, P.G.; PEGO, R.G. Efeito da época de colheita, irrigação e permanência de sementes em solo seco no desenvolvimento inicial de plântulas de *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland. **Revista Brasileira de Sementes**, [S.l.], v.30, n.3, p.64-70, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v30n3/09.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

OLIVEIRA, M. T. L. **Sistemática de Paepalanthoideae (Eriocaulaceae): Filogenia, morfologia e taxonomia de *Diphyomene* (Ruhland) Trovó**. 2010. 245f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, SP, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-14052010-101750/pt-br.php>>. Acesso em: 19 jan. 2017.

OLIVEIRA, P. G.; GARCIA, Q.S. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira

(Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.19, n.3, p. 639-645, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v19n3/27380.pdf>>. Acesso em: 07 jun. 2017.

RESENDE, I. L. M.; CHAVES, L. J.; RIZZO, J. A. Floristic and phytosociological analysis of palm swamps in the central part of the Brazilian savanna. **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana, v.27, n.1, p.205-225, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v27n1/v27n1a20.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2017.

RIBEIRO, M.C. **Fisiologia do crescimento inicial e do florescimento de *Paepalanthus speciosus* Koern.** 1999. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás-UFG, Goiânia, GO, 1999.

SÁ e CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, M.C. Efeitos de choques térmicos na germinação de *Paepalanthus speciosus* Koern (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.8, n.2, p.205-211, 1994a. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v8n2/v8n2a05.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

SÁ e CARVALHO, C.G.; RIBEIRO, M.C. Efeito do armazenamento e de reguladores de crescimento na germinação de *Paepalanthus speciosus*, Eriocaulaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.17, n.1, p.61-65, 1994b.

SANO, P.T. Fenologia de *Paepalanthus hilairi* Koern., *P. polyanthus* (Bong.) Kunth e *P. robustus* Silveira: *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* Koern. Eriocaulaceae. **Acta botânica Brasilica**, Feira de Santana, v.10, n.1, p. 317-328, 1996. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v10n2/v10n2a06.pdf>>. Acesso em: 16 jan. 2017.

SANO, P.T.; GIULIETTI, A. M. (Coord.). Eriocaulaceae In: WANDERLEY, M.G.L.; MARTINS, S. E.; ROMANINI, R. P.; MELHEM, T. S.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R.; KIRIZAWA, M.; MELO, M.M.R.F.; CORDEIRO, I.; KINOSHITA, L.S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo, Instituto de Botânica, v. 7, p. 173-200. 2000.

SANO, P. T.; GIULIETTI, A. M.; TROVÓ, M.; PARRA, L. R.; MÜLLER, G. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Eriocaulaceae. **Boletim de Botânica**, Universidade de São Paulo, v.28, n. 2, p. 125-140, 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bolbot/article/view/11792/13569>>. Acesso em 09 jan. 2017.

SCATENA, V. L.; GIULIETTI, A. M.; CARDOSO, V. A. Anatomia do escapo floral de espécies Brasileiras de *Paepalanthus* subgênero *Platycaulon* (Eriocaulaceae). **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana, v.12, n.2, p.121-133, 1998. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v12n2/v12n2a03.pdf>>. Acesso em 07 abr. 2017.

SCATENA, V. L.; ROSA, M. M. Morphology and anatomy of the vegetative organs and scapes from *Aphorocaulon* (*Paepalanthus*, Eriocaulaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.44, n.1, p.49-58, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/babt/v44n1/a07v44n1.pdf>>. Acesso em 05 jan. 2017.

SCATENA, V. L.; GIULIETTI, A. M.; BORBA, E. L.; BERG, V. D. Anatomy of Brazilian Eriocaulaceae: correlation with taxonomy and habitat using multivariate analyses. **Plant**

Systematics and Evolution, [S. l], v.253, p.1-22, 2005. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00606-004-0295-z.pdf>>. Acesso em 03 jan. 2017.

SANO, P. T.; COSTA, F. N.; TROVÓ, M.; ECHTERNACHT, L. *Paepalanthus magistrae* (Eriocaulaceae), a remarkable new species in honor of Ana Maria Giulietti-Harley. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.66, n.2, p.299-303, 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rod/v66n2/2175-7860-rod-66-02-0299.pdf>>. Acesso em 02 fev. 2017.

SILVA, L. E. F.; TROVÓ, M. A família Eriocaulaceae nas restingas do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.65, n.4, p.871-883, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rod/v65n4/a05v65n4.pdf>>. Acesso em: 06 jun. 2017.

SILVEIRA, F. A. A importância dos naturalistas para a biodiversidade vegetal: especial referência ao mineiro Álvaro da Silveira. **MG.Biota**, Belo Horizonte, v.4, n.6, p.48-56, 2012. Disponível em: <<http://www.ief.mg.gov.br/images/stories/MGBIOTA/mgbiota4v6/mg%20biota%20v.4%20n.6.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2017.

TANNUS, J. L. S.; ASSIS, M. A. Composição de espécies vasculares de campo sujo e campo úmido em área de cerrado, Itirapina – SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.27, n.3, p.489-506, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v27n3/v27n3a07.pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2017.

TROVÓ, M.; STÜTZEL, T.; SCATENA, V. L.; SANO, P. T. Morphology and anatomy of inflorescence and inflorescence axis in *Paepalanthus* sect. *Diphyomene* Ruhland (Eriocaulaceae, Poales) and its taxonomic implications. **Flora**, v.205, p.242-250, 2010. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0367253009000978/1-s2.0-S0367253009000978-main.pdf?_tid=2be8e6ca-9f0a-4081-8e15-612949ade613&acdnat=1524425394_6340946123ab1303429b0da8cb572098>. Acesso em: 22 jan. 2017.

United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization -UNESCO. **Vegetação do Distrito Federal: tempo e espaço**. – 2. ed. – Brasília : UNESCO, 2002. 80p. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.puc-campinas.edu.br/services/e-books-MS/ue000208.pdf>>. Acesso em: 27 maio. 2017.

CAPÍTULO II

Germinação de diásporos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES. **Germinação de diásporos e micropropagação da sempre-viva *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae).** 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.¹

RESUMO

Espécie herbácea, *Paepalanthus chiquitensis* Herzog é uma das representantes da família Eriocaulaceae com alto grau de endemismo nos campos rupestres brasileiros. Estudos sobre a germinação e emergência de plântulas de *P. chiquitensis* poderão contribuir para o conhecimento das estratégias reprodutivas, de regeneração, conservação e manejo nos ambientes de ocorrência natural, oferecendo ao mesmo tempo subsídios para a produção de mudas, seja da própria espécie ou de outras sempre-vivas endêmicas. Nesse sentido, este trabalho analisou diferentes tratamentos para a germinação da espécie fazendo uma relação com as medidas de germinação. O experimento foi conduzido com 13 tratamentos para a germinação: cinco choques térmicos de temperatura por 30 minutos (35,0°C/34,7 ± 1,1 °C, 40,0/40,0 ± 1,2 °C, 50,0°C/50,3 ± 0,8 °C, 60°C/59,6 ± 2,4 °C e 70,0°C/67,6 ± 1,1 °C), embebição por quatro horas, em três concentrações de ácido giberélico (100, 200 e 300 mg L⁻¹ de GA₃), uma concentração de nitrato de potássio (0,2% de KNO₃) e água destilada (controle), além de três testemunhas (diásporos claros, escuros e mistura de diásporos claros com escuros). Nos tratamentos térmicos e nas testemunhas, os diásporos não passaram por nenhuma embebição prévia. Os tratamentos analisados não alteram as medidas de germinação com exceção da sincronia, utilizando-se a concentração de 300 mg L⁻¹ de GA₃ e na testemunha, com o uso de diásporos claros. Constatou-se que os diásporos de *P. chiquitensis* apresentam grande resistência térmica a elevadas temperaturas. A presença de estimuladores durante a embebição, GA₃ e KNO₃, não foi capaz de acelerar a germinação e o uso de diásporos claros promove maior homogeneidade e sincronia no processo germinativo.

Palavras-chave: Espécie endêmica. Medidas de germinação. Heteromorfia. Regulador de crescimento. Choques térmicos. Resistência térmica.

¹ Orientadora: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

CHAPTER II

Germination of diaspores of *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES. **Germination of diaspores and micropropagation of the evergreen *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae).** 2018. 82 f. Dissertation (Master Degree in Agronomy/Phytotechnology), Federal University of Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.²

ABSTRACT

Herbaceous species, *Paepalanthus chiquitensis* Herzog is one of the representatives of the Eriocaulaceae family with a high degree of endemism in the Brazilian rock fields. Studies on the germination and emergence of *P. chiquitensis* seedlings may contribute to the knowledge of reproductive, regeneration, conservation and management strategies in naturally occurring environments, while offering subsidies for the production of seedlings, either of the same species or of other endemic evergreens. In this sense, this work analyzed different treatments for the germination of the species, making a relation with the germination measures. The experiment was conducted with 13 treatments for germination: five thermal shocks for 30 minutes (35,0°C/34,7 ± 1,1 °C, 40,0/40,0 ± 1,2 °C, 50,0°C/50,3 ± 0,8 °C, 60°C/59,6 ± 2,4 °C e 70,0°C/67,6 ± 1,1 °C, imbibition for four hours in three gibberellic acid concentrations (100, 200 e 300 mg L⁻¹ de GA₃), a concentration of potassium nitrate (0,2% KNO₃) and distilled water (control), in addition to three controls (light diaspores, dark and mixture of light with dark diaspores). In the thermal treatments and in the controls, the diaspores did not undergo any previous soaking. The treatments analyzed do not alter the germination measures except for the synchrony, using the concentration of 300 mg L⁻¹ of GA₃ and in the control, with the use of clear diaspores. It was found that *P. chiquitensis* diaspores present high thermal resistance at high temperatures. The presence of stimulators during imbibition, GA₃ and KNO₃, was not able to accelerate the germination and the use of clear diaspores promotes greater homogeneity and synchrony in the germination process.

Keywords: Endemic species. Measures of germination. Heteromorphism. Growth regulator. Thermal shocks. Thermal resistance.

²Advisor: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

1. INTRODUÇÃO

Espécie herbácea, *Paepalanthus chiquitensis* Herzog é uma das representantes da família Eriocaulaceae com alto grau de endemismo nos campos rupestres da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo (Serra Dourada) e Parque Nacional da Serra da Canastra (RIBEIRO, 1999; DUARTE, 2009; VASCONCELOS, 2010; NEVES et al., 2011). Essa fitofisionomia do Cerrado de ocorrência da espécie, são caracterizadas pela vegetação arbustiva, topografia acidentada, elevada altitude (entre 800 e 1.200 m) e afloramentos rochosos de quartzitos e filitos (WALTER, 2006; VASCONCELOS et al., 2010). Os solos são rasos, ácidos e pobres em nutrientes como fósforo e nitrogênio (BENITES et al., 2003; KOZOVITS et al., 2007; DUARTE, 2009). Essa baixa fertilidade do solo e a ausência de lençol freático promovem adaptações fisiológicas e morfológicas nas plantas (BENITES et al., 2007; FERREIRA et al., 2013; FREITAS et al., 2014). Mesmo com essas restrições, esses ambientes agregam espécies de plantas economicamente importantes (BATISTA, 2003; DUARTE, 2009). Embora a espécie se restrinja às áreas de Cerrado, sua ocorrência está associada à disponibilidade de água.

Com distribuição pantropical, a família Eriocaulaceae, que agrega a maior parte das sempre-vivas, contempla 10 gêneros, sendo *Paepalanthus* o maior da flora brasileira, com 338 espécies (COSTA et al., 2013; FREITAS et al., 2014; SANO et al., 2015). A presença de folhas na forma de rosetas basais de onde partem os escapos com densas inflorescências capituliformes confere às Eriocaulaceae amplo potencial ornamental (SANO; GIULIETTI, 2000). As plantas são comercialmente almeçadas pelas inflorescências e coloração pouco alteradas, mesmo após serem destacadas e secas, o que lhes confere a denominação de “sempre vivas”. Os capítulos e escapos florais são empregados na confecção de arranjos decorativos e comercializados nos mercados nacional e internacional (GIULIETTI et al., 1988; NUNES et al., 2008; MOTA; WANDERLEY, 2013).

Algumas espécies de sempre-vivas encontram-se extintas ou em risco de extinção, problema relacionado ao extrativismo nas áreas de ocorrência natural sem plano de manejo, especialmente na região de Diamantina-MG (COPAM, 1997; NUNES et al., 2008; ICMBio, 2011). Outros agravantes são as frequentes queimadas dos campos na época seca do ano, atividades de garimpo e mineração (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994b; ICMBio, 2011). Esses fatores levaram ao decréscimo considerável da produção de flores nos últimos anos, o que poderá resultar no encerramento das atividades de exploração (NUNES et al., 2008).

O cultivo em escala comercial é uma forma de minimizar os problemas decorrentes do extrativismo. No entanto, a produção de sempre-vivas tem como limitante o fato de algumas serem monocárpicas, como *P. chiquitensis*. Na literatura, não há registro da presença de brotações laterais, o que restringiria a propagação vegetativa (ANDRADE³, comunicação pessoal 2016).

No geral, as espécies do gênero *Paepalanthus* apresentam expressiva produção de diásporos, todavia ainda são poucas as pesquisas ao que tange os aspectos reprodutivos das plantas, representando uma barreira no avanço dos estudos sobre o gênero e a família (COSTA et al., 2013; FERREIRA et al., 2013). O único registro científico sobre cultivo em viveiro a partir de diásporos de *P. chiquitensis* apontou um longo período juvenil das plantas, ou seja, três anos entre a germinação e o florescimento (RIBEIRO, 1999). Dessa forma, pesquisas sobre as estratégias de vida das sempre-vivas envolvendo produção e germinação de diásporos, são de grande importância para a perpetuação dessas espécies (REIS et al., 2007).

Os diásporos de *P. chiquitensis*, sinônimo *Paepalanthus speciosus* (Bong.) Körn necessitam de estímulo luminoso para a germinação, sendo considerados fotoblásticos positivos (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994a,b). A capacidade desses diásporos em detectar espectros de luz por meio dos fitocromos, (fotoreceptores) responsáveis pela conversão dos sinais luminosos, possibilita adequado controle da época e local de germinação, evitando condições desfavoráveis ao estabelecimento da plântula (FENNER; THOMPSON, 2004; SEO et al., 2009; BARRETO, 2012).

Em decorrência da irregularidade no tempo médio de germinação, de 2 a 30 dias, suspeita-se que os diásporos de *P. chiquitensis* possuam dormência morfofisiológica (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994b; KRAUS, 1996). Uma das alternativas para acelerar este processo e estimular o desenvolvimento do embrião é o uso de estimuladores de crescimento como o ácido giberélico, responsável pelo alongamento celular, e estimuladores como o nitrato de potássio (KNO₃) por atuar na biossíntese de novos compostos (BASKIN; BASKIN, 1998; BRASIL, 2009; CARDOSO et al., 2015).

Das pesquisas envolvendo a germinação em espécies da família Eriocaulaceae, existem importantes registros sobre o uso de giberelinas na presença e ausência de luz em sementes de *Syngonanthus anthemidiflorus* Ruhland., *Syngonanthus verticillatus* Ruhland., *Comanthera bisulcata* Koern. (BARRETO, 2012) e *P. speciosus* (Bong.) Körn (giberelina em conjunto

³ Livia Echternacht Andrade. Doutora em Ciências Biológicas (Botânica) pela USP.

com os efeitos do armazenamento) (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994a), germinação de *P. speciosus*(Bong.) Körn em canteiros de areia (RIBEIRO, 1999) e uso de tratamentos térmicos com variações de temperaturas, em *P. speciosus*(Bong.) Körn(SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994b), *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland, *Syngonanthus venustus* Silveira (OLIVEIRA; GARCIA, 2005) e *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland, (FICHINO et al., 2012) demonstrando alta capacidade germinativa e de resistência térmica.

Estudos sobre a germinação e emergência de plântulas de *P. chiquitensis* poderão, portanto, contribuir para o conhecimento das estratégias reprodutivas, de regeneração, conservação e manejo nos ambientes de ocorrência natural, oferecendo ao mesmo tempo subsídios para a produção de mudas, seja da própria espécie ou de outras sempre-vivas endêmicas. Assim, por apresentar alto potencial de exploração econômica e grande importância socioambiental dentro da família Eriocaulaceae, *P. chiquitensis* é uma espécie prioritária nas pesquisas sobre os processos de propagação via diásporo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das inflorescências e beneficiamento dos diásporos

Inflorescências de 36 indivíduos georreferenciados de *P.chiquitensis* foram coletadas manualmente no campo rupestre da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo da Serra Dourada, em Mossâmedes-GO (Tabela 1). Das amostras coletadas, apenas 30 indivíduos apresentaram diásporos e nos outros seis indivíduos a produção de diásporos foi inexistente. As amostras foram retiradas com auxílio de uma tesoura de poda permanecendo em sacos de papel para secagem natural até o início do beneficiamento. Na parte do capítulo que contém os diásporos, as estruturas de dispersão apresentam-se eriçadas, formando uma ou mais linhas distinguíveis em torno do capítulo e foram retiradas utilizando-se pinças de metal. Além dos diásporos, quantidades consideráveis de restos florais foram geradas e separadas por peneira. Depois de peneirar, cada diásporo foi separado manualmente das suas estruturas de dispersão (envoltório de fibras). Até a instalação dos experimentos, os diásporos permaneceram armazenados em sacos de papel à temperatura de 19 °C e 35% de umidade relativa.

Tabela 1. Altitudes e coordenadas geográficas dos 36 indivíduos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) distribuídos no Parque Estadual da Serra Dourada, Mossâmedes-GO.

Ind.	Altitude (m)	coordenadas	Ind.	Altitude (m)	coordenadas
1**	1008	S16 04.573; W50 11.169	19*	1020 m	S16 04.498; W50 11.321
2**	1012	S16 04.595; W50 11.237	20**	1021 m	S16 04.498; W50 11.296
3	1013	S16 04.518; W50 11.280	21**	1022 m	S16 04.539; W50 11.284
4*	1013	S16 04.475; W50 11.381	22*	1022 m	S16 04.495; W50 11.201
5	1014	S16 04.501; W50 11.160	23	1023 m	S16 04.492; W50 11.205
6	1014	S16 04.508; W50 11.350	24**	1023 m	S16 04.491; W50 11.206
7**	1014	S16 04.474; W50 11.380	25**	1024 m	S16 04.460; W50 11.232
8*	1015	S16 04.594; W50 11.229	26	1024 m	S16 04.493; W50 11.204
9**	1015	S16 04.460; W50 11.391	27**	1027 m	S16 04.483; W50 11.286
10	1016	S16 04.501; W50 11.166	28	1027 m	S16 04.484; W50 11.289
11**	1016	S16 04.502; W50 11.167	29	1029 m	S16 04.474; W50 11.281
12	1016	S16 04.500; W50 11.327	30**	1029 m	S16 04.481; W50 11.285
13	1018	S16 04.500; W50 11.307	31**	1030 m	S16 04.498; W50 11.212
14**	1018	S16 04.498; W50 11.316	32	1030 m	S16 04.498; W50 11.213
15	1019	S16 04.494; W50 11.176	33*	1031 m	S16 04.503; W50 11.205
16	1019	S16 04.498; W50 11.321	34**	1031 m	S16 04.504; W50 11.205
17	1020	S16 04.497; W50 11.197	35	1031 m	S16 04.504; W50 11.203
18*	1020	S16 04.497; W50 11.321	36	1032 m	S16 04.473; W50 11.273

Ind.: Indivíduos sem diásporos (*), com pouco diásporos, abaixo de 100 (**), e indivíduos normais, acima de 100 (sem asterisco). Fonte dos dados: Arquivo pessoal.

Ainda no campo, percebeu-se que na parte do capítulo que contém os diásporos, as estruturas de dispersão tornaram-se eriçadas e formaram uma ou mais linhas distinguíveis em torno do capítulo facilitando a extração dos diásporos (Figura 1. a,b,c,d). Dessa extração, além dos diásporos, quantidades consideráveis de restos florais foram geradas e separadas por peneira caseira (Figura 1. e,f,g). Depois de peneirar, cada diásporo foi separado dos envoltórios de fibras, por meio de pinças, em um delicado e demorado processo de beneficiamento (Figura 1. e). Esse processo durou cerca de 35 dias. Até a instalação dos primeiros experimentos e durante o beneficiamento, os diásporos permaneceram armazenados em sacos de papel à temperatura de 19 °C e 35% de umidade relativa.

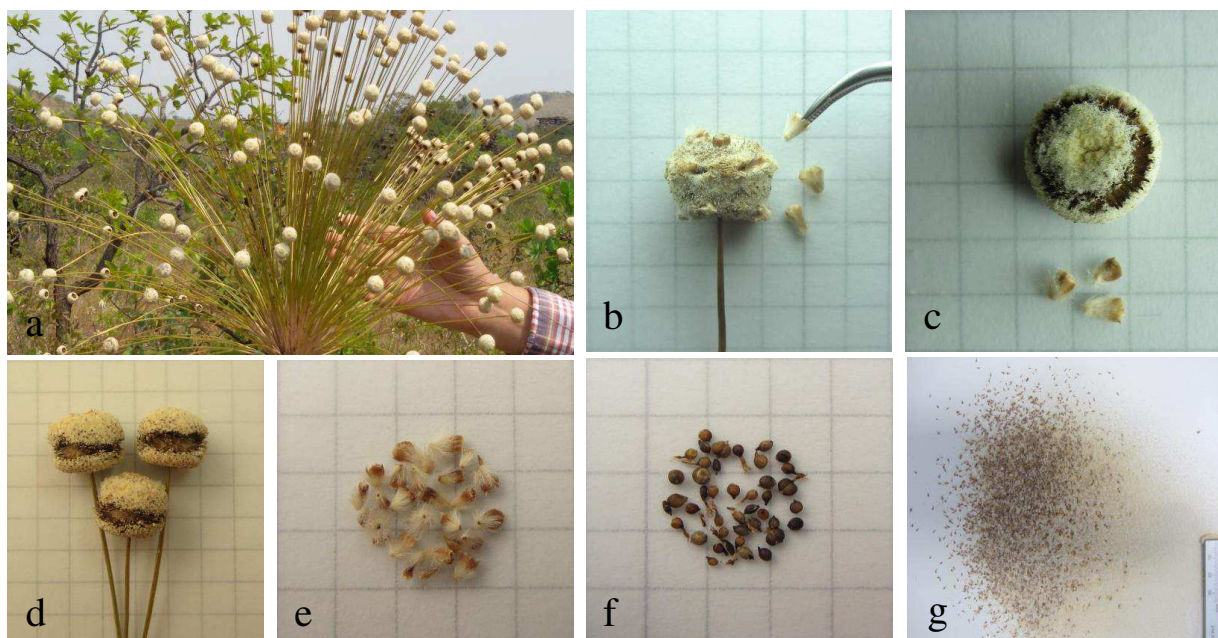


Figura 1. Beneficiamento de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae). a. amostra (inflorescência) contendo diferentes capítulos; b. capítulo mostrando a linha dos diásporos, antes da extração; c. visão superior e d. visão lateral depois da extração; e. diásporos depois de peneirar; f. frutos sem o envoltório de fibras; g. restos florais. Escala: 0,5 cm (Figuras b, c, d, e, f) e 1 cm (Figura g). Fonte: Arquivo pessoal.

2.2 Curva de entrada da água

Para determinar a capacidade de embebição, 10 diásporos (sem o envoltório de fibras) foram dispostos em placa de Petri contendo um disco de papel mata borrão umedecido com 6 mL de água destilada e reumedecido com 1 mL, sempre que necessário. Nas 10 primeiras horas, as pesagens em balança analítica de precisão (0.0001 g) de cada diásporo foram realizadas em intervalos de 30 minutos e, posteriormente, a cada 24 horas, encerrando-se aos 13 dias quando o primeiro diásporo germinou. No momento das pesagens, as temperaturas

variaram de 18,7 °C (mínimo) a 24,5 °C (máximo) e 41,3% (mínimo) a 88% (máximo) de umidade relativa (UR). Os cálculos por diásporo e por média dos 10 diásporos, foram baseados no incremento da massa do diásporo germinado em relação à massa inicial em equilíbrio microscópico, em determinado intervalo de tempo, ambas representadas por meio de gráficos de dispersão.

2.3 Tratamentos térmicos e estimuladores de crescimento na germinação dos diásporos

O experimento de geminação foi implantando em novembro de 2016 com diásporos provenientes de 30 indivíduos (Tabela 1). Dois dias antes da semeadura, os diásporos (mistura de claros e escuros) foram expostos a cinco temperaturas (35,0 °C/34,7 ± 1,1 °C, 40,0/40,0 ± 1,2 °C, 50,0 °C/50,3 ± 0,8 °C, 60 °C/59,6 ± 2,4 °C e 70,0 °C/67,6 ± 1,1 °C) por 30 minutos, sem embebição prévia.

Os diásporos também foram embebidos por 4 horas (tempo determinado em função da curva de entrada da água) em 20 mL de solução contendo individualmente três concentrações de ácido giberélico (100, 200 e 300 mg L⁻¹ de GA₃), uma concentração de nitrato de potássio (0,2% de KNO₃) e em água destilada (controle). Os diásporos claros, escuros e a mistura de diásporos claros com escuros, que foram denominados como testemunhas não passaram por nenhum pré-tratamento. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 13 tratamentos (temperaturas, estimuladores de crescimento e testemunhas) e quatro repetições de 50 diásporos cada, perfazendo 52 unidades experimentais.

Após estes procedimentos, os diásporos foram dispostos em caixas do tipo gerbox sobre uma folha de papel mata-borrão previamente umedecida. Para a desinfestação preventiva, o papel mata borrão foi imerso por 5 minutos em solução contendo uma gota de hipoclorito de sódio (0,5% de NaClO) por 1 litro de água destilada. Nas duas primeiras semanas, o reumedecimento do papel foi feito com 3 mL de água destilada, por gerbox e posteriormente com 1 mL, até o término do experimento.

Em função das contaminações, alguns diásporos foram retirados dos gerbox, lavados em água destilada e recolocados na mesma posição. Em decorrência desse problema, 35 dias após a semeadura efetuou-se a substituição das caixas e a troca dos papéis mata-borrão. A distribuição das caixas gerbox ocorreu em câmara BOD, com médias de temperaturas máxima de 25,2 ± 0,95 °C e médias de mínimas de 24,3 ± 0,52 °C, de acordo com o delineamento experimental adotado sob irradiância de 35 μmol m⁻² s⁻¹, com fotoperíodo de 12/12 h (luz/escuro).

A protrusão da radícula foi o critério determinado para diásporos germinados. Devido a dificuldade de analisar o tempo exato da primeira germinação e a necessidade de visualização de todas as estruturas, somente aos 11 dias após a semeadura a primeira germinação foi confirmada. Após o início da germinação, realizou-se diariamente a contagem do número de diásporos germinados por 60 dias, embora a última germinação tenha ocorrido aos 40 dias após a semeadura.

2.4 Viabilidade dos diásporos com Tetrazólio

2.4.1 Pré-teste

Os diásporos remanescentes que não apresentaram germinação foram avaliados quanto a sua viabilidade pelo teste de tetrazólio, no entanto, devido a escassez de informações, realizou-se primeiramente um pré-teste com 50 diásporos, que foram dispostos em uma caixa do tipo gerbox contendo uma folha de papel mata borrão umedecida com 8 ml de água destilada. Após a embebição em temperatura ambiente, os diásporos foram imersos em uma solução de Cloreto de 2,3,5-Trifenil (Tetrazólio a 0,1%) e avaliados quanto ao tempo para coloração de acordo com o modo de preparo das amostras, sendo 15 diásporos inteiros (sem nenhum corte), 25 cortados de forma longitudinal e 10 de forma transversal, que conseqüentemente, também indicou a posição e o formato do embrião após a abertura. O material foi colocado dentro de estufa regulada a uma temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As avaliações foram realizadas com intervalos de 1 h. Na primeira avaliação, a maioria dos diásporos cortados no sentido longitudinal e alguns no sentido transversal, começaram a modificar a cor do embrião, indicando que o processo de coloração inicia-se em 1 hora, após o contato com o sal (Figura 2. a). Na segunda avaliação, os diásporos já coloridos apresentaram um tom rosa claro (Figura 2. b). Na terceira avaliação, tom rosa intermediário (Figura 2. c) e na quarta e última avaliação, os diásporos estavam completamente coloridos, apresentando a tonalidade vermelha (Figura 2. d). Ao final dessas avaliações, os 15 diásporos inteiros foram abertos no sentido longitudinal e transversal, constatando-se que não houve nenhuma modificação em sua cor, demonstrando que a imersão de diásporos inteiros em solução de Cloreto de 2,3,5-Trifenil (Tetrazólio a 0,1%) por 4 horas, não é recomendada para avaliação da viabilidade (Figura 2. e).

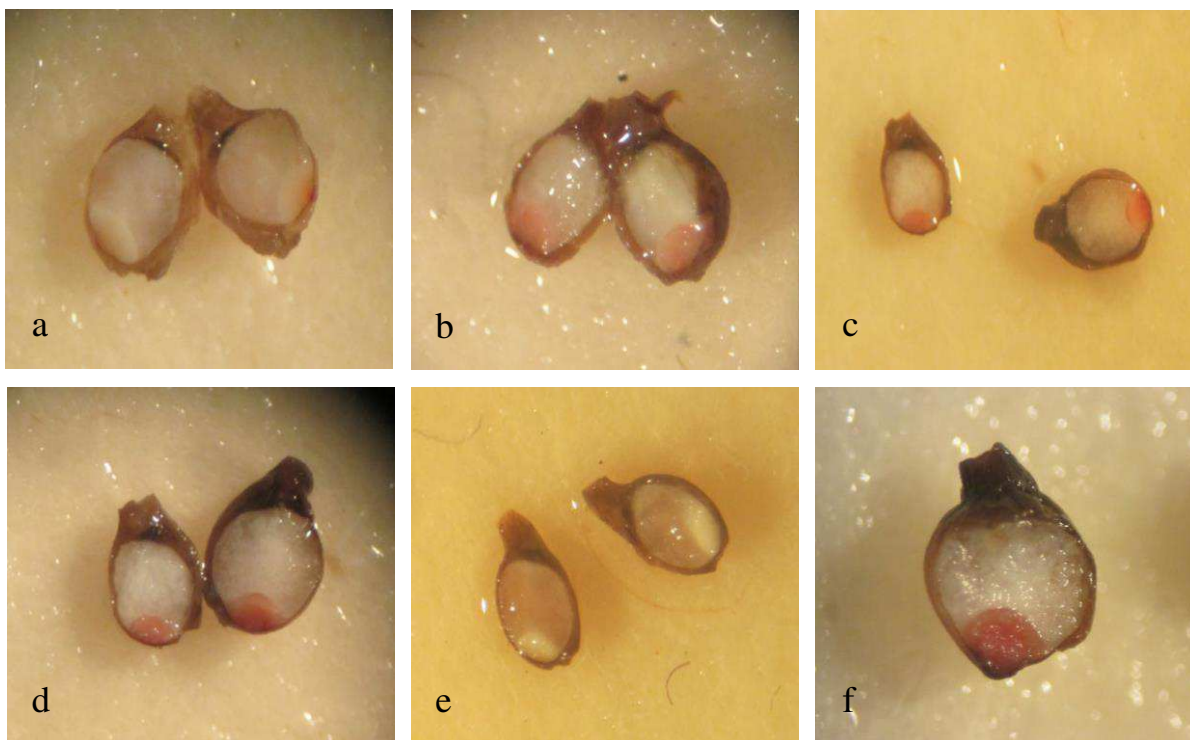


Figura 2. Viabilidade dos diásporos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) com Cloreto de 2,3,5-Trifenil (Tetrazólio a 0,1%). Letras: a, b, c, d, e, correspondem ao pré teste. a. início do processo de coloração, imersão por 1 hora; b. imersão por 2 horas; c. imersão por 3 horas; d. imersão por 4 horas; e. diásporo aberto ao final das avaliações; f. diásporo remanescente imerso por 3 horas. Escala: 1 mm, diásporos medindo aproximadamente 5 mm² (Figuras a, b, c, d, e, f). Fonte: Arquivo pessoal.

2.4.2 Diásporos remanescentes

O pré-teste indicou que o corte longitudinal com um tempo de imersão de 4 horas em solução de Cloreto de 2,3,5-Trifenil (Tetrazólio a 0,1%) é o mais eficiente para análise da viabilidade de diásporos de *P.chiquitensis*, todavia, como os diásporos remanescentes estavam em um estado de deterioração mais avançado, optou-se por este corte, mas com um menor tempo de imersão, avaliando ao final, o número de diásporos com e sem embrião, viáveis e não viáveis. O material foi incubado em estufa regulada a 30 °C ± 2 °C por 3 horas, após este período, os que apresentaram coloração vermelho e tecidos túrgidos foram quantificados como viáveis (Figura 2. f).

2.5 Medidas de germinação de diásporos e análise estatística

Além da germinabilidade, foram calculados o tempo médio e final de germinação (LABOURIAU, 1983), velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962), coeficiente de variação

do tempo de germinação (RANAL; SANTANA, 2006) e sincronia (PRIMACK, 1980). Todas as características avaliadas foram testadas quanto às pressuposições de normalidade dos resíduos (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade das variâncias (Levene), sendo transformadas quando da violação de uma, ou mais dessas pressuposições. Para comparações dos estimuladores de crescimento, temperaturas de exposição e coloração dos frutos, utilizou-se a análise de variância seguida do teste de Scott-Knott a 0,05 de significância. Gráficos de frequências percentuais representaram o comportamento dos diásporos ao longo do tempo quando submetidos a alguns tratamentos (diásporos expostos a 35 e 70 °C por 30 minutos; embebidas por 4 horas em água e 100 e 300 mg L⁻¹ de GA₃). Esses seis tratamentos foram selecionados entre os 13 por representarem o comportamento dos demais diásporos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Exposição a temperaturas entre 35 e 70 °C, imersão em estimuladores de crescimento (giberelina e nitrato de potássio) e variação na coloração dos diásporos não alteraram as medidas de germinação de *P. chiquitensis* (Tabela 2). Alta capacidade de germinação (entre 77,5 e 87,5%) e percentuais diários de germinação entre 4 e 6 (para cada 50 diásporos, germinam diariamente entre 2,46 a 3,03 diásporos) expresso pela velocidade de emergência (VE) marcaram a habilidade da espécie em produzir diásporos viáveis e capazes de se reproduzir sexualmente. Cabe destacar, a ausência de diásporos nos capítulos florais de seis indivíduos e menos de 100 nos capítulos de outros 12 indivíduos (Tabela 1), indicando que mesmo com a restrição de diásporos em muitas amostras, estes possuem boa qualidade. A mortalidade atingiu 13,7% e o percentual de viabilidade dos diásporos remanescentes foi de 45,7%.

Tabela 2. Medidas de germinação de diásporos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) expostas a temperaturas entre 35 e 70 °C e estimuladores de crescimento (giberelina-GA₃ e nitrato de potássio-KNO₃).

Tratamentos ¹	Medidas de germinação					
	G (%)	VE (diásporo dia ⁻¹)	\bar{t} (dia)	t_f (dia)	CV _t (%)	Z
Diásporos Claros	86,0 a	2,74 a	16,2 a	25,0 a	58,8 a	0,138 a
Diásporos Escuros	87,5 a	2,76 a	16,6 a	26,3 a	71,5 a	0,104 b
Diásporos Claros+Escuros	83,0 a	2,73 a	15,8 a	23,3 a	66,0 a	0,106 b
Água/4h (controle)	86,5 a	2,90 a	15,7 a	26,3 a	94,2 a	0,104 b
100 mg L ⁻¹ de GA ₃ /4h	77,5 a	2,53 a	16,1 a	30,3 a	101,6 a	0,113 b
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ /4h	81,0 a	2,66 a	16,0 a	25,5 a	80,8 a	0,095 b
300 mg L ⁻¹ de GA ₃ /4h	86,5 a	3,03 a	14,9 a	23,3 a	65,5 a	0,146 a
KNO ₃ a 0,1%/4h	80,0 a	2,60 a	16,1 a	26,5 a	80,1 a	0,119 b
35,0 (34,7 ± 1,1°C/30')	81,0 a	2,67 a	15,8 a	27,0 a	81,2 a	0,102 b
40,0 (40,0 ± 1,2 °C/30')	78,0 a	2,46 a	16,7 a	33,5 a	105,03 a	0,101 b
50,0 (50,3 ± 0,8°C/30')	80,5 a	2,62 a	16,2 a	25,8 a	83,5 a	0,090 b
60,0 (59,6 ± 2,4°C/30')	79,0 a	2,46 a	16,8 a	30,0 a	86,9 a	0,102 b
70,0 (67,6 ± 1,1°C/30')	82,0 a	2,56 a	16,9 a	24,0 a	83,4 a	0,085 b
² Levene	2,077	3,255	0,675	0,873	1,616	2,455
² Kolmogorov-Smirnov	0,115	0,073	0,072	0,119	0,065	0,098
¹ CV (%)	8,41	9,56	4,17	18,30	33,05	21,82
³ Transformação	arco seno ($\sqrt{x/100}$)	raiz quadrada ($\sqrt{x+0,5}$)				

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 0,05 de significância; G: germinabilidade; VE: velocidade de emergência; \bar{t} e t_f : tempos médio e final de germinação; CV_t: coeficiente de variação do tempo; Z: índice de sincronização e ¹CV: coeficientes de variação do experimento. ²Pressuposições, Levene e Kolmogorov-Smirnov: valores sem negrito indicam resíduos com

distribuição normal e variâncias homogêneas, ambos a 0.01 de significância. ³Transformação do tipo angular (arco seno $\sqrt{x/100}$) e do tipo raiz quadrada ($\sqrt{x+0,5}$).

Uma revisão de literatura sobre a capacidade germinativa de *P. chiquitensis* apontou valores acima de 80% (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 19994b; RIBEIRO, 1999). Assim, os resultados dessa pesquisa mostraram que independente do tratamento, o padrão de germinação da espécie foi pouco alterado (Tabela 2). A germinabilidade dos diásporos entre 78 <math>G < 82\%</math> nos tratamentos térmicos, demonstrou sua alta resistência a elevadas temperaturas. Essa resistência do diásporo é importante, porque nos ambientes de ocorrência é muito comum a presença de queimadas, especialmente em estações de seca (NEVES et al., 2011). A capacidade de resistência térmica também foi evidenciada para outras espécies da família Eriocaulaceae, *S. nitens* (Bong.) Ruhland, com germinação acima de 85% quando submetida a temperaturas entre 60 e 150 °C por 1, 3 e 5 minutos (FICHINO et al., 2012). Especificamente em *P. chiquitensis*, a exposição dos diásporos e de frutos nus a temperaturas de 80 °C por 30 minutos, permitiu germinabilidade acima de 80% (SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994b). Isso pode estar relacionado com o aumento da expressão e ativação de proteínas do tipo chaperonas, essa hipótese no entanto, deverá ser corroborada por trabalhos futuros.

O uso de estimuladores, GA₃ e KNO₃, não alterou a germinação de *P. chiquitensis*(77,5 <math>G < 86,5\%</math>) (Tabela 2) um comportamento também verificado em outras sempre-vivas utilizando giberelina, como *S. anthemidiflorus* Ruhland. $G = 93,5\%$ (GA₃ 500 mg L⁻¹) e 89,5% (GA₃ 1000 mg L⁻¹), *S. verticillatus* Ruhland., $G = 63,0\%$ (GA₃ 500 mg L⁻¹) e $G = 59,0\%$ (GA₃ 1000 mg L⁻¹) e *C. bisulcata* Koern., $G = 41,0\%$ (GA₃ 500 mg L⁻¹) e $G = 37,5\%$ (GA₃ 1000 mg L⁻¹), que não aumentou a germinação na presença de luz (BARRETO, 2012).

Os relatos científicos mencionados indicam que em muitas espécies de Eriocaulaceae, o fotoblatismo de diásporos não foi modificado por choques de temperatura e pela presença de giberelina ou nitrato de potássio na embebição. A insensibilidade a espectros luminosos parece ser um comportamento natural de algumas espécies do Cerrado que ocorrem no mesmo ambiente. Em *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae), por exemplo, a presença e ausência de luz em diferentes temperaturas, não influencia o processo germinativo (VIEIRA et al., 2007).

Entre as testemunhas foi possível constatar que a capacidade de germinação de 83,0 <math>G < 87,5\%</math> não esteve relacionada à heteromorfia (coloração) dos diásporos (Tabela 2).

Contudo diásporos de coloração clara apresentaram maior sincronia ($Z = 0,138$). Esse foi um indicativo de que a colheita de diásporos no estágio inicial para o armazenamento e/ou produção de mudas é mais vantajosa. Possivelmente, o motivo seja o fato dos diásporos claros apresentarem menor quantidade de compostos resultantes da oxidação de substâncias fenólicas e deposição de lignina, cutina e suberina nas paredes celulares dos macroesclereídes, que dão origem à coloração escura no estágio final da maturação e acarretam maiores restrições germinativas (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2003; NAKAGAWA et al., 2007). Entretanto o heteromorfismo também pode estar relacionado à plasticidade fenotípica e a fatores genéticos e ambientais do local, como dias longos/curtos e épocas secas/úmidas (LUZURIAGA et al., 2006; SILVA, 2015). Independente dos fatores, sejam eles fisiológicos, genéticos ou ambientais, a heteromorfia relacionada à coloração do tegumento reflete no desempenho germinativo de diásporos, porque está relacionada a capacidade de absorção de água (VENTURI; RANDI, 1997; ALVES et al., 2013; HERZOG et al., 2013) o que possivelmente explica este comportamento.

O tempo inicial de germinação foi aproximado, face a dificuldade de visualização da protrusão da radícula e da emissão de parte aérea até o 10^o dia, isso é devido à escassez de informações sobre a espécie. O início das avaliações foi feito desde o 1^o dia, porém a germinação foi constatada somente no 11^o. Contudo do ponto de vista avaliativo, a quantificação feita no 11^o dia não representou, necessariamente um problema, uma vez que o início do processo germinativo de *P. chiquitensis* pode ocorrer de 7 a 13 dias após a embebição e o desvio de um a três dias para a primeira contagem de diásporos germinados é permitido conforme as Regras para Análise de Sementes (RIBEIRO, 1999; BRASIL, 2009). Além disso, independente da data em que se identificou a primeira germinação, foi possível acompanhar e verificar todo o processo de formação de plântulas.

A estabilização da germinação ocorreu cerca de 21 dias após a semeadura (3 semanas), ainda sim, o tempo final de germinação atingiu médias entre 23,3 e 33,3 dias (Tabela 2), em decorrência de alguns diásporos germinados até os 42 dias (6 semanas). Tempo médio entre 15 e 17 dias nem sempre coincidiram com as maiores frequências de germinação (Figura 2). O tempo para o encerramento do processo germinativo de *P. chiquitensis* foi relativamente longo. Isso evidencia que mesmo não apresentando dormência física, os diásporos da espécie apresentam metabolismo germinativo cadenciado, prolongando o tempo final de germinação. Pensando na ideia de dormência ocasionada por um ou mais fatores externos ou internos, os diásporos podem ser quiescentes (SENA, 2008; CARDOSO, 2009). Este comportamento pode explicar os altos valores para o tempo final, principalmente nos tratamentos térmicos e

com estimuladores. Isso também pode estar relacionado com o uso de amostras com misturas de diásporos em diferentes fases, ou seja, alguns indivíduos possivelmente apresentavam diásporos em estágio de maturação mais avançado do que os outros e embora isso não tenha prejudicado a germinabilidade, provocou atraso no tempo de germinação.

Os altos valores dos coeficientes de variação do tempo ($58,8 < CV_t < 105,5\%$) para os diásporos expostos a temperaturas entre 35,0 e 70 °C, para os imersos em estimuladores de crescimento (giberelina e nitrato de potássio), além dos diásporos do controle e das testemunhas, foram consequência da desuniformidade temporal do processo de germinação e da dispersão assimétrica da germinação em torno dos tempos médios (Tabela 2 e Figura 2). Esses resultados indicaram que mesmo apresentando alta germinabilidade, a espécie possui comportamento heterogêneo na germinação, que resulta em baixa sincronização (Figura 2). Isso pode ser o reflexo de oscilações climáticas e ecológicas durante a polinização, formação e maturação dos frutos (GARWOOD, 1989; DORNELES et al., 2013).

Em condições naturais, a heterogeneidade possibilita maior eficiência na fase de estabelecimento, porque permitirá aos diásporos a produção e desenvolvimento de plântulas em condições propícias, aumentando as chances de sobrevivência em comparação com diásporos que germinam em estreitos limites de temperatura (FERRAZ; VARELA, 2003; GODOI; TAKAKI, 2004; VIEIRA et al., 2007). A falta de homogeneidade no processo de germinação e emergência de plântulas também foi verificada em outras espécies nativas do Cerrado encontradas em Campos rupestres, como *Anacardium humile* A. St.-Hil. (Anacardiaceae) cajuzinho-do-cerrado (CARVALHO et al., 2005) e *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) bromélia (VIEIRA et al., 2007).

Nesse contexto, foi questionável a representatividade do tempo médio como uma medida temporal de tendência central de diásporos de *P. chiquitensis*. Os baixos valores de sincronia ($0,085 < Z < 0,146$) refletiram as frequentes ocorrências de germinação de um único diásporo que apesar de representar 2% no percentual final (um diásporo germinado em 50), não é quantificado por esta medida de germinação.

No entanto a falta de sincronia no processo germinativo de *P. chiquitensis* é uma característica relacionada muitas vezes a fatores genéticos e ambientais, principalmente devido às restrições do local de ocorrência natural. Isso ocorre com frequência em espécies florestais, arbóreas, subarbóreas e/ou arbustivas e funciona como uma forma de evitar a produção de diásporos em curtos períodos de tempo (LUZ et al., 2010), como consequência disso, têm-se uma baixa sincronia de germinação.

Para a produção de mudas, isso pode ser um fator negativo, porque os diásporos permaneceriam no solo por um período maior, resultando na deterioração do material, mas no habitat natural, isso aumentaria as chances de estabelecimento (EIRA et al., 1993; CARVALHO et al., 2005; VIEIRA et al., 2007). A assincronia do processo germinativo também foi verificada em diásporos de *Anacardium humile* A. St.-Hil. (Anacardiaceae) cajuzinho-do-cerrado (CARVALHO et al., 2005), *Ananas ananassoides* (Baker) L. B. Sm. (Bromeliaceae) abacaxizinho-do-cerrado (ANASTÁCIO; SANTANA, 2010) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altschut (Fabaceae) Angico-branco (DORNELES et al., 2013), espécies endêmicas encontradas no Bioma Cerrado.

Por serem de tendência central, representadas por valores médios, as medidas não foram suficientes para descrever o processo de germinação dos diásporos da espécie e precisaram ser combinadas com gráficos de distribuição de frequência. Presença de picos precedidos por baixas frequências de germinação revelaram a natureza assimétrica da germinação particularmente observada em diásporos da testemunha (mistura) e do controle (embebidas em água por 4 horas) (Figura 2 a,b).

As altas frequências observadas nas distribuições de frequência aos 11 dias após a semeadura foram consequência do represamento dos diásporos germinados até o 10^o dia. O aumento da concentração de giberelina de 100 para 300 mg L⁻¹ de GA₃ reduziu o tempo final de germinação de 37 para 25 dias, respectivamente (Figura 2 c,d); redução ainda maior foi observada quando as temperaturas de exposição passaram de 35,0 °C para 70,0 °C. Na menor temperatura, os diásporos germinaram em até 38 dias, enquanto a 70,0°C, aos 25 dias o processo havia encerrado, com quase duas semanas de antecipação (Figura 2 e,f).

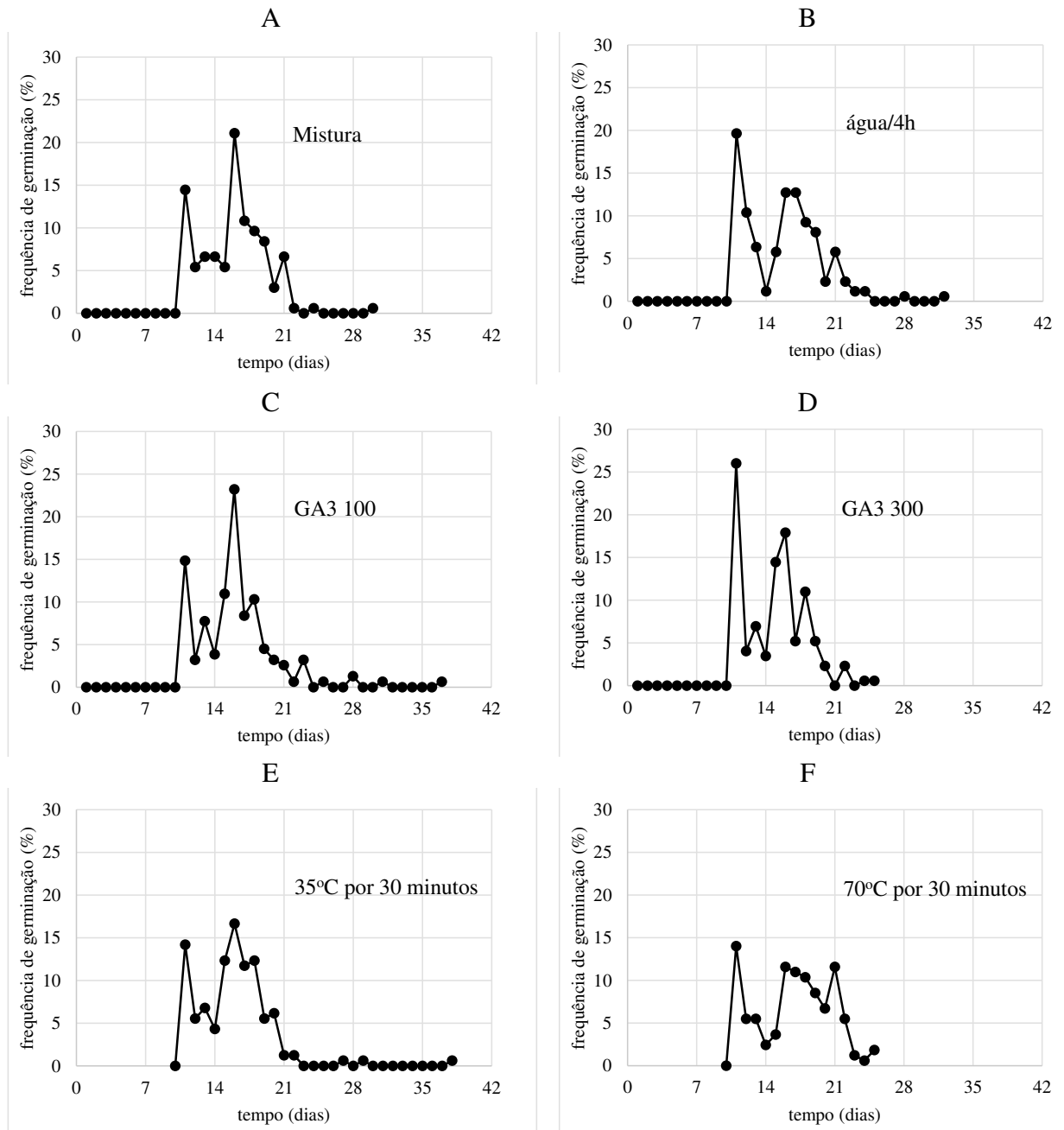


Figura 3. Distribuições de frequências dos percentuais de germinação de diásporos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae). a. testemunha; b. controle; sementes embebidas em 100 mg L⁻¹ de GA₃ (c) e 200 mg L⁻¹ de GA₃ (d); expostas a temperaturas de 35 °C (e) e 70 °C (f). Fonte: Arquivo pessoal.

Díaspóros de *P. chiquitensis* aumentaram sua capacidade relativa de embebição nas primeiras 4 horas após semeadura em superfície saturada; entre 4 e 6 horas essa capacidade também aumentou, porém a taxas menores, estabilizando-se (Figura 4 a) das 6 até 144 horas da embebição (Figura 4 a,b).

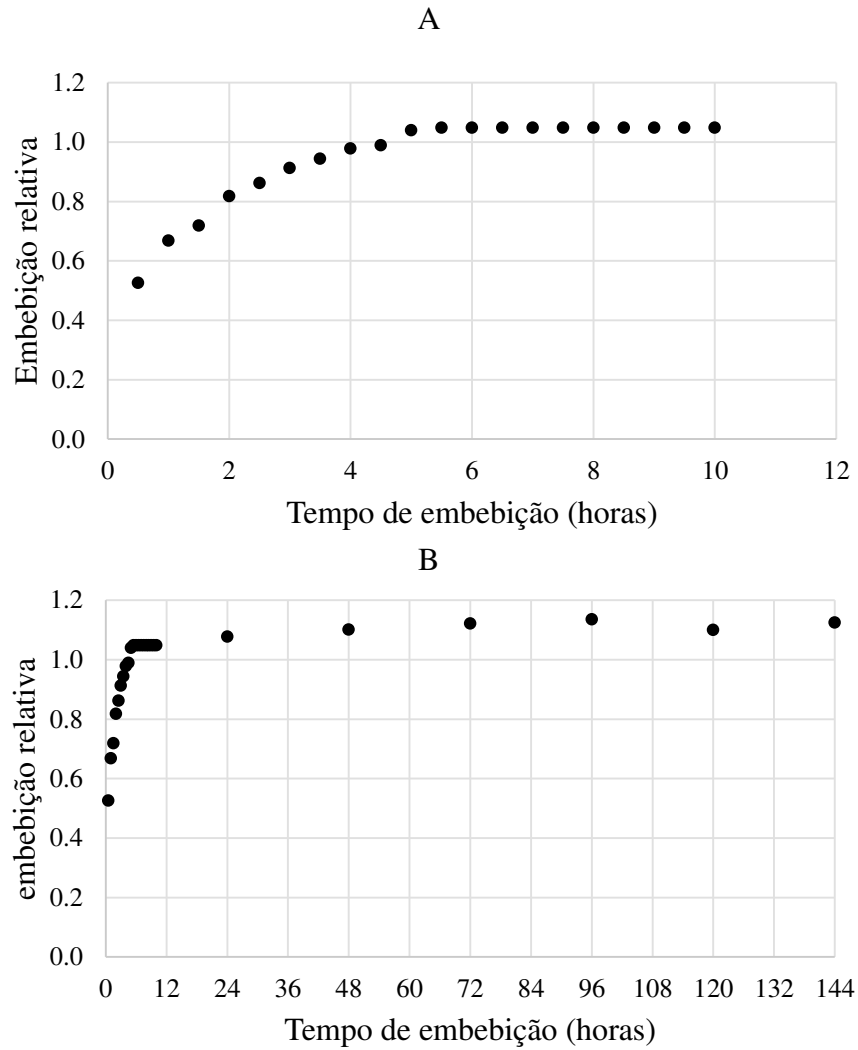


Figura 4. Capacidade relativa de embebição de diásporos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) nas primeiras 12 horas (a) e 144 horas após embebição (b). Fonte: Arquivo pessoal.

4. CONCLUSÕES

Os tratamentos térmicos, estimuladores de crescimento e embebição em água, não alteram as medidas de germinação, com exceção da sincronia. Diásporos de *P. chiquitensis* apresentam grande resistência térmica a exposição curta em elevadas temperaturas e a presença de estimuladores durante a embebição não foi capaz de acelerar a germinação. O uso de diásporos claros promove maior homogeneidade e sincronia ao processo germinativo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, P. G. M.; SCATENA, V. L.; TROVÓ, M. Anatomy of scapes, bracts, and leaves of *Paepalanthus* sect. *Diphyomene* (Eriocaulaceae, Poales) and its taxonomic implications. **Brittonia**, New York, v. 65, n. 2, p. 262–272, 2013. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12228-012-9263-z.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- ANASTÁCIO, M. R.; SANTANA, D. G. Características germinativas de sementes de *Ananas ananassoides* (Baker) L. B. Sm. (Bromeliaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 195-200, 2010. Disponível em: <<http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/1693/1693>>. Acesso em: 10 out. 2017.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. In. APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed). 2. ed. Atual. Viçosa: Ed. UFV, 2003. 438 p.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York, Academic Press. 1998.
- BARRETO, L. C. **Estudos em Eriocaulaceae Mart.: Caracterização morfológica do tegumento e germinação de sementes**. 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)-Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, MG, 2012. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/TJAS-8TYH87/disserta__o_leilane_barreto.pdf?sequence=1>. Acesso em: 10 mar. 2017.
- BATISTA, L.M. **Atividade antiulcerogênica de extratos e frações obtidas dos escapos de *Syngonanthus bisulcatis* Rul. e *Syngonanthus arthrotrichus* Silveira em modelos animais**. 2003. 115 f. Tese (Doutorado em fisiologia) - Universidade Federal de Campinas, Campinas, SP, 2003.
- BENITES, V. M.; CAIAFA, A. N.; MENDONÇA, E. S.; SCHAEFER, C. E.; KER, J. C. Solos e vegetação nos complexos rupestres de altitude da Mantiqueira e do Espinhaço. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 10, n.1, p. 76-85, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 2009. 395 p.
- CARDOSO, V. J. M. Conceito e classificação da dormência em sementes. **Oecologia Brasiliensis**, [S. l.], v.13, n.4, p.619-630, 2009. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/71375/2-s2.0-74949106738.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 18 nov. 2017.
- CARDOSO, E.D.; SÁ, M.E.; HAGA, K.I.; BINOTTI, F.F.S.; COSTA, E. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Revista de Agricultura Neotropical**, [S. l.], v.2, n.2, p.42-48, 2015. Disponível em: <<https://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/264>>. Acesso em: 16 nov. 2017.

CARVALHO, M. P.; SANTANA, D. G. ; RANAL, M. A. Emergência de plântulas de *Anacardium humile* A. St.-Hil. (Anacardiaceae) avaliada por meio de amostras pequenas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.28, n.3, p.627-633, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v28n3/29011.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

Conselho Estadual de Política Ambiental -COPAM. **Lista das espécies ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais**. Deliberação COPAM 085/97. Belo Horizonte: COPAM, 1997. 48p. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br/florabr/mg-especies-ameacadas.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

DORNELES, M. C.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Germinação de sementes e emergência de plântulas de *anadenanthera colubrina* (vell.) Brenan var. *Cebil* (griseb.) Altschut, fabaceae, estabelecida em fragmentos florestais do cerrado, MG. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 3, p. 291-304, 2013. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/10541/pdf>>. Acesso em: 11 out. 2017.

DUARTE, D.M. **Qualidade fisiológica de sementes de sempre-viva *Syngonanthus spp* submetidas à criopreservação**. 2009. 60 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Diamantina, MG, 2009. Disponível em: <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/bitstream/1/594/1/daniela_moreira_duarte.pdf>. Acesso em: 04 maio. 2017.

EIRA, M. T. S.; FREITAS, R. W. A.; MELLO, C. M. C. Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. – Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes**, Recife, v. 15, n. 2, p. 177-181, 1993. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R1070-3.pdf>>. Acesso em: 07 out. 2017.

FENNER, M.; THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. Cambridge University Press, 9 p. 2004.

FERRAZ, I. D. K.; VARELA, V. P. Temperaturas cardeais de germinação e sensibilidade ao resfriamento das sementes de Guariúba (*Clarisia racemosa* Ruiz et Pavon.- Moraceae). **Revista de Ciências Agrárias**, n.39. p.183-191, 2003.

FICHINO, B.; FIDELIS, A.; SCHMIDT, I.; PIVELLO, V. Efeitos de altas temperaturas na germinação de sementes de capim-dourado (*Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland, Eriocaulaceae): implicações para o manejo. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.26, n.2, p. 508-511, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v26n2/26.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2017.

GARWOOD, N.C. Tropical soil seed banks: a review. In: LECK, M.A.; PARKER, V.T; SIMPSON, R.L. (Ed). **Ecology of soil seed banks**. London: Academic Press, 1989. p.149-209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-440405-2.50014-2>

GIULIETTI, N.; GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R.; MENEZES, N.L. Estudos em sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 1, n. 2, p. 179-193, 1988. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v1n2s1/v1n2s1a18.pdf>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

GODOI, S.; TAKAKI, M. Effects of Light and Temperature on Seed Germination in *Cecropia hololeuca* Miq. (Cecropiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.47, n.2, p.185-191, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/babt/v47n2/20565.pdf>>. Acesso em: 06 ago. 2017.

HERZOG, N. F. M.; MALAVASI, M. M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria dos frutos e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* O. BERG. **Revista de Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1359-1366, 2012. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/7429/11235>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade -ICMBio. **Sumário Executivo do Plano de Ação Nacional para Conservação das Sempre-Vivas**. 2011. 8p. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-sempre-vivas/sempre_vivas.pdf>. Acesso em: 03 jan. 2017.

KOZOVITS, A. R.; BUSTAMANTE, M. M. C.; GAROFALO, C. R.; BUCCI, S.; FRANCO, A. C.; GOLDSTEIN, G.; MEINZER, F. C. Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a Neotropical savanna. **Functional Ecology**, Ouro Preto, n.21, p.1034-1043, 2007.

KRAUS, J. E.; SCATENA, V. L.; LEWINGER, M. E.; TRENCH, K. U. S. Morfologia externa e interna de quatro espécies de *Paepalanthus* Kunth (Eriocaulaceae) em desenvolvimento pós-seminal. **Boletim de Botânica**, Universidade de São Paulo, n. 15, p.45-53, 1996. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bolbot/article/view/57942/60995>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. Monografia 24. 1983. 174 p.

LUZ, J. M.; CARVALHO, A. F.; SANTANA, D. G.; SILVA, M. A. D. Germinação de sementes e emergência de plântulas de carapiá: espécie primitiva e medicinal. **Horticultura Brasileira**, [S. l.], v.28, n.1, p.107-110, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v28n1/a20v28n1.pdf>>. Acesso em: 07 nov. 2017.

LUZURIAGA, A. L.; ESCUDERO, A.; PÉREZ-GARCÍA, F. Environmental maternal effects on seed morphology and germination in *Sinapis arvensis* (Cruciferae). **Weed Research**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 163-174, 2006. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-3180.2006.00496.x>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, [S. l.], v.2, p.176-177, 1962. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176>>. Acesso em: 09 dez. 2017.

MOTA, N. F. O.; WANDERLEY, M. G. L. *Xyris riopretensis* (Xyridaceae): uma nova espécie para Minas Gerais, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 3, p. 555-

560, 2013. Disponível em: <<https://rodriguesia-seer.jbrj.gov.br/index.php/rodriguesia/article/view/ID%20643/302>>. Acesso em 17 jul. 2017.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; MARTINS, C. C.; OLIVEIRA, R. R. D. Intensidade de dormência durante a maturação de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 165–170, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v29n1/23.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2017.

NUNES, U. R.; NUNES, S. C. P.; FONSECA, P. G.; PEGO, R. G. Efeito da época de colheita, irrigação e permanência de sementes em solo seco no desenvolvimento inicial de plântulas de *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland. **Revista Brasileira de Sementes**, [S.l.], v. 30, n. 3, p. 64-70, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v30n3/09.pdf>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

NEVES, A.C.O.; BEDÊ, L.C.; MARTINS, R.P. Revisão sobre os Efeitos do Fogo em Eriocaulaceae como Subsídio para a sua Conservação. Número Temático: Ecologia e Manejo de Fogo em Áreas Protegidas. **Biodiversidade Brasileira**, [S. l.], n. 2, p.50-66, 2011. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/revistaeletronica/index.php/BioBR/article/viewFile/115/100>>. Acesso em: 07 out. 2017.

OLIVEIRA, P. G.; GARCIA, Q. S. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 19, n. 3, p. 639-645, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/abb/v19n3/27380.pdf>>. Acesso em: 07 jun. 2017.

PRIMACK, R. B. Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. **Journal of Ecology**, v.68, p.849-862, 1980. <https://doi.org/10.2307/2259460>

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process?. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v29n1/a02v29n1.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2017.

REIS, M.; GÜTSCHOW-BENTO, L.H.; GODINHO, P.S.; CASTELLANI, T.T. Estratégia reprodutiva de *Syngonanthus crisanthus* (Bong.) Ruhl (Eriocaulaceae) em baixadas entre dunas, Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. **Anais... VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG. Disponível em: <<http://www.seb-ecologia.org.br/viiiiceb/pdf/833.pdf>>. Acesso em: 02 ago. 2017.

RIBEIRO, M. C. **Fisiologia do crescimento inicial e do florescimento de *Paepalanthus speciosus* Koern.** 1999. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás-UFG, Goiânia/GO, 1999.

Sá e CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, M.C. Efeito do armazenamento e de reguladores de crescimento na germinação de *Paepalanthus speciosus*, Eriocaulaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.17, n.1, p.61-65, 1994b.

SÁ e CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, M.C. Efeitos de choques térmicos na germinação de *Paepalanthus speciosus* Koern (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana,

v. 8, n. 2, p. 205-211, 1994a. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/abb/v8n2/v8n2a05.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

SANO, P.T.; GIULIETTI, A.M.; COSTA, F.N.; TROVO, M.; ECHTERNACHT, L.; TISSOT-SQUALLI, M.L.; WATANABE, M.T.C.; HENSOLD, N.; ANDRINO, C.O.; PARRA, L.R. **Eriocaulaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7558>>. Acesso em: 05 fev. 2018.

SANO, P.T.; GIULIETTI, A. M. (Coord.). Eriocaulaceae In: WANDERLEY, M.G.L.; MARTINS, S. E.; ROMANINI, R. P.; MELHEM, T. S.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R.; KIRIZAWA, M.; MELO, M.M.R.F.; CORDEIRO, I.; KINOSHITA, L.S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo, v. 7, p. 173-200, 2000.

SENA, C. M. **Sementes Florestais: Colheita, Beneficiamento e Armazenamento**. Claudius Monte de Sena, Maria Auxiliadora Gariglio. __ Natal : MMA. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Departamento de Florestas. Programa Nacional de Florestas. Unidade de Apoio do PNF no Nordeste, Guias Técnicos, n. 2, 2008. 28p. Disponível em:
<http://www.mma.gov.br/estruturas/203/_arquivos/guia_de_sementes_final_203.pdf>. Acesso em: 07 dez. 2017.

SEO, M.; NAMBARA, E.; CHOI, G.; YAMAGUCHI, S. Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. **Plant Molecular Biology**, n.69, p.463-472, 2009. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11103-008-9429-y.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

SILVA, R. G. **Permeabilidade a água e germinação de sementes heteromórficas de *Bowdichia virgilioides* Kunth**. 2015.40 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Estadual Paulista-UNESP, Botucatu, SP, 2015. Disponível em:
<<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/136091/000858852.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

VASCONCELOS, V.; MARTINS, E. S.; REATTO, A.; COUTO JUNIOR, A. F.; CARVALHO JUNIOR, O. A.; SANTOS, W. C.; LIMA, L. A. S.; CASTRO, K. B.; XAVIER, D.; PASSO, D. P.; GOMES, R. A. T. Caracterização de uma Topossequência no Parque Nacional da Serra da Canastra, MG. Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, 2010, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento n. 277. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/916144/caracterizacao-de-uma-topossequencia-no-parque-nacional-da-serra-da-canastra-mg>>. Acesso em: 05 abr. 2017.

VENTURI, S.; RANDI, A. M. Influência da coloração das sementes na germinação de *Phyllanthus tenellus* Roxb. e *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana, v.11, n.1, p.87-94, 1997. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/abb/v11n1/v11n1a09.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

VIEIRA, D. C. M.; SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germinação de sementes de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas em luz e escuro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.30, n.2, p.183-188, 2007. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v30n2/v30n2a03.pdf>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

WALTER, B.M.T. **Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas**. 2006. 388 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília - UnB, Brasília, DF, 2006. Disponível em:
<http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/3086/1/2006_BrunoMachadoTelesWalter.pdf>.
Acesso em: 09 maio. 2017.

CAPÍTULO III

Micropropagação da sempre-viva *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES. **Germinação de diásporos emicropropagação da sempre-viva *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae).** 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.¹

RESUMO

O estabelecimento *in vitro* de espécies ornamentais nativas a partir de sementes tem sido empregado no sentido de evitar a eliminação de indivíduos, minimizando os impactos sobre as populações naturais. Não existem relatos na literatura sobre a micropropagação de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog, uma sempre-viva de características singulares distribuída no campo rupestre da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo da Serra Dourada em Mossamedes-GO. Esses resultados servirão de base não somente para pesquisas futuras da espécie como também para a multiplicação de sempre-vivas em risco de extinção. Os experimentos foram conduzidos em três etapas, na primeira, foi desenvolvido um ensaio para desinfestação de diásporos com soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (NaClO) (5, 10, 30 e 50%). A segunda etapa envolveu a utilização de diferentes citocininas (2iP, BAP, TDZ e KIN) e uma auxina (ANA) na fase de multiplicação *in vitro*, todas na dosagem de 1 mg L⁻¹. A terceira etapa foram utilizadas concentrações de ANA com a presença de carvão ativado, para o enraizamento *in vitro*. No estabelecimento *in vitro*, a solução contendo 30% de hipoclorito de sódio comercial foi a mais eficiente para a desinfestação dos diásporos de *P. chiquitensis* e permitiu melhor germinabilidade. Embora a espécie consiga se desenvolver sem a presença de citocininas ou auxinas exógenas no meio de cultura, o uso de 2iP associado ao ANA na fase de multiplicação, permitiu maior crescimento da parte aérea e, no enraizamento a concentração de 0,25 mg L⁻¹ de ANA juntamente com carvão ativado, possibilitou os melhores resultados para o sistema radicular.

Palavras-chave: Espécie ornamental. Campos rupestres. Bioma Cerrado. Estabelecimento *in vitro*. Multiplicação *in vitro*. Enraizamento *in vitro*.

¹ Orientadora: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

CHAPTER III

Micropropagation of the evergreen *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)

CAROLLAYNE GONÇALVES MAGALHÃES. **Germination of diaspores and micropropagation of the evergreen *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae).** 2018. 82 f. Dissertation (Master Degree in Agronomy/Phytotechnology), Federal University of Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG.²

ABSTRACT

The *in vitro* establishment of native ornamental species from seeds has been applied in the sense of avoiding the elimination of individuals, minimizing the impacts on natural populations. There are no reports in the literature on the micropropagation of *Paepalanthus chiquitensis* Herzog, an evergreen with unique characteristics distributed in the rupestrian field of the José Ângelo Rizzo da Serra Dourada Biological Reserve in Mossamedes-GO. These results will serve as a basis not only for future research on the species but also for the multiplication of evergreens at risk of extinction. The experiments were carried out in three stages, firstly, an experiment was carried out for diasporic disinfestation with solutions containing commercial sodium hypochlorite (NaClO) (5, 10, 30 and 50%). The second step involved the use of different cytokinins (2iP, BAP, TDZ and KIN) and an auxin (ANA) in the *in vitro* multiplication phase, all at a dosage of 1 mg L⁻¹. The third step was used ANA concentrations with the presence of activated carbon for *in vitro* rooting. In the *in vitro* establishment, the solution containing 30% commercial sodium hypochlorite was the most efficient for the disinfestation of *P.chiquitensis* diaspores and allowed better germinability. Although the species can develop without the presence cytokinins or exogenous auxins in the culture medium, the use of 2iP associated to the ANA in the multiplication phase, allowed greater growth of the aerial part and in the rooting the concentration of 0,25 mg L⁻¹ of ANA together with activated carbon, allowed the best results for the root system.

Keywords: Ornamental species. Rock fields. Closed Biome. *In vitro* establishment. *In vitro* multiplication. *In vitro* rooting.

²Advisor: Profa. Dra. Denise Garcia de Santana

1.INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos vegetais possibilita a conservação de germoplasmas em coleções *in vitro* e a multiplicação de espécies nativas permitindo a elevada produção de plantas por meio de explantes vegetais em curto período de tempo e de espaço físico (SANTOS et al., 2006; BORSOI, 2009; PÊGO, 2009). Essa possibilidade torna-se ainda mais expressiva para sempre-vivas da família Eriocaulaceae, como *Paepalanthus chiquitensis* Herzog, em função da monocarpia, comumente associada à morte do indivíduo depois do evento reprodutivo, inviabilizando a multiplicação vegetativa de indivíduos superiores.

O estabelecimento *in vitro* de plantas ornamentais nativas a partir de sementes ou unidades de dispersão tem sido bastante empregado por evitar a eliminação de indivíduos minimizando os impactos sobre as populações naturais. Apesar do maior tempo gasto para a obtenção das mudas, um dos benefícios do uso de sementes é a menor possibilidade de contaminação do meio de cultivo quando comparadas com a propagação por meio de tecidos extraídos de plantas matrizes (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; BELLINTANI et al., 2007; GOLLE, 2007). Outra vantagem é que materiais juvenis estabelecidos são mais responsivos aos hormônios empregados nas fases subsequentes (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Um aspecto muito importante dessa etapa, porém problemático em algumas situações, consiste na assepsia do material, geralmente feita com soluções contendo algum sanitizante à base de cloro, como o hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$), menos tóxico, ou de sódio (NaClO), sendo o segundo, utilizado com mais frequência em função do baixo custo. Esses produtos são empregados no intuito de eliminar micro-organismos do tecido vegetal como bactérias, leveduras e fungos filamentosos, sem danificá-lo, o que nem sempre acontece durante os procedimentos de desinfestação (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; DANTAS et al., 2002; RESENDE, 2009; LÉON, 2010). A atuação do hipoclorito de sódio para a desinfestação de diásporos da família Eriocaulaceae no cultivo *in vitro* ainda é desconhecida. Pesquisas são necessárias para buscar o equilíbrio entre a concentração de sanitizante e o tempo de assepsia para os diásporos de *P. chiquitensis*, visto que, cada espécie necessita de um protocolo específico para desinfestação e a ineficácia desse procedimento pode comprometer as outras etapas da micropropagação.

Plântulas provenientes do estabelecimento *in vitro* são mantidas em meios nutritivos e adotadas como explantes na multiplicação. Em todas as fases que compõem o processo, meios de cultura, como o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e o WPM (Wood Plant Medium,

1981), são necessários para o desenvolvimento vegetal, sendo o WPM muito utilizado para espécies lenhosas e sugerido para algumas sempre-vivas (PAIXÃO-SANTOS et al., 2003; BELLINTANI et al., 2007; PÊGO, 2009; ALBUQUERQUE, 2013; PRUDENTE et al., 2015). Nesses meios, a concentração de sais e, especialmente os açúcares, estão relacionados às exigências nutricionais das plantas, por influenciar em vários processos metabólicos tais como o crescimento celular, morfogênese e suprimento da demanda de carboidratos, principalmente em diásporos de pequeno tamanho e com baixa quantidade de reservas, como *P. chiquitensis* que possui 5 mm² (RIBEIRO, 1999; DIGNART, 2006; FREITAS NETO, 2009).

A suplementação com reguladores de crescimento nesses meios de cultura, de forma isolada ou combinada, com auxinas naturais (AIA-ácido indolacético), ou sintéticas (AIB-ácido indolbutírico e ANA-ácido naftalenoacético) e citocininas exógenas (2iP-2-isopenteniladenina, BAP-6-benzilamino-purina, TDZ- thidiazuron e KIN-cinetina-6-furfurilaminopurina) também são de suma importância para o sucesso do cultivo *in vitro*. A presença de auxina é essencial para o alongamento e divisão celular promovendo a formação de calos, expansão de tecidos, raízes e embriogênese somática e as citocininas, promovem o crescimento e formação de brotações múltiplas (GEORGE, 1993; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; TAIZ; ZEIGER, 2008). É essencial verificar a influência desses reguladores isoladamente, principalmente em *P. chiquitensis* que apresenta bom desenvolvimento da parte aérea, mas lenta formação do sistema radicular.

Apesar de não haver relatos científicos da micropropagação de *P. chiquitensis*, algumas pesquisas com outras espécies de sempre-vivas da família Eriocaulaceae apontaram resultados importantes na germinação e na aclimatização de *Actinocephalus bongardii* (A. St.-Hil.) Sano (PRUDENTE et al., 2015), na conservação de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti subsp. *mucugensis* (LIMA-BRITO et al., 2011), no estabelecimento, regeneração e conservação de *Comanthera mucugensis* subsp. *mucugensis* e *Comanthera curralensis* Moldenke (ALBUQUERQUE, 2013; ALBUQUERQUE et al., 2016), bem como na germinação, multiplicação e calogênese de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti (PAIXÃO-SANTOS et al., 2003; SILVA et al., 2005a,b; SANTOS et al., 2006; SANTOS et al., 2008), estabelecimento, multiplicação e aclimatização de *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland (PÊGO 2009; PÊGO et al., 2014) e estabelecimento, multiplicação e aclimatização de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland (PÊGO, 2009; PÊGO et al., 2013).

De beleza singular, *P. chiquitensis* é uma espécie prioritária nas pesquisas sobre propagação e cultivo por sua representatividade na família Eriocaulaceae, alto potencial de

exploração econômica e importância socioambiental nos ambientes de ocorrência. Os resultados desse trabalho são os primeiros relatos sobre o cultivo *in vitro* de *P. chiquitensis* servindo como base para estudos futuros com a espécie, ou para a multiplicação de sempre-vivas em risco de extinção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Descrição morfológica da espécie

O nome *chiquitensis* é uma referência à província de Chiquitos, departamento de Santa Cruz, localizada na Bolívia, local onde Theodor Carl (Karl) Julius Herzog fez a identificação da espécie no ano de 1924. No entanto *Paepalanthus speciosus* (Bong.) Körn e *Paepalanthus amoenus* (Bong.) Körn, var. de *Bolivianus*, também são sinonímias encontradas na literatura. A inflorescência comumente única, é desenvolvida a partir de um ápice reprodutivo da parte aérea (PHILIPSON, 1946). A planta possui entre 1,0 e 2,5 m de altura, caule aéreo curto, folhas planas, persistentes e rosuladas; o eixo reprodutivo é ereto, com variação no comprimento de 0,8 m a 2,2 m. As brácteas florais possuem coloração creme a castanho escuro, lineares a espatuladas, com ápice agudo a obtuso, ciliadas e membranáceas, com dimensão de 3 x 0,5 mm. Os capítulos são alvos com 5-12 mm de diâmetro, compostos por aproximadamente 500 flores 2-meras (dímeras). Os escapos florais são glabros, livres entre si, reunidos em um conjunto de 240 a 450 por indivíduo, medindo entre 10 e 30 cm de comprimento, com coloração verde a castanho (ANDRINO et al., 2015). A geminação é classificada como hipógea e as plântulas são criptocotiledonares, podendo ocorrer a presença de frutos do tipo cápsula dicoca, isto é, com dois embriões. Os diásporos são do tipo intermediário, subglobosos, glabros flávidos e ligeiramente amarelados, com longevidade de até oito meses após o armazenamento (PIO CORRÊA, 1984; SÁ e CARVALHO; RIBEIRO, 1994). Os diásporos da espécie dispersam em envoltórios de fibras, neste trabalho, o fruto sem essas estruturas foi denominado de diásporo.

2.2 Coleta das inflorescências e beneficiamento dos diásporos

Inflorescências de 36 indivíduos georreferenciados de *P. chiquitensis* foram coletadas manualmente no campo rupestre da Reserva Biológica José Ângelo Rizzo da Serra Dourada, em Mossâmedes-GO. Das amostras coletadas, apenas 30 indivíduos apresentaram diásporos e nos outros seis indivíduos a produção de diásporos foi inexistente. As amostras foram retiradas com auxílio de uma tesoura de poda permanecendo em sacos de papel para secagem natural até o início do beneficiamento. Na parte do capítulo que contém os diásporos, as estruturas de dispersão apresentam-se eriçadas, formando uma ou mais linhas distinguíveis em torno do capítulo e foram retiradas utilizando-se pinças de metal. Além dos diásporos,

quantidades consideráveis de restos florais foram geradas e separadas por peneira. Depois de peneirar, cada diásporo foi separado manualmente das suas estruturas de dispersão (envoltório de fibras). Até a instalação dos experimentos, os diásporos permaneceram armazenados em sacos de papel à temperatura de 19 °C e 35% de umidade relativa.

Os experimentos foram divididos em três etapas. Na primeira, foi desenvolvido um ensaio para desinfestação de diásporos, com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (NaClO). A segunda etapa envolveu a utilização de diferentes citocininas, no intuito de se identificar a mais eficiente para a fase de multiplicação e na terceira etapa, foram utilizadas diferentes concentrações de ANA (ácido naftalenoacético) para o enraizamento *in vitro*.

2.3 Estabelecimento *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog

Os procedimentos de assepsia e inoculação dos diásporos foram realizados em câmara de fluxo laminar com delineamento inteiramente casualizado e quatro percentuais de hipoclorito de sódio (5, 10, 30 e 50% da solução comercial contendo de 2 a 2,5% de NaClO). Cada tratamento apresentava quatro repetições compostas por seis frascos contendo cinco diásporos em cada, totalizando 96 frascos. Previamente, os diásporos de *P. chiquitensis* foram colocados em tubos de ensaio plástico com tampa e desinfestados com álcool 70% por 1 minuto, sendo essa solução descartada. Posteriormente, os diásporos foram imersos por 20 minutos, sob agitação, em cada uma das soluções de hipoclorito (5, 10, 30 e 50%), contendo duas gotas de detergente. Antes da inoculação, os diásporos foram lavados quatro vezes em água destilada e autoclavada.

A inoculação foi feita em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 100% da concentração de sais, em frascos de vidro transparente (66,5 mm de diâmetro x 130 mm de altura) com capacidade para 200 mL, contendo 30 mL de meio de cultura, suplementado com 15 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com 1,8 g L⁻¹ de phytigel. O pH foi ajustado para 5,7 e o meio de cultura autoclavado a 121 °C e 1,2 atm de pressão por 20 minutos. Os frascos foram devidamente identificados, vedados com tampas de polipropileno e filme PVC. O material permaneceu em sala de crescimento convencional com fotoperíodo de 16/8 horas de luz/escuro e temperatura de 25 ± 2°C, sob intensidade de 6,00 μmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas brancas fluorescentes.

A contagem diária do número de diásporos germinados e contaminados ocorreu sempre no mesmo período entre as 11:00 h e 13:00h ao longo de 30 dias, utilizando-se como critério de germinação a protrusão da radícula. Na avaliação foram consideradas como

contaminações primárias aquelas provenientes do próprio diásporo e secundárias, as do meio de cultura, ou as provenientes de outros diásporos.

Entre as características, analisaram-se os percentuais de contaminações primárias e secundárias, a germinabilidade, percentual de formação de plantas, tempos inicial, médio e final de germinação, coeficiente de variação do tempo e sincronia (RANAL; SANTANA, 2006). Para comparação, foram utilizados os modelos lineares generalizados, distribuição Binomial e função de ligação logit.

2.4 Multiplicação *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog

Das plântulas obtidas a partir de diásporos tratados com as soluções de hipoclorito (5, 10, 30 e 50%), 60 apresentavam, aos quarenta e seis dias, rosetas com folhas de tamanho entre 1 a 2 cm e cerca de 10 a 12 folhas e foram utilizadas como explantes. A inoculação ocorreu dentro de câmara de fluxo laminar, com o auxílio de pinças e em frascos de vidro transparentes com a mesma capacidade e quantidade de meio, sendo também identificados, vedados e mantidos em sala de crescimento convencional nas mesmas condições do experimento 1.

A repicagem foi feita para o meio de cultura, MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 100% da concentração de sais, sendo o preparo, ajuste de pH e autoclavagem realizados de forma semelhante ao primeiro experimento, acrescido no entanto, de uma auxina (1 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético-ANA) e quatro tipos de citocininas, todas na dose de 1 mg L⁻¹. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com os tratamentos formados pelas quatro citocininas (2iP-2-isopenteniladenina, BAP-6-benzilamino-purina, TDZ- thidiazuron e KIN-cinetina-6-furfurilaminopurina) e uma testemunha (sem a utilização de auxina e citocinina) com quatro repetições por tratamento. Cada repetição foi composta por três frascos, contendo uma plântula em cada, totalizando 60 frascos.

Aos sessenta e quatro dias da inoculação, foram analisados o diâmetro da roseta, número e comprimento das folhas vivas e massas da matéria fresca e seca da parte aérea. A massa seca foi determinada após a secagem das plântulas em estufa com circulação forçada de ar, a 67 °C ± 2 °C durante 7 dias, tempo necessário para que o material atingisse massa constante. Tanto a massa fresca quanto a massa seca foram mensuradas com auxílio de balança analítica digital, com precisão de 0,0001 g.

As características foram testadas quanto às pressuposições de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias a 0,01 de significância e a testemunha foi

comparada com todos os tratamentos pelo teste de Dunnet a 0,05 de significância. Todas as médias foram analisadas pela ANOVA, tendo os efeitos dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey a 0,05 de significância. A falta de homogeneidade para a característica massa fresca da parte aérea levou à transformação dos dados do tipo raiz quadrada ($\sqrt{x + 0,5}$).

2.5 Enraizamento *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog

2.5.1 Germinação de diásporos e obtenção das plântulas

Os procedimentos de assepsia e inoculação dos diásporos foram realizados em câmara de fluxo laminar. Os diásporos de *P. chiquitensis* foram desinfestados e inoculados de forma semelhante ao primeiro experimento, utilizando-se, no entanto, a solução contendo 30% de hipoclorito de sódio comercial. O preparo, ajuste de pH e autoclavagem do meio de cultura também foram realizados como citado no item 3.3. A primeira germinação foi constatada nove dias após a inoculação, seguindo o mesmo critério de germinação do experimento 1.

2.5.2 Transplântio das plântulas e variações de auxina

Aos cinco meses da inoculação dos diásporos, as plantas foram transferidas por meio de pinças para um outro meio de cultura, MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 100% da concentração de sais, suplementado com 20 g L⁻¹ de sacarose, 2 g L⁻¹ de carvão ativado e solidificado com 7 g L⁻¹ de ágar. Usou-se o delineamento inteiramente casualizado, com oito concentrações de ANA (0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹) e duas testemunhas sem a presença de auxina (com presença e ausência de carvão ativado) em quatro repetições, compostas por cinco frascos, contendo 50 mL de meio e uma planta em cada, totalizando 200 frascos. O carvão ativado foi utilizado com o objetivo de fisicamente simular a condição de escuro, que favorece o desenvolvimento do sistema radicular, e quimicamente, adsorver elementos inibidores do enraizamento *in vitro* (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LEITZKE et al., 2009). Em toda a fase de enraizamento *in vitro*, item 3.5, o material permaneceu em sala de crescimento convencional nas mesmas condições do item 3.3 e 3.4, com exceção da intensidade luminosa que foi de 12,2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Aos cinquenta e dois dias do transplântio, analisou-se a porcentagem do enraizamento (com base no número de plantas enraizadas por repetição) comprimento das raízes e a massa

da matéria fresca e seca do sistema radicular. Os procedimentos para secagem e mensuração da massa fresca e seca do sistema radicular foram realizados de forma semelhante ao que foi feito para a parte aérea, descrito no item 3.4. Essas características foram testadas quanto às pressuposições de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias a 0,01 de significância e cada testemunha comparada com os demais tratamentos pelo teste de Dunnett a 0,05 de significância. Com exceção do comprimento das raízes, as variáveis não atenderam as pressuposições por Levene e Kolmogorov-Smirnov, mesmo com transformação de dados. Neste caso, prosseguiu-se com a comparação de médias sem transformação pela ANOVA, foi utilizado o teste de Scott-Knott a 0,05 de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinabilidade de 83,99% obtida para diásporos desinfestados com a solução contendo 30% de hipoclorito do sódio comercial indicou, num primeiro momento, baixo efeito inibidor do hipoclorito sobre a germinação (Figura 1). Cabe destacar, a diferença desse resultado em comparação com os percentuais de germinação *in vitro* de diásporos não desinfestados de *Swietenia macrophylla* King (mogno), $G = 1,8\%$, (COUTO et al., 2004) e de *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr. (gabijuzeiro, sem registro de germinação (SOUZA et al., 2011). Todavia, as porcentagens de plântulas foram extremamente baixas em comparação com o número de diásporos germinados em todas as concentrações de hipoclorito (cerca de metade dos diásporos se transformaram em plântulas) (Figura 1).

Esse efeito prejudicial do hipoclorito sobre a formação das plântulas deve-se à ação desinfestante do ácido hipocloroso, presente no sanitizante. O ácido hipocloroso (HClO) é resultante da hidrólise dos componentes clorados. Como todos os hipocloritos, o NaClO é um sal do HClO que ao reagir com H_2O forma os íons Na^+ e ClO^- e uma porção é hidrolisada em ácido hipocloroso com alto poder oxidante ($NaOCl + H_2O = Na^+ + OH^- + HClO + Cl_2$). Essa reação eleva o pH da água (SOUZA et al. 2006; RESENDE, 2009) e as formas predominantes de cloro, ácido hipocloroso e o íon hipoclorito, são corrosivas principalmente em concentrações elevadas; ao entrar em contato com o endosperma, provoca reações de oxidação e degradação de lignina na parede celular (HISE, 1996).

Considerando que a efetiva embebição de água de *P. chiquitensis* ocorre com menos de 30 minutos e que o tempo de imersão nas soluções foi de 20 minutos, acredita-se que a rápida absorção da solução contendo hipoclorito de sódio possa ter ocasionado danificações nas células, diminuindo a capacidade seletiva das membranas que favorece mais ainda a absorção de hipoclorito (SOFIATTI et al., 2008). Essa pode ter sido uma das causas dos problemas encontrados na formação de plântulas.

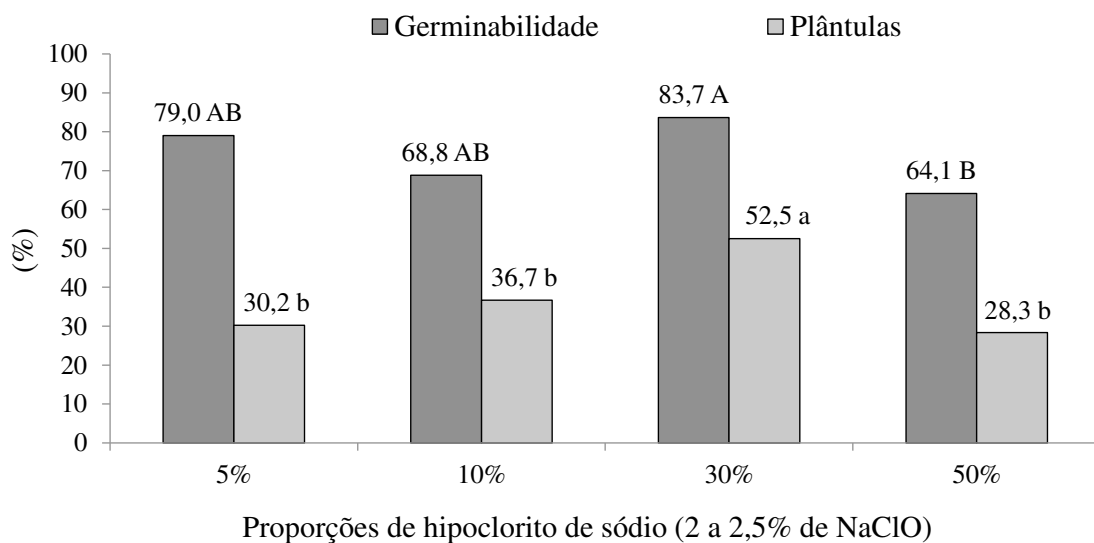


Figura 1. Germinabilidade e porcentagem de plântulas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) originados da desinfestação dos diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Letras maiúsculas para germinabilidade e minúsculas para plântulas. Fonte: Arquivo pessoal.

O início do aparecimento de fungos ocorreu três dias após a inoculação, porém os percentuais de contaminação primária foram baixos e atingiram o máximo de 5%, mesmo na menor concentração (5% da solução de hipoclorito de sódio) (Figura 2). A contaminação secundária, superior a primária, atingiu cerca de 15% na proporção de 10% de hipoclorito de sódio comercial. Contudo, como a contaminação secundária é decorrente de outros fatores, entre elas a contaminação do meio ou a proximidade com diásporos contaminados, a expressão tem pouca relação com o hipoclorito de sódio. Dentre os diásporos contaminados, observou-se que a maioria foi capaz de germinar, entretanto muitos resultaram em plântulas com alguma anormalidade. Dentre as anormalidades estavam, folhas de coloração verde claro, parcialmente ou completamente despigmentadas, baixo crescimento e má formação da parte aérea e radicular.

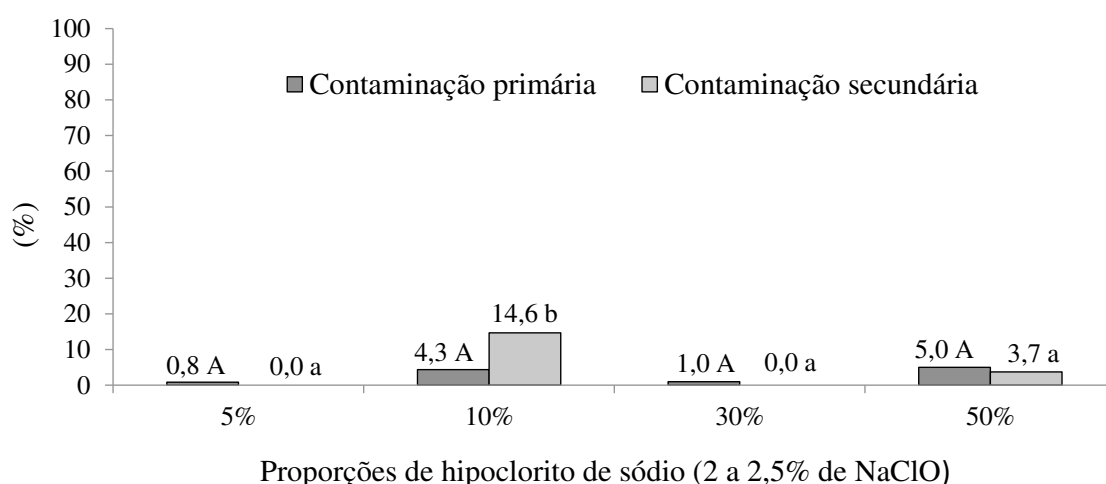


Figura 2. Percentuais de contaminação primária e secundária de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) estabelecidos *in vitro* a partir de diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Letras maiúsculas para contaminação primária e minúsculas para secundária. Fonte: Arquivo pessoal.

Embora não existam pesquisas sobre a desinfestação de diásporos de *P. chiquitensis* no cultivo *in vitro*, pesquisas demonstraram a eficiência do hipoclorito de sódio em concentrações entre 2 e 5% de cloro ativo por 10 a 30 minutos para *S. macrophylla* (COUTO et al., 2004), *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. Ex Steud. (louro-pardo) (FICK et al., 2007), *Ananas comosus* L. Merrill. (abacaxi) (MORAES et al., 2007) e *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr. (gabijuzeiro) (SOUZA et al., 2011). Nos trabalhos sobre germinação *in vitro* com sempre-vivas, a desinfestação foi feita com a solução comercial pura contendo 2,5% de NaClO por 10 ou 15 minutos, porém sem relatos quanto ao efeito do produto sobre a germinação e formação das plântulas de *S. mucugensis* Giulietti (10 e 15 min) (PAIXÃO-SANTOS et al., 2003; SILVA et al., 2005b), *C. curralensis* Moldenke (10 min) (ALBUQUERQUE, 2013), *Actinocephalus bongardii* (A. St.Hil.) Sano (10 min) (PRUDENTE et al., 2015), *S. elegantulus* Ruhland (10 min) (PÊGO, 2009; PÊGO et al., 2013) e *S. elegans* (Bong.) Ruhland (10 min) (PÊGO, 2009; PÊGO et al., 2014). Portanto o presente trabalho de modo inédito, oferece pistas sobre a ação deletéria do hipoclorito de sódio no desenvolvimento de plântulas de *P. chiquitensis*.

A primeira germinação *in vitro* foi constatada aos nove dias da inoculação e o tempo final em torno de 25 dias, isso evidencia pouca relação da concentração de hipoclorito de sódio comercial com a germinação de diásporos de *P. chiquitensis* (Figura 3). Resultado idêntico em relação ao hipoclorito ocorreu com o tempo médio que variou de 12,8 a 14,8 dias.

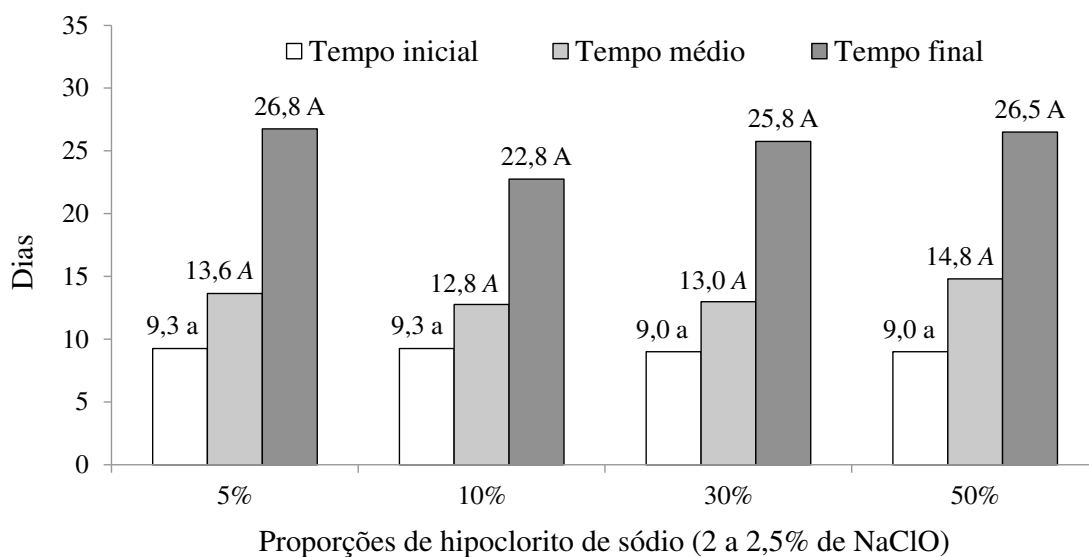


Figura 3. Tempos inicial, médio e final da germinação *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) originados da desinfestação dos diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Letras minúsculas para tempo inicial, maiúsculas em itálico para tempo médio e maiúsculas sem itálico, para tempo final. Fonte: Arquivo pessoal.

Aos trinta dias da inoculação, o processo germinativo ainda não havia se estabilizado (Figura 4), mas a quantidade de plântulas era suficiente para a realização do ensaio de multiplicação *in vitro*, optando-se pela finalização. O processo foi caracterizado como assíncrono e espalhado no tempo, com baixa frequência relativa (Figura 4), constatado pelos altos valores obtidos para o coeficiente de variação do tempo (entre 126,04 e 181,80%) e baixos valores de sincronia, próximos de zero (entre 0,096 e 0,207). Os maiores picos e frequências de germinação ocorreram entre o 8º e 14º dia após o início da germinação (Figura 4).

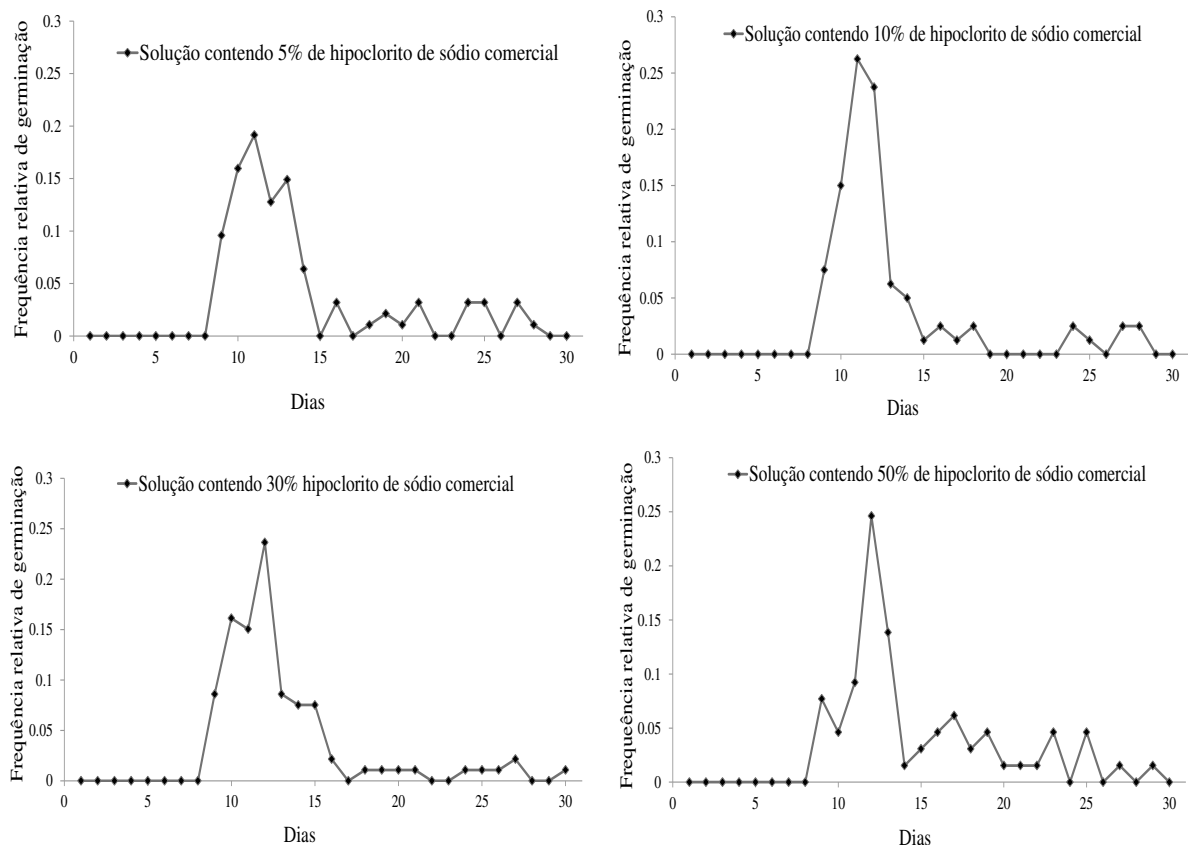


Figura 4. Frequência relativa da germinação *in vitro* de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) originadas da desinfestação dos diásporos em soluções contendo hipoclorito de sódio comercial (2 a 2,5% de NaClO). Fonte: Arquivo pessoal.

O acréscimo ao meio MS de 1 mg L⁻¹ de auxina (ANA) e 1 mg L⁻¹ das citocininas (2iP, BAP e KIN) possibilitou aumento do diâmetro de roseta, número e comprimento de folhas de *P. chiquitensis*. As plantas da testemunha também apresentaram bom crescimento da parte aérea, mas com menores incrementos de massa seca e fresca (Tabela 1). A capacidade dessa espécie em se desenvolver sem o regulador pode ser explicada pelo fato das citocininas, em alguns casos, serem dispensáveis no meio de cultura, uma vez que muitos tecidos vegetais possuem a capacidade de se desenvolver apenas com a suplementação de auxinas (OZIAS-AKINS; VASIL, 1985). Essa característica é benéfica do ponto de vista financeiro, porque promove a redução e economia de reagentes químicos. A incorporação ao meio MS de 2iP ou BAP associados ao ANA causou maior acúmulo de massa da matéria fresca da parte aérea, porém para massa da matéria seca apenas a incorporação de 2iP foi superior (Tabela 1). Não foi constatada a presença e/ou formação de raízes nas plantas, em nenhum dos tratamentos.

Tabela 1. Características da parte aérea de plantas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) desenvolvidas em meio de cultura contendo auxina e citocininas.

Reguladores de crescimento ¹ (1 mg L ⁻¹ +1 mg L ⁻¹)	Características				
	<i>DR</i> (mm)	<i>NFV</i>	<i>CF</i> (mm)	<i>MFA</i> (g)	<i>MSA</i> (g)
2iP+ANA	54,29 ab	19,75 a	92,31 a	3,4772 a*	0,2624 a*
BAP+ANA	66,23 a	17,66 a	74,76 a	2,8675 a*	0,1897 ab
KIN+ANA	67,35 a	18,29 a	76,84 a	1,3565 b	0,1597 b
TDZ+ANA	42,67 b*	10,00 b*	30,82 b*	3,2667 a*	0,2078 ab
Testemunha	62,85 ab	18,58 a	80,20 a	1,3379 b	0,1490 b
² Levene (homogeneidade)	2,918	1,250	0,797	4,516³	1,586
² Kolmogorov-Smirnov (normalidade dos resíduos)	0,096	0,100	0,119	0,105	0,129
Coefficiente de variação(%)	17,38	10,92	12,14	22,32	19,62
<i>DMS</i>	37,53	4,46	26,05	1,11	0,07

¹Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância; *Médias diferentes da testemunha pelo teste de Dunnet a 0,05 de significância. *DR*: Diâmetro da roseta; *NFV*: Número de folhas vivas; *CF*: comprimento da folha; *MFA* e *MSA*: massas da matéria fresca e seca da parte aérea, respectivamente; ²Pressuposições: valores sem negrito consistem em resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, a 0,01 de significância. ³Transformação: ($\sqrt{x + 0,5}$).

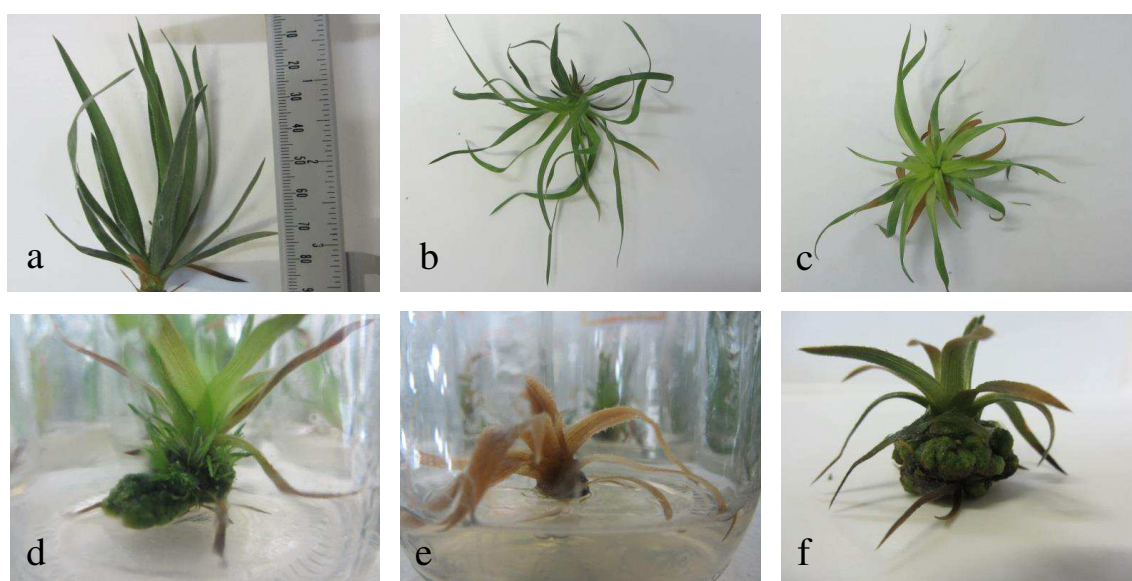


Figura 5. Plantas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) provenientes dos diferentes tratamentos. a. planta da testemunha indicando crescimento ereto e normal; b. planta submetida ao 2iP e c. planta submetida ao BAP, indicando falta de firmeza nas folhas ou crescimento prostrado; d. presença de calo friável em planta submetida ao BAP; e. planta submetida ao TDZ indicando mortalidade; f. presença de calo não friável em planta submetida ao TDZ. Escala: 1 cm (Figuras a, b, c, d, e, f). Fonte: Arquivo pessoal.

Apesar de apresentarem bom crescimento da parte aérea, com elevado número de folhas, maiores comprimentos e incrementos de massas fresca e seca (Tabela 1), algumas plantas submetidas ao 2iP mostraram-se com pouca firmeza (prostradas), dificultando a mensuração do diâmetro (Figura 5. b). Esse regulador também inibiu a formação de brotações

laterais, ao contrário do BAP, TDZ e testemunha (sem auxina e citocinina), em que foi observada a presença de brotos em muitas plantas. Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de que o 2iP e o KIN, em algumas espécies, favorecem apenas o crescimento, mas não a formação de calos ou brotações múltiplas (HU; WANG, 1983; MARTINS et al., 2014). Isso se deve à menor estabilidade e degradação mais rápida por meio da enzima natural citocinina oxidase e pela quebra da ligação dupla da cadeia lateral da molécula, em comparação com o BAP que é metabolizado mais rapidamente pelos tecidos vegetais do que reguladores sintéticos (GEORGE, 1993; BRZOBOHATY et al., 1994; CALDAS et al., 1998; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Na fase de multiplicação *in vitro* objetiva-se a produção de brotos vigorosos, por meio da utilização de citocininas exógenas, contudo em plantas de *P. chiquitensis*, constatou-se a presença de brotações laterais mesmo na ausência de reguladores. Essa é uma característica peculiar de algumas monocotiledôneas do Cerrado, como *S. mucugensis* subsp. *mucugensis* (sempre-viva) (CERQUEIRA et al., 2008) e *Vellozia flavicans* Mart. ex Schult. f. (canela-de-ema) (FREITAS NETO, 2009). Como nessas espécies, existe certa heterogeneidade na capacidade de emitir brotações em indivíduos de uma mesma população, podendo ocorrer a presença de plantas com perfilhamentos ainda no campo, isso sugere forte dominância apical (FREITAS NETO, 2009). No caso de espécies sujeitas a altas temperaturas e a restrições hídricas como *P. chiquitensis*, a emissão de brotações funciona como uma estratégia de perpetuação da espécie em estações de seca (CERQUEIRA et al., 2008; MELO et al., 2008).

A incorporação de BAP associado ao ANA, embora tenha sido eficiente para o crescimento da parte aérea (massa da matéria fresca), indução de brotações e calos friáveis (não compactos), resultou em plantas com pouca firmeza (prostradas) (Figura 5.c,d). Esse regulador todavia, caracterizou-se como uma opção de citocinina eficiente para a calogênese de *P. chiquitensis*. O alto número de brotações provavelmente está relacionado com a capacidade desse regulador em quebrar a dominância apical e a dormência de gemas laterais, que resulta na formação de brotos (GEORGE, 1993; DINIZ et al., 2004; BAKHTIAR et al. 2016). Dentre o grupo de citocininas empregadas na multiplicação *in vitro*, esse regulador é geralmente o mais eficiente no processo de multiplicação de estruturas aéreas e indução de gemas axilares, além disso destaca-se pelo menor custo de aquisição (MALIK et al., 2005; LEITZKE et al., 2010; ARAGÃO et al., 2011; SOARES et al., 2011).

Na literatura, os registros existentes sobre o cultivo *in vitro* de sempre-vivas da família Eriocaulaceae foram fundamentais para a discussão dos resultados de *P. chiquitensis*. O emprego de citocininas como o BAP nas concentrações de 0,4 mg L⁻¹ e 0,8 mg L⁻¹ levou a

formação de 71,25 e 68,75% de calos friáveis de *S. mucugensis* (SANTOS et al., 2008). Este mesmo regulador na concentração de 0,2 mg L⁻¹ também influenciou de forma significativa o número de brotos por explante na organogênese indireta de *C. mucugensis* subsp. *mucugensis* e a regeneração de calos via organogênese indireta de *C. curralensis* (ALBUQUERQUE, 2013).

O emprego de KIN resultou em plantas firmes, bem desenvolvidas com grande número de folhas vivas e os maiores diâmetros de roseta (Tabela 1), porém foi quase inexistente a presença de brotações. Assim como na testemunha, houve baixo incremento de massa de matérias fresca e seca. O KIN não é considerado uma citocinina eficiente para a indução de brotos, um fato relacionado ao sistema enzimático de clivagem do grupo furfúril da 6-furfúrilaminopurina, com o grupo de enzimas oxidase/desidrogenase (SILVEIRA et al., 2009; MARTINS et al., 2014; NISLER et al., 2016). Esse grupo de enzimas é responsável pela catalisação da degradação de citocininas, que promove a redução ou até mesmo a inibição desse regulador na quebra de dominância apical e resulta na ausência de brotações laterais (NISLER et al., 2016). Em função disso, essa citocinina não ajuda a quebrar a dominância, estimular a formação de brotos e, conseqüentemente, aumentar a produção de biomassa da parte aérea, refletindo em baixos incrementos de massa fresca e seca.

A interação dessa citocinina (KIN) com outros grupos de citocininas, juntamente com uma auxina, pode influenciar de forma diferenciada no desenvolvimento da parte aérea de monocotiledôneas de campos rupestres. A concentração de 0,1 mg L⁻¹ de KIN combinada com 0,225 mg L⁻¹ de BAP e 0,3 mg L⁻¹ de AIB possibilitou maior desenvolvimento da parte aérea, crescimento, formação de folhas e brotos vigorosos em *Vellozia flavicans* Mart. ex Schult. f. (canela-de-ema) (FREITAS NETO, 2009).

A utilização de TDZ na presença de ANA, ambas nas dosagens de 1 mg L⁻¹, além de quantitativamente reduzir o número e o comprimento das folhas, inclusive em relação a testemunha (Tabela 1) também causou anomalias como a formação de calos não friáveis (compactos) e alta mortalidade (Figura 5. e, f). O incremento considerável na massa da matéria fresca deve-se ao fato das plantas apresentarem maior peso em decorrência da grande quantidade de calos duros e anormais. A morte dessas plantas pode estar relacionada com o fato do TDZ possuir pouca efetividade na degradação da clorofila em algumas espécies, não retardando a senescência foliar (LEMOS; BLAKE, 1996), ou o desbalanço entre TDZ e ANA no meio de cultura pode ter prejudicado o seu desenvolvimento, conforme relatado para *Peltophorum dubium* Sprengel (cambuí), em que a combinação desses reguladores resultou na morte de alguns explantes (CANDIDO, 2013).

Em espécies de Eriocaulaceae, como *S. elegans* (Bong.) Ruhland, a formação de calos friáveis foi obtida com 0,5 ou 1,0 mg L⁻¹ de ANA e ausência de TDZ (PÊGO et al. 2014), assim como para *S. elegantulus* Ruhland, com essas mesmas concentrações de auxina e com 1,0 ou 2,0 mg L⁻¹ de TDZ (PÊGO et al. 2013). Nesse sentido, são necessários estudos adicionais sobre o efeito deste regulador na multiplicação *in vitro* de *P. chiquitensis* Herzog.

O potencial de enraizamento *in vitro* das plantas foi alto, em média 99%, porém com baixo número de raízes por planta, de coloração escura, frágeis e quebradiças, impossibilitando a contagem (Tabela 2). Concentrações acima de 1,5 mg L⁻¹ de ANA, associadas à presença de carvão ativado ao meio MS, assim como o meio MS sem qualquer auxina e sem carvão ativado, restringiram o comprimento radicular de *P. chiquitensis* (Tabela 2). Em contraponto, cabe destacar que doses abaixo de 1,5 mg L⁻¹ de ANA + carvão ativado não restringiram, mas também não estimularam o crescimento radicular das plantas pela semelhança com os comprimentos obtidos em plantas da testemunha (apenas com carvão ativado). Não houve alterações na massa da matéria fresca da raiz e a massa da matéria seca foi favorecida com as doses de 0,25 e 1,50 mg L⁻¹ de ANA.

Tabela 2. Características do sistema radicular de plantas de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae) submetidas a diferentes concentrações de auxina (ANA) e presença de carvão ativado.

ANA (mg L ⁻¹) + carvão ativado (2 g L ⁻¹)	Características			
	Enraizamento (%)	CR (mm)	MFR (g)	MSR (g)
0,00	100,00 a	42,01 a	0,1702 a	0,0189 b
0,25	100,00 a	48,90 a	0,2371 a*	0,0280 a
0,50	100,00 a	37,90 a	0,1308 a	0,0162 b
1,00	100,00 a	39,46 a	0,1486 a	0,0196 b
1,50	100,00 a	46,30 a	0,2040 a*	0,0247 a
2,00	100,00 a	31,07 b	0,1450 a	0,0166 b
2,50	100,00 a	32,19 b	0,1284 a	0,0154 b
3,00	100,00 a	31,81 b	0,1558 a	0,0180 b
4,00	95,00 a	32,00 b	0,1385 a	0,0156 b
Sem carvão ativado*	100,00 a	27,73 b	0,1647 a	0,0200 b
² Levene (homogeneidade)	9,000	1,268	1,323	1,085
² Kolmogorov-Smirnov (normalidade)	0,475	0,076	0,165	0,141
Coefficiente de variação (%)	3,18	45,67	75,69	73,12

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott a 0,05 de significância; *médias diferentes da testemunha (ausência de carvão) pelo teste de Dunnet a 0,05 de significância. CR: Comprimento das raízes; MFR e MSR: Massas da matéria fresca e seca do sistema radicular, respectivamente; ²Pressuposições: os valores sem negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, a 0,01 de significância.

A coloração e fragilidade das raízes pode ter relação com a quantidade de sacarose, ou de sais utilizados para suplementação do meio de cultura. Algumas espécies são sensíveis à presença desses componentes, necessitando de concentrações mais baixas para o seu desenvolvimento, principalmente em Eriocaulaceae distribuídas em locais com restrições hídricas e solos pobres. Dependendo da espécie, altas concentrações de sais tendem a prejudicar todas as fases do enraizamento *in vitro* (CENTELLAS et al., 1999). Em sempre-vivas da mesma família como *S. mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis* (LIMA-BRITO et al., 2011) e *C. curralensis* Moldenke (ALBUQUERQUE, 2013), o melhor desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular ocorreu com o cultivo em meio MS com metade das concentrações de sais (50%) e 15 g L⁻¹ de sacarose. Esse resultado sugere que a redução na concentração de sais e sacarose no meio MS também poderia influenciar positivamente no enraizamento de *P. chiquitensis*.

A presença de carvão ativado no meio de cultura, como utilizado para *P. chiquitensis*, favorece o crescimento de raízes de muitas espécies, especialmente as lenhosas (FIGUEIREDO, 2017). Quimicamente em função da capacidade de adsorver e modificar a composição do meio seja de componentes utilizados para o preparo, ou de substâncias tóxicas liberadas pelo próprio explante, que por sua vez, possuem ação inibitória (LEITZKE et al., 2009). A adsorção de substâncias pelo carvão deve-se à sua natureza amorfa e porosidade, que promove locais de ligação por onde se prendem as substâncias, resultando na adesão de moléculas (PAN; VAN STADEN, 1998; FIGUEIREDO, 2017).

Fisicamente o carvão permite a redução de luz na base, tornando o ambiente propício para a acumulação de auxina ou cofatores fenólicos, influenciando de forma positiva no crescimento de raízes (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LEITZKE et al., 2009; ERIG et al., 2004; FIGUEIREDO, 2017). A capacidade desse elemento em promover o alongamento do sistema radicular possui relação com os resultados observados na testemunha, contendo carvão em que as plantas foram muito mais responsivas ao antioxidante, em comparação com a maioria dos tratamentos contendo ANA. De certa forma, esse comportamento é um fator positivo, uma vez que a não utilização de auxina é desejável sob o aspecto econômico. Contudo para algumas espécies ornamentais nativas, a presença de auxina é essencial. Em *Cattleya bicolor* Lindl. (orquídea em extinção), os maiores comprimentos, massa fresca e seca do sistema radicular foram obtidos com doses superiores a 0,5 mg L⁻¹ de ANA empregada de forma isolada (SOUTO et al., 2010).

Outra função do carvão ativado é a de prevenir a formação indesejável de calos quando usado em conjunto com auxinas, isto porque, altas doses de auxina no meio de cultura

induzem a produção de calos em algumas espécies (FIGUEIREDO, 2017). Nesse sentido, o carvão não é considerado um regulador, mas tem a capacidade de melhorar ou regular o crescimento *in vitro* de plantas e raízes (CORRÊA et al., 2003), fato evidenciado em *P.chiquitensis* na fase de enraizamento. O contrário também foi verificado em *C. curralensis* cultivada em meio MS sem carvão, em que o uso de ANA, AIB e AIA de forma isolada, possibilitou a formação de raízes de alta qualidade e sem ramificações, mas com porcentagens de enraizamento e número de raízes extremamente baixos (ALBUQUERQUE, 2013).

O enraizamento é considerado a etapa que determina um processo de aclimatização mais eficiente, influenciando no estabelecimento da muda (LEITZKE et al., 2009). Existem na literatura diferentes métodos para estimular o desenvolvimento de raízes em espécies ornamentais nativas, sendo os mais frequentes o uso de carvão ativado, aumento ou redução de sacarose e sais do meio de cultura, auxinas de forma isolada, ou em conjunto e interações entre auxinas e citocininas (SILVA et al., 2005a; FREITAS NETO, 2009; PÊGO, 2009; SOUTO et al., 2010; RAIZER, 2011; GUSON et al., 2012; ALBUQUERQUE, 2013). Esses métodos evidenciam que cada espécie reage de uma forma e muitas dispensam o uso de auxinas e citocininas exógenas no meio de cultura, assim como *P. chiquitensis*. Porém este experimento mostrou que são necessários outros tipos de reagentes químicos para promover, ou acelerar o processo de formação das raízes.

4. CONCLUSÕES

No estabelecimento *in vitro*, a solução contendo 30% de hipoclorito de sódio comercial foi a mais eficiente para a desinfestação e germinabilidade de diásporos de *Paepalanthus chiquitensis* Herzog. Embora a espécie consiga se desenvolver sem a presença de citocininas, ou auxinas exógenas no meio de cultura, o uso de 2iP associado ao ANA na fase de multiplicação, permitiu maior crescimento da parte aérea e o uso de BAP, maior número de brotações. No enraizamento a concentração de 0,25 mg L⁻¹ de ANA, juntamente com carvão ativado, possibilitou os melhores resultados para o sistema radicular.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. M. S.; BRITO, A. L.; LIMA, A. P. P. S.; ALVIM, B. F. M.; SANTANA, J. R. F. *In vitro* establishment of *Comanthera curralensis*, “sempre viva” native of Chapada Diamantina – Bahia. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.46, n.6, p.991-995, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v46n6/1678-4596-cr-46-06-00991.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2017.
- ALBUQUERQUE, M. M. S. **Micropropagação e conservação *in vitro* de “sempre-vivas” nativas da Chapada Diamantina-BA**. 2013. 100 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana-UEFS, Feira de Santana, BA, 2013. Disponível em: <<http://rgv.web2207.uni5.net/dissertacoes.php?id=67>>. Acesso em: 16 abr. 2017.
- ANDRINO, C. O.; COSTA, F. N.; SANO, P. T. O gênero *Paepalanthus* Mart. (Eriocaulaceae) no Parque Estadual do Biribiri, Diamantina, Minas Gerais, Brasil. **Revista Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 2, p. 393-419, 2015. Disponível em: <https://rodriguesia-seer.jbrj.gov.br/index.php/rodriguesia/article/view/ID%201030/pdf_178>. Acesso em: 21 jun. 2017.
- ARAGÃO, A. K. O.; ALOUFA, M. A. I.; COSTA, I. A. O efeito do BAP (6-Benzilaminopurina) sobre a indução de brotos em explantes de Pau-Brasil. **Revista Cerne**, Lavras, v.17, n.3. p.339-345, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cerne/v17n3/v17n3a07.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2018.
- BAKHTIAR, Z.; MIRJALILI, M.; SONBOLI, A. *In vitro* callus induction and micropropagation of *Thymus persicus* (Lamiaceae), an endangered medicinal plant. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 16, n. 1, p. 48-54, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cbab/v16n1/1984-7033-cbab-16-01-00048.pdf>>. Acesso em: 05 jan 2018.
- BELLINTANI, M.C.; LIMA, C.C.; BRITO, A.L.; SANTANA, J.R.F.; DORNELLES, A.L.C. Estabelecimento *in vitro* de *Orthophytum mucugense* e *Neoregelia mucugensis*, bromélias endêmicas da Chapada Diamantina, Bahia - Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p.1101-1103, 2007. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/872/719>>. Acesso em: 05 dez. 2017.
- BORSOI, N.L. **Desinfecção de explantes e cultivo *in vitro* de piretro-da-dalmácia (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. Cv. Vacaria)**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitotecnia) – ESALQ/USP, Piracicaba, SP, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-05082009-103629/pt-br.php>>. Acesso em: 08 fev. 2017.
- BOSA, N.; CALVETE, E.O.; NIENOW, A.A.; SUZIN, M. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 207-210, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v21n2/a17v21n2.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2017.

BRZOBOHATY, B.; MOORE. I.; PALME. K. 1994. **Cytokinin metabolism: implications for regulation of plant growth and development**. Plant Molecular Biology 26: 1483–1497. <https://doi.org/10.1007/BF00016486>

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA (Eds.), **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, v 1. Embrapa-SPI/ Embrapa-CNPB, Brasília, DF, p. 87-132, 1998.

CANDIDO, D. F. **Cultivo *in vitro* de *Peltophorum dubium*. (sprengel) taubert: multiplicação, Senescência foliar e calogênese**. 2013. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria/UFSM, Santa Maria, RS, 2013. Disponível em: <<http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/8708/CANDIDO%2c%20DANIELI%20FERREIRA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 09 dez. 2017.

CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G. R. L.; MÜLLER, N. T. G.; ZANOL, G. C.; FLORES, R.; GOTTINARI, R. A. Efeito de auxinas sintéticas no enraizamento *in vitro* da Macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.181-186, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v34n2/8726.pdf>>. Acesso em: 08 jan. 2018.

CERQUEIRA, C. O.; FUNCH, L. S.; BORBA, E. L. Fenologia de *Syngonanthus mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis* e *S. curralensis* Moldenke (Eriocaulaceae), nos municípios de Mucugê e Morro do Chapéu, Chapada Diamantina, BA, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana, v.22, n.4, p.962-969, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v22n4/a07v22n4.pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2018.

CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; REIS, E. S.; SOUZA, A. V. Potencial do carvão ativado, filtro amarelo e interação fotoperíodo/temperatura na formação de raízes tuberosas de batata-doce *in vitro*. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n.3, p.423-430, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v33n3/a05v33n3.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2017.

COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e Germinação *in vitro* de sementes de Mogno (*Swietenia Macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.5, p.633-642, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v28n5/23401.pdf>>. Acesso em: 04 nov. 2017.

DANTAS, S.; OLIVEIRA, S.; CÂMARA, T. Contaminação microbiana no cultivo *in vitro* de plantas. In: LUZ, W. C. da (Org.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: 10 ed. Passo Fundo: RAPP, 2002, v.10, p. 391-407.

DIGNART, S.L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 139 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras/UFLA, Lavras, MG, 2006. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/2906/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Luz%20e%20sacarose%20na%20micropropaga%C3%A7%C3%A3o%20de%20Cattleya%20walkeriana%20altera%C3%A7%C3%B5es%20anat%C3%B4micas%20e%20fisiol%C3%B3gicas.pdf>. Acesso em: 06 dez. 2017.

DINIZ, J. D. N.; GOMES, S. O.; INNECCO, R.; ALMEIDA, J. L.; COSTA, J. T. A. Avaliação dos efeitos da quebra da dominância apical e do BAP na multiplicação *in vitro* de

Heliconia stricta Huber. **Revista Ciência Agronômica**, [S. l.], v.35, Número Especial, p.232-237, 2004.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W.; BRAGA, E. J. B. Enraizamento *in vitro* de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Carrick. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n1/a43v34n1.pdf>>. Acesso em: 09 dez. 2017.

FICK, T. A.; BISOGNIN, D. A.; QUADROS, K. M.; HORBACH, M.; REINIGER, L. R. S. Estabelecimento e crescimento *in vitro* de plântulas de Louro-Pardo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 4, p. 343-349, 2007. Disponível em: <<http://www.bioline.org.br/pdf?cf07038>>. Acesso em: 03 jan. 2018.

FIGUEIREDO, A. J. R. **Enraizamento *in vitro* de *eucalyptus cloeziana* f. Muell.** 2017. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT, Cuiabá, MT, 2017. Disponível em: <<http://www.ufmt.br/ufmt/unidade/userfiles/publicacoes/86d7278a97cc2ef6c9110c00712ee1ec.pdf>>. Acesso em: 22 dez. 2017.

FREITAS NETO, O. G. **Micropropagação e anatomia foliar de Canela-de-Ema (*Vellozia flavicans* Mart. ex Schult f.-Velloziaceae) em diferentes condições ambientais.** 2009. 82 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília/UnB, Brasília, DF, 2009. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/4450/1/2009_OlegarioGarciadeFreitasNeto.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2017.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** Part 1: the technology. 2. Ed. Edington: Exegetics, 1993. 574p.

GOLLE, D.P. **Germinação *in vitro* de *Pinus taeda* L. a partir de sementes selecionadas.** 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Santa Maria, RS, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/8740/Golle.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 19 maio. 2017.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq. p. 183-260. 1998.

GUSON, R. R.; MORAES, C. P.; RONCONI, C. C. Influência de diferentes concentrações de carvão ativado no crescimento e enraizamento *in vitro* de *cattleya pumila* Hook. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v.5, n.3, p. 551-563, 2012. Disponível em: <<http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/rama/article/view/2095/1725>>. Acesso em: 16 jul. 2017.

HISE, R. Chlorination. In: DENCE, C. W. REEVE, D. W. **Pulp bleaching – principles and practice.** Atlanta, Georgia-USA: Tappi Press, 1996. Seção IV, cap. 2, p.241-259.

HU, C. Y.; WANG P. J. 1983. Meristem, shoot tip and bud cultures. In: EVANS DA; SHARP WR; AMMIRATO PV; YAMADA Y. **Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding.** New York: Macmillan. p. 117-227.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de amoreira-preta 'xavante': efeito da concentração de sais, do tipo de explante e de carvão ativado no meio de cultura. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1959-1966, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v33nspe/45.pdf>>. Acesso em: 07 dez. 2017.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Influência do meio de cultura, tipo e concentração de citocininas na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta e framboeseira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.2, p.352-360, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v34n2/12.pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

LEMOS, E. E. P.; BLAKE, J. Control of leaf abscission in nodal cultures of *Annona squamosa* L. **Journal of Horticultural Science**, Maceio, v.71, n.5, p.721-728, 1996. <https://doi.org/10.1080/14620316.1996.11515452>

LÉON, E. A. B. **Germinação, estabelecimento, regeneração e calogênese *in vitro* em explantes de açoita-cavalo (*luehea divaricata* mart. & zucc.)**. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria/UFSM, Santa Maria, RS, 2010. Disponível em: <<http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/8668/LEON%2c%20ENRIQUE%20ASTERIO%20BENITEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 19 out. 2017.

LIMA-BRITO, A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; ALVIM, B. F. M.; RESENDE, S. V.; BELLINTANI, M. C.; SANTANA, J. R. F. Agentes osmóticos e temperatura na conservação *in vitro* de sempre-viva. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.8, p.1354-1361, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n8/a7611cr4619.pdf>>. Acesso em: 11 set. 2017.

MALIK S. K, CHAUDHURY R, KALIA R. K. Rapid *in vitro* multiplication and conservation of *Garcinia indica*: A tropical medicinal tree species. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 106, p.539-553, 2005. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0304423805001895/1-s2.0-S0304423805001895-main.pdf?_tid=d334868f-1ec1-404f-bd96-68a128a55f2e&acdnat=1524434462_8bc6da83311c7dbe62dda52a5e2d2d23>. Acesso em: 10 dez. 2017.

MARTINS, J. P. R.; SCHIMILDT, E.R.; ALEXANDRE, R.S.; CASTRO, E.M.; NANI, T.F.; PIRES, M.F.; PASQUAL, M. Direct organogenesis and leaf-anatomy modifications *in vitro* of *Neoregelia concentrica* (Vellozo) LB Smith (Bromeliaceae). **Pakistan Journal of Botany**, [S. l.], v. 46, p. 2179-2187, 2014. Disponível em: <[https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/46\(6\)/35.pdf](https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/46(6)/35.pdf)>. Acesso em: 07 jan. 2018.

MELO, J. T.; SILVA, J. A.; TORRES, R. A. A.; SILVEIRA, C. E. S.; CALDAS, L. S. 1998. **Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de espécies do cerrado**. p.195-246. In: S.M. Sano & S.P. Almeida (Org.). Cerrado: ambiente e flora. Embrapa, Planaltina.

MORAES, A. M.; ALMEIDA, F. A. C.; FILHO, J. C. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.1, n.2, p.39-44, 2007. Disponível em: <http://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-01-2007/volume-1-numero-2-dezembro-2007/tca06_biotec_abacaxi.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2018.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Plant Physiol**, [S. l.], v.15, p. 473-479, 1962.

NISLER, J.; KOPEČNÝ, D.; KONČITÍKOVÁ, R.; ZATLOUKAL, M.; BAZGIER, V.; BERKA, K.; ZALABÁK, D.; BRIOZZO, P.; STRNAD, M.; SPÍCHAL, L. Novel thidiazuron-derived inhibitors of cytokinin oxidase/dehydrogenase. **Plant Molecular Biology**, [S. l.], v.92, p.235-248, 2016.

OZIAS-AKINS, P.; VASIL, I. K. Nutrition of plant tissue cultures. In: VASIL, I. K. (Ed.). Cell culture and somatic cell genetics of plants: cell growth nutrition, cytodifferentiation, and cryopreservation. **Orlando: Academic Press**, v. 2, cap. 4, p. 129-147, 1985.

PAIXÃO-SANTOS, J.; DORNELLES, A. L. C.; SILVA, J. R. S.; RIOS, A. P. Germinação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, Feira de Santana, v.3, n. (1/2), p.120-124, 2003. Disponível em: <http://www2.uefs.br/revistabiologia/pg3_n1_2.html>. Acesso em 14. out 2017.

PAN, M. J.; VAN STADEN, J. The use of charcoal in *in vitro* culture – A review. **Plant Growth Regulation**, v.26, p.155–163, 1998. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1023/A:1006119015972.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

PÊGO, R.G. **Micropropagação de Sempre-Vivas *Syngonanthus elegans* E *Syngonanthus elegantulus***. 2009. 61f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras-UFLA, Lavras, MG, 2009. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/1470/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Micropropaga%C3%A7%C3%A3o%20de%20sempre-vivas%20Syngonanthus%20elegans%20e%20Syngonanthus%20elegantulus.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2017.

PÊGO, R. G; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R. Micropropagação de *Syngonanthus elegantulus*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.37, n.1, p.32-39, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v37n1/04.pdf>>. Acesso em: 16 jul. 2017.

PÊGO, R. G; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R. Micropropagation protocol for *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland: an ornamental species. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.36, n.2, p.347-353, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/asagr/v36n3/11.pdf>> Acesso em: 16 jul. 2017.

PIO CORRÊA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas y. 6. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro.

PHILIPSON, W. R. Studies in development of the inflorescence, I. The capitulum of *Bellis perennis* L. **Annals of Botany**, [S. l.], v.10, n.3, p. 257-270, 1946.

PRUDENTE, D.O.; NERY, F.C.; REIS, M.V.; PAIVA, P.D.O.; NERY, M.C.; AMIN, T.O. Germinação *in vitro* e aclimatização de sempre-viva. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, Lavras, v.11, n.2, p.62-69, 2015. Disponível em: <<http://www.abctp.org.br/revista/v11n2.pdf>>. Acesso em: 15 maio. 2017.

RAIZER, M. D. M. **Multiplicação *in vitro* e aclimatização de mudas micropropagadas de *Heliconia chartacea* (Lane x Barreiros) var. Sexy Pink**. 2011. 122 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, Manaus, AM, 2011.

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process?. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v29n1/a02v29n1.pdf>>. Acesso em: 07 set. 2017.

RESENDE, A. **Avaliação do hipoclorito de sódio na severidade da ferrugem asiática, do oídio e nas características químicas da soja**. 2009. 81 f. Tese (Doutorado em Química)- Universidade de Brasília-UnB, Brasília, DF, 2009. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/5279/1/2009_AnselmoResende.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2017.

Sá e CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, M.C. Efeito do armazenamento e de reguladores de crescimento na germinação de *Paepalanthus speciosus*, Eriocaulaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.17, n.1, p.61-65, 1994.

SANTOS, J. P.; DORNELLES, A.L.C.; SILVA, J.R.S.; SANTANA, J.R. F.; LIMA-BRITO, A. Ajuste do meio MS para o cultivo “*in vitro*” de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, Feira de Santana, v.6, n.1, p.36-39. 2006. Disponível em: <http://www2.uefs.br/revistabiologia/pg6_n1.html>. Acesso em: 13 jul. 2017.

SANTOS, J. P.; DORNELLES, A.L.C.; PEREIRA, F.D.; OLIVEIRA, L.M. Indução de calos em sempre-viva (*Syngonanthus mucugensis* Giulietti), utilizando diferentes tipos de explantes e concentrações de BAP. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v.30, n.2, p. 127-131, 2008. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/3624/2531>>. Acesso em: 07 maio. 2017.

SILVA, J. R. S.; LIMA-BRITO, A.; SANTANA, J. R. F.; DORNELLES, A. L. C. Efeito da sacarose sobre o enraizamento e desenvolvimento “*in vitro*” de *Syngonanthus mucugensis* Giul. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, Feira de Santana, v.5, n.2, p.56-59, 2005a. Disponível em: <http://www2.uefs.br/revistabiologia/pg5_n2.html>. Acesso em: 06 ago. 2017.

SILVA, J. R. S.; SANTOS, J. P.; RIOS, A. P. S.; SANTANA, J. R. F.; DORNELLES, A. L. C. Estudo da germinação e morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus mucugensis* Giul. “*in vitro*”. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, Feira de Santana, v.5, n.2, p.60-62, 2005b. Disponível em: <http://www2.uefs.br/revistabiologia/pg5_n2.html>. Acesso em: 06 ago. 2017.

SILVEIRA, D. G. SOUZA, F. V. D.; PELACANI, C. R.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; SANTANA, J. R. F. Micropropagation and *in vitro* conservation of *Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez, a fiber producing bromeliad from Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 4, p. 923-932, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/babt/v52n4/v52n4a16.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

SOFIATTI, V.; ARAUJO, E. F.; ARAUJO, R. F.; REIS, M. S.; SILVA, L. V. B. D.; CARGNIN, A. Uso do hipoclorito de sódio para degradação do endocarpo de sementes de Cafeeiro com diferentes graus de umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, [S. l.], v.30, n.1, p.150-160, 2008. Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/86997/1/sofiatti-v-02-2008.pdf>>.

Acesso em: 07 jan. 2018.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A.; NERY, F. C.; VARGAS, D. P.; SILVA, D. R. G. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.1, p.152-157, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n1/a19v35n1.pdf>>.

Acesso em: 06 jan. 2018.

SOUTO, J. S.; MORIMOTO, J. M.; FERREIRA, W. M.; NAKABASHI, M.; SUZUKI, R. M. Efeitos do ácido naftalenoacético no desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p. 179-185, 2010.

Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1352/937>>.

Acesso em: 05 jan. 2018.

SOUZA, J. A. A.; CORDEIRO, E. A.; COSTA, E. L. Aplicação de hipoclorito de sódio para recuperação de gotejadores entupidos em irrigação com água ferruginosa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 5–9, 2006.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v10n1/v10n1a01.pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2018.

SOUZA, L. S.; FIOR, C. S.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F. Desinfestação de sementes e multiplicação *in vitro* de guabijuzeiro a partir de segmentos apicais juvenis (*Myrcianthes pungens* O. Berg) D. Legrand. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 691-697, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v33n3/aop08211.pdf>>. Acesso em: 07 dev. 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 2008. 4 Ed. Artmed, São Paulo, 2008.