

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**RAFAELLA ALVES GUERIN**

**PROTOCOLO PARA CULTIVO *IN VITRO* DE *Thaumatococcus xanadu***

**PATOS DE MINAS – MG**  
**MARÇO DE 2026**

**RAFAELLA ALVES GUERIN**

PROTOCOLO PARA CULTIVO *IN VITRO* DE *Thaumatococcus xanadu*

Monografia apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Federal de  
Uberlândia como requisito final para a obtenção  
do título de Bacharel em Biotecnologia

**Prof. Dr. AULUS ESTEVÃO ANJOS DE  
DEUS BARBOSA**

**PATOS DE MINAS – MG  
MARÇO DE 2026**

**RAFAELLA ALVES GUERIN**

PROTOCOLO PARA CULTIVO *IN VITRO* DE *Thaumatococcus xanadu*

Monografia apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Federal de  
Uberlândia como requisito final para a obtenção  
do título de Bacharel em Biotecnologia

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Aulus Estevão Anjos de Deus Barbosa – Universidade Federal de Uberlândia  
Presidente

Profa. Dra. Terezinha Aparecida Teixeira – Universidade Federal de Uberlândia  
Membro

Prof. Dr. Gilvan Caetano Duarte – Universidade Federal de Uberlândia  
Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram Ata de Defesa que se encontra no  
Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia.

Patos de Minas, Minas Gerais, 06 de março de 2026

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho nasce como uma carta de amor.

Uma dedicatória que carrega raízes profundas e flores que só foram possíveis porque alguém, antes de mim, acreditou.

À minha mãe, Keila Alves, que me deu o mundo mesmo quando o mundo parecia pequeno. Você me ensinou que sonhos são sementes e que, mesmo com asas feridas, ainda é possível voar. Seu amor foi abrigo, seu apoio foi caminho, e cada conquista minha sempre encontrará o seu nome primeiro. Tudo o que sou floresce de você.

Às pessoas que foram força quando me faltava força, presença quando havia silêncio e esperança quando o caminho parecia longo padrinho Neto, Cris, Luciana, Kassia, vovó e vovô. Minha gratidão atravessa o tempo. Este passo também é de vocês.

Aos professores que tocaram minha trajetória e me ensinaram muito além de conteúdos Aulus Barbosa, Terezinha Teixeira, Daiane Resende e Thómas Valente, deixo meu reconhecimento por cada palavra que virou aprendizado e por cada incentivo que virou permanência.

Ao meu orientador Aulus Barbosa, meu sincero agradecimento pelo cuidado, pela orientação e pela confiança ao longo dessa caminhada. Sua presença tornou o percurso mais possível.

Aos meus amigos, que foram casa quando eu precisei de abrigo e farol quando a direção parecia incerta. Em especial, Junior Berreza, Arthur Coutrim, Bianca Coimbra, Matheus Henrique e Sarah Reinert obrigada por caminharem ao meu lado.

Não existem palavras suficientes para agradecer à minha melhor amiga, que hoje é minha irmã de alma. Kassia, obrigada por ser morada, amor e força nos dias leves e, principalmente, nos dias difíceis. Você foi parte essencial desta história.

Sou profundamente grata pela oportunidade de aprender, crescer e me transformar nos últimos anos. Esta trajetória ultrapassa páginas e resultados ela é memória, resistência, afeto e recomeço.

## RESUMO

A crescente demanda por plantas ornamentais tropicais tem impulsionado o desenvolvimento de técnicas de propagação mais eficientes e padronizadas. Nesse contexto, a micropropagação destaca-se como uma alternativa promissora para a produção em larga escala de mudas uniformes e livres de patógenos. O presente estudo teve como objetivo estabelecer um protocolo para o cultivo in vitro de *Thaumatococcus xanadu*, espécie ornamental amplamente utilizada no paisagismo e na decoração de interiores. O trabalho envolveu a seleção de plantas matrizes, preparo de meios de cultura, procedimentos de extração, descontaminação e inoculação de explantes, além da avaliação do estabelecimento inicial das culturas. Os meios de cultura foram formulados com reguladores de crescimento vegetal e agentes de controle microbiológico, visando otimizar a sobrevivência e a multiplicação dos explantes. Os resultados demonstraram que o protocolo adotado possibilitou o estabelecimento asséptico da maioria das gemas inoculadas, com redução da contaminação ao longo do período de cultivo. Observou-se também a ocorrência de oxidação em parte dos explantes, indicando a necessidade de ajustes em etapas específicas do processo. Ainda assim, a viabilidade das culturas obtidas evidencia a eficácia do protocolo proposto. Conclui-se que o método desenvolvido apresenta potencial para aplicação na micropropagação de *Thaumatococcus xanadu*, contribuindo para a padronização de procedimentos de cultivo in vitro e para a ampliação da produção comercial dessa espécie ornamental.

Palavras-chave: micropropagação; cultura de tecidos vegetais; plantas ornamentais; descontaminação; *Philodendron xanadu*.

## ABSTRACT

The increasing demand for tropical ornamental plants has driven the development of more efficient and standardized propagation techniques. In this context, micropropagation stands out as a promising alternative for the large-scale uniform and pathogen-free plantlets production. This study aimed to establish a protocol for *Thaumatococcus xanadu* in vitro cultivation, an ornamental species widely used in landscaping and indoor decoration. The study involved the mother plants selection, culture media preparation, procedures for explant extraction, disinfection and inoculation, as well as the initial cultures establishment. Culture media were formulated with plant growth regulators and antimicrobial agents to optimize explant survival and multiplication. The results demonstrated that the adopted protocol enabled the aseptic establishment of most inoculated buds, with a reduction in contamination throughout the cultivation period. Oxidation was observed in part of the explants, indicating the need for adjustments in specific stages of the process. Nevertheless, cultures viability obtained highlights the proposed protocol effectiveness. It is concluded that the developed method shows potential for application *Thaumatococcus xanadu* micropropagation, contributing to in vitro cultivation procedures standardization and to the expansion of this ornamental species commercial production.

Keywords: micropropagation; plant tissue culture; ornamental plants; disinfection; *Philodendron xanadu*.

## SUMÁRIO

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....                                                                 | 7  |
| 1.1 A produção de plantas ornamentais no Brasil .....                              | 7  |
| 1.2 O gênero <i>Thaumatococcus</i> .....                                           | 8  |
| 1.3 Cultura De Tecidos Vegetais .....                                              | 11 |
| 2. OBJETIVOS.....                                                                  | 13 |
| 2.1 Objetivo Geral .....                                                           | 14 |
| 2.2 Objetivos específicos .....                                                    | 14 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                        | 14 |
| 3.1 Materiais utilizados na preparação de meio de cultura e clonagem in vitro..... | 14 |
| 3.2 Método Experimental .....                                                      | 15 |
| 3.2.1 Seleção e manutenção das plantas matrizes .....                              | 15 |
| 3.2.2 Preparação de meio de cultura .....                                          | 16 |
| 3.2.3 Extração, descontaminação e inoculação dos explantes .....                   | 18 |
| 4. RESULTADOS.....                                                                 | 20 |
| 5. DISCUSSÃO .....                                                                 | 24 |
| 6. CONCLUSÃO .....                                                                 | 29 |
| REFERÊNCIAS.....                                                                   | 30 |

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A produção de plantas ornamentais no Brasil

A produção de flores e plantas ornamentais no Brasil constitui um segmento relevante do agronegócio nacional, destacando-se tanto pelo seu valor econômico quanto por sua importância social e ambiental. Tradicionalmente associada ao paisagismo, à ornamentação de ambientes e à melhoria da qualidade de vida, a floricultura brasileira tem apresentado crescimento contínuo nas últimas décadas, mesmo em cenários de instabilidade econômica.

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR,2026), a cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais movimentou aproximadamente R\$ 8,5 bilhões em 2023, representando um crescimento de 8,3% em relação ao ano anterior, e manteve trajetória ascendente nos anos subsequentes ((IBRAFLOR,2026)Esse desempenho positivo evidencia a resiliência do setor frente à desaceleração econômica observada em outros segmentos da economia brasileira no mesmo período.

Nos últimos anos, o setor apresentou expansão ainda mais expressiva. Em 2024, o Produto Interno Bruto (PIB) da floricultura brasileira atingiu cerca de R\$ 21,23 bilhões, registrando crescimento próximo de 10% em comparação ao ano anterior (Notícias Agrícolas, 2026). Esse avanço está associado, principalmente, ao aumento do consumo interno, à diversificação de produtos e à ampliação dos canais de comercialização.

A floricultura nacional é composta por aproximadamente 8.300 produtores, distribuídos em todas as regiões do país, ocupando uma área estimada de 16.380 hectares de cultivo (Notícias Agrícolas, 2026). A maior parte da produção é destinada ao mercado interno, sendo que mais de 95% das flores e plantas ornamentais produzidas no Brasil são consumidas internamente, o que demonstra a forte dependência do setor em relação ao consumo doméstico.

Dessa forma, a produção de flores e plantas ornamentais no Brasil envolve uma ampla diversidade de espécies cultivadas para diferentes finalidades comerciais, incluindo flores de corte, plantas envasadas, folhagens ornamentais e espécies destinadas ao paisagismo. Entre as flores de corte mais produzidas e comercializadas no país destacam-se rosas (*Rosa* spp.), crisântemos (*Chrysanthemum* spp.), gérberas (*Gerbera* spp.), lírios (*Lilium* spp.) e alstroemérias (*Alstroemeria* spp.), que apresentam elevada aceitação no mercado consumidor e boa durabilidade pós-colheita (Tombolato,2010). No segmento de plantas envasadas e de

folhagens ornamentais, espécies tropicais têm ganhado destaque crescente, especialmente aquelas pertencentes à família Araceae, como *Philodendron*, *Anthurium*, *Dieffenbachia* e *Thaumatococcus*, amplamente utilizadas na decoração de interiores e em projetos paisagísticos devido à rusticidade, diversidade morfológica e adaptação a ambientes sombreados (McConnell, 2003). Além dessas, bromélias, orquídeas, samambaias e ficus também figuram entre as plantas ornamentais de maior relevância comercial no país, contribuindo para a diversificação da produção e para o fortalecimento do mercado ornamental brasileiro.

Além do impacto econômico, a cadeia produtiva de plantas ornamentais apresenta elevada relevância (Boyce & Croat, 2018). O setor é reconhecido por sua capacidade de geração de empregos, contabilizando mais de 264 mil postos de trabalho diretos e aproximadamente 800 mil empregos indiretos, abrangendo desde a produção até a comercialização final (Notícias Agrícolas, 2024). Destaca-se ainda pela expressiva participação feminina, sendo uma das atividades do agronegócio com maior inclusão de mulheres em diferentes etapas da cadeia produtiva.

Do ponto de vista histórico, o desenvolvimento da floricultura no Brasil teve início no século XIX, com forte influência de imigrantes europeus, especialmente holandeses, italianos e japoneses, que introduziram técnicas de cultivo e espécies ornamentais adaptadas às condições climáticas locais (ISHS, 2016). Ao longo do tempo, o setor incorporou avanços tecnológicos, melhoramento genético e técnicas de produção mais eficientes, contribuindo para o aumento da produtividade e da qualidade das plantas ornamentais.

Dessa forma, a produção de plantas ornamentais no Brasil configura-se como uma atividade estratégica, que alia crescimento econômico, geração de renda, inclusão social e contribuição para o bem-estar da população, consolidando-se como um segmento de elevada relevância científica e produtiva no contexto do agronegócio brasileiro.

## 1.2 O gênero *Thaumatococcus*

A espécie *Thaumatococcus Xanadu*, anteriormente classificada de *Philodendron xanadu*, pertence à família Araceae e foi originalmente descrita por Boyce & Croat (2018). Estudos taxonômicos mais recentes, baseados em evidências morfológicas e filogenéticas, resultaram na reorganização de espécies anteriormente incluídas no gênero *Philodendron*, especialmente aquelas pertencentes ao subgênero *Meconostigma*. Nesse

contexto, foi proposta a reclassificação dessas espécies para o gênero *Thaumatophyllum*, passando *Philodendron xanadu* a ser denominado *T.xanadu* (Sakuragui, 2018). Apesar da atualização taxonômica, o nome *Philodendron xanadu* ainda é amplamente utilizado na literatura ornamental e no setor comercial, permanecendo como uma denominação recorrente em estudos científicos e na produção de plantas ornamentais (Boyce & Croat, 2018) (Sakuragui CM, n.d.) De acordo com o Índice Internacional de Nomes de Plantas (IPNI), a classificação taxonômica de *T.xanadu* está no quadro 1.

**Quadro 1.** Classificação taxonômica de *T.xanadu* (IPNI, 2026)

|                |                               |
|----------------|-------------------------------|
| <b>Reino</b>   | Planta                        |
| <b>Filo</b>    | Traqueófitas                  |
| <b>Classe</b>  | Dicotiledôneas                |
| <b>Ordem</b>   | Alismatales                   |
| <b>Família</b> | Aráceas                       |
| <b>Gênero</b>  | <i>Thaumatophyllum</i>        |
| <b>Espécie</b> | <i>Thaumatophyllum xanadu</i> |

A expressiva diversidade morfológica observada entre as espécies de *Thaumatophyllum*, aliada ao desenvolvimento recente de cultivares comerciais e às variações no hábito de crescimento incluindo formas trepadeiras, escandentes e autoportantes confere ao gênero elevada versatilidade ornamental. Essas características possibilitam sua utilização como plantas de mesa, em cestos suspensos, sobre suportes verticais (totens) ou como plantas de chão, ampliando seu valor paisagístico e comercial (McConnell et al., 2003)

Entre as espécies do gênero podemos destacar a *T.xanadu* (Figura 1). Trata-se de uma espécie perene da família Araceae, caracterizada por suas folhas pinatissectas, verde-escuras e brilhantes, com 25-31 cm de comprimento e 17-25 cm de diâmetro, textura coriácea e hábito de crescimento compacto. *T. xanadu* é uma planta ornamental que pode atingir até 1,5 m de diâmetro e 1,5 m de comprimento, esta planta floresce principalmente durante a primavera, por um período de tempo mais curto em comparação com outras espécies.

**Figura 1.** *T.xanadu* Croat, Mayo & J. Boos Araceae).



**Fonte:** Adaptado de EOL (2026).

Em função dessas características morfológicas e de sua elevada rusticidade, a espécie apresenta alto valor ornamental, sendo amplamente utilizada como planta de interior, além de demonstrar excelente adaptação a ambientes externos, como parques, jardins e pátios, tanto sob condições de sol pleno quanto de sombreamento parcial (Singapore Government, .).

Com a crescente demanda comercial por plantas ornamentais, a produção em larga escala de espécies do gênero *Thaumatococcus* tem sido severamente limitada pelas restrições inerentes aos métodos convencionais de propagação. A multiplicação vegetativa por meio de estacas, embora amplamente empregada na produção comercial, apresenta baixa eficiência, sendo um processo lento, trabalhoso e altamente dependente da disponibilidade de plantas-mãe de elevado valor comercial. Como consequência, esse método resulta na obtenção de um número reduzido de mudas por ciclo produtivo, o que não atende às exigências de um mercado em constante expansão (McConnell, 2003).

Adicionalmente, a propagação sexuada por sementes mostra-se pouco viável para o gênero *Thaumatococcus*, principalmente devido à curta viabilidade das sementes e à dificuldade de obtenção de material fértil em condições comerciais. Esses fatores tornam os métodos tradicionais de propagação difíceis de escalar, limitando a produção em massa e

aumentando o risco de disseminação de patógenos sistêmicos, uma vez que materiais vegetativos podem carregar microrganismos endógenos ao longo das gerações (Boyce & Croat, 2018). Neste sentido, a cultura de tecidos vegetais se mostra como a principal alternativa para a produção em larga escala de plantas do gênero *Thaumatococcus*.

### 1.3 Cultura de tecidos vegetais

Diante das limitações impostas pelos métodos convencionais da propagação, a micropropagação tem se consolidado como uma alternativa promissora para a multiplicação clonal rápida e em larga escala de plantas ornamentais. A cultura de tecidos vegetais pode ser definida como o cultivo asséptico de células, tecidos, órgãos ou partes de plantas sob condições físico-químicas controladas, constituindo uma ferramenta de grande relevância tanto para estudos básicos quanto para aplicações comerciais (Thorpe, 2007).

Os princípios da cultura de tecidos vegetais remontam às ideias propostas pelo cientista alemão Gottlieb Haberlandt, no início do século XX, ao formular o conceito da totipotência celular. Os primeiros avanços experimentais resultaram no desenvolvimento de culturas de raízes, embriões e, posteriormente, de calos. Entre as décadas de 1940 e 1960, houve um expressivo avanço tecnológico na área, marcado pelo aperfeiçoamento das técnicas de assepsia, formulação de meios nutritivos e controle das condições ambientais de cultivo, consolidando a cultura de tecidos como uma tecnologia viável e reprodutível (Thorpe, 2007).

Atualmente, a cultura de tecidos vegetais é amplamente empregada para a multiplicação de plantas em larga escala, sendo utilizada não apenas como ferramenta de pesquisa, mas também como tecnologia de importância industrial. Entre suas principais aplicações destacam-se a produção massal de mudas, a eliminação de patógenos, o melhoramento genético, a conservação de germoplasma, a produção de metabólitos secundários e a transformação genética de plantas (Sathyanarayana, 2007; Varghese, 2007). Pequenos fragmentos de tecido vegetal, denominados explantes, podem originar centenas ou milhares de plantas geneticamente idênticas à planta matriz em um processo contínuo e controlado (Hussain et al., 2012).

O cultivo *in vitro* consiste, portanto, em uma técnica de Reprodução assexuada fundamentada na totipotência celular, princípio segundo o qual uma única célula vegetal possui a capacidade de regenerar um organismo completo quando submetida às condições adequadas de cultivo (Rout, 2006). O crescimento e o padrão de desenvolvimento dos explantes nos

sistemas de cultura de tecidos são influenciados, principalmente, pela composição do meio de cultura, em especial pela suplementação com reguladores de crescimento vegetal, como auxinas e citocininas, que exercem papel determinante na resposta morfogênica inicial (Caldas et al., 1998; Hussain et al., 2012).

No contexto das plantas ornamentais, as técnicas de cultura de tecidos assumem papel estratégico. Por exemplo, estima-se que, atualmente, a maioria das plantas comercializadas do gênero *Thaumatococcus* seja produzida por meio de métodos de propagação in vitro, em razão da elevada demanda por mudas uniformes, livres de patógenos e com alto padrão estético (McConnell et al., 2003).

Embora protocolos eficientes de micropropagação já tenham sido descritos para *T. xanadu*, muitos desses métodos, apesar de apresentarem sucesso em escala laboratorial, dependem de etapas rigorosas de descontaminação e do uso intensivo de agentes químicos. Além disso, a literatura científica ainda apresenta escassez de dados específicos e padronizados referentes aos protocolos de descontaminação para essa espécie, o que compromete a reprodutibilidade e a otimização dos procedimentos. Essa limitação constitui um dos principais entraves à adoção da micropropagação em escala comercial, uma vez que torna o processo oneroso, operacionalmente complexo e de difícil automação.

Adicionalmente, o estabelecimento inicial das culturas in vitro representa uma etapa crítica, uma vez que a presença de contaminantes é um dos principais fatores responsáveis pela perda de explantes. Microrganismos contaminantes competem de forma vantajosa pelos nutrientes do meio de cultura, comprometendo o desenvolvimento dos tecidos vegetais e podendo levar à morte dos explantes (Azofeifa-Bolanos et al., 2019). Dessa forma, o aprimoramento de protocolos de descontaminação eficientes e reprodutíveis torna-se essencial para o sucesso da micropropagação de *T. xanadu*.

Os reguladores de crescimento vegetal desempenham papel central no desenvolvimento de protocolos de cultura de tecidos, sendo responsáveis pelo controle da divisão celular, diferenciação e organogênese in vitro. Entre os principais grupos utilizados em meios de cultura destacam-se as auxinas e as citocininas, cuja interação determina o padrão de resposta morfogênica dos explantes (George et al., 2008).

De modo geral, concentrações mais elevadas de citocininas em relação às auxinas favorecem a formação de brotações, enquanto níveis mais altos de auxinas estão associados à indução de raízes ou calos. Reguladores como 6-benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido indolacético (AIA) são amplamente empregados em protocolos de micropropagação de espécies ornamentais (Taiz et al., 2017). A escolha e a

concentração desses reguladores constituem uma das etapas mais críticas no desenvolvimento de protocolos *in vitro*, uma vez que diferentes espécies e tipos de explantes apresentam respostas fisiológicas específicas às condições de cultivo (George et al.,2008).

O desenvolvimento e a padronização de protocolos de cultivo *in vitro* constituem etapas fundamentais para a consolidação da micropropagação como uma tecnologia viável tanto em escala científica quanto comercial. Protocolos bem estabelecidos permitem maior eficiência na multiplicação vegetal, redução das perdas causadas por contaminação, além de garantir a uniformidade genética e morfológica das plantas produzidas, aspectos essenciais para atender às exigências do mercado de plantas ornamentais (George et al.,2008).

A elaboração de protocolos *in vitro* envolve a definição criteriosa de diferentes etapas do processo, incluindo a escolha do tipo e do estágio fisiológico do explante, os procedimentos de descontaminação, a composição do meio de cultura, as concentrações de reguladores de crescimento vegetal e as condições ambientais de cultivo, como temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa. A interação entre esses fatores influencia diretamente a sobrevivência dos explantes, a taxa de multiplicação e o padrão de desenvolvimento das plantas regeneradas (George et al.,2008; Pierick et al.,1997).

Dentre as etapas do cultivo *in vitro*, o estabelecimento inicial da cultura é considerado uma das mais críticas, uma vez que está diretamente relacionado à eficiência dos protocolos de assepsia e à eliminação de contaminantes endógenos e exógenos. A ausência de padronização nos métodos de descontaminação frequentemente resulta em elevadas taxas de contaminação, comprometendo a reprodutibilidade dos experimentos e limitando a aplicação prática dos protocolos desenvolvidos (Azofeifa-Bolanos et al., 2019 Leifert et al., 2001).

No caso de espécies ornamentais tropicais, como aquelas pertencentes à família Araceae, a adaptação de protocolos desenvolvidos para outros gêneros ou espécies nem sempre é eficiente, em razão das particularidades anatômicas e fisiológicas dos tecidos vegetais. Assim, torna-se necessária a elaboração de protocolos específicos, capazes de otimizar o estabelecimento, a multiplicação e o desenvolvimento das plantas em condições *in vitro* (Rout,2006)

## **2. OBJETIVOS**

## 2.1 Objetivo Geral

Estabelecer protocolo para cultivo in vitro de da planta *T.xanadu*.

## 2.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a eficiência do protocolo de desinfestação de explantes de *T. xanadu* para o estabelecimento de culturas assépticas in vitro.
- b) Analisar a ocorrência de contaminação e oxidação fenólica durante a fase inicial de estabelecimento das culturas.
- c) Verificar o desenvolvimento e o crescimento dos explantes durante o cultivo in vitro.
- d) Determinar a viabilidade da micropropagação de *T. xanadu* como método para obtenção de mudas clonais em condições assépticas específicas.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Materiais utilizados na preparação de meio de cultura e clonagem in vitro

Nas etapas de preparação do meio de cultura e clonagem vegetal in vitro, foram utilizados materiais, equipamentos e dispositivos de biossegurança comumente empregados em laboratórios de Biotecnologia vegetal, assegurando precisão experimental, condições assépticas e segurança dos operadores.

Os materiais empregados na preparação do meio de cultura incluíram panela e fogão, utilizados para o aquecimento inicial e dissolução dos componentes do meio; balança analítica, para a pesagem precisa dos reagentes; béqueres, empregados na preparação e homogeneização das soluções; espátula e colher, para manipulação de reagentes sólidos; pipetas e ponteiras descartáveis, para a medição e transferência de soluções líquidas; frascos de vidro com tampa, destinados ao acondicionamento do meio de cultura; papel filme, utilizado para vedação dos recipientes; e racks (raques), para organização dos frascos durante as etapas de preparo e esterilização.

O pH do meio de cultura foi monitorado e ajustado por meio de um pHmetro, garantindo a estabilização do pH conforme as exigências do cultivo *in vitro*. Para o ajuste do pH, foram utilizados reagentes específicos, como soluções de hidróxido de sódio 0,1 mol/L (NaOH) e ácido clorídrico 0,1 mol/L (HCl), adicionados gradualmente até a obtenção do valor desejado.

A esterilização do meio de cultura e dos materiais reutilizáveis foi realizada em autoclave, assegurando a eliminação de microrganismos contaminantes e proporcionando condições assépticas adequadas para o cultivo dos explantes.

Na etapa de clonagem vegetal, foram utilizados bisturis esterilizados para a excisão dos explantes, placas de Petri para a manipulação do material vegetal, velas para a criação de corrente de ar ascendente durante o processo de inoculação, além de recipientes apropriados para o descarte de resíduos contaminados e materiais perfurocortantes, em conformidade com as normas de biossegurança vigentes (Garcia et al., 2018).

Durante todas as etapas experimentais, foram adotadas práticas de biossegurança, com o uso obrigatório de equipamentos de proteção individual (EPIs), incluindo jaleco, touca e propé, a fim de reduzir riscos de contaminação do material biológico e garantir a segurança dos operadores. Todos os procedimentos foram conduzidos em ambiente previamente higienizado e seguindo os protocolos padrão de laboratório.

## **3.2 Método experimental**

### **3.2.1 Seleção e manutenção das plantas matrizes**

O primeiro passo do protocolo consistiu na seleção das plantas matrizes destinadas à clonagem vegetal. Foram escolhidas plantas vigorosas, isentas de doenças, pragas ou sintomas fisiológicos aparentes, apresentando bom desenvolvimento vegetativo e qualidade fitossanitária adequada, a fim de garantir maior eficiência no processo de clonagem *in vitro*.

As plantas matrizes (plantas-mãe) selecionadas foram mantidas em estufa, sob condições controladas de cultivo, incluindo manejo adequado de irrigação e adubação, além do monitoramento e controle de pragas. Essa etapa teve como objetivo assegurar a sanidade do material vegetal e reduzir a possibilidade de contaminações durante as fases subsequentes do cultivo *in vitro*.

O manejo nutricional foi realizado com fertilizante comercial Jardim com Flores®, enquanto o controle fitossanitário incluiu a aplicação dos produtos Colosso®, Malathion® e óleo de Nim, com o objetivo de reduzir a presença de pragas e microrganismos associados ao material vegetal. Após esses procedimentos, observou-se aumento no vigor vegetativo e crescimento mais uniforme das plantas doadoras de explantes, favorecendo a obtenção de material vegetal em melhores condições para o processo de desinfestação e estabelecimento in vitro. A Figura 4 apresenta o aspecto das plantas no momento da chegada ao laboratório.

**Figura 4.** *T.xanadu* matriz.



Fonte: Autor próprio.

### 3.2.2 Preparação de meio de cultura

Após a seleção das matrizes, as atividades foram conduzidas em ambiente laboratorial para a preparação dos meios de cultura utilizados nas etapas de estabelecimento e multiplicação. Os meios foram formulados com base em valores referentes ao preparo de 1 litro de meio.

Para o estabelecimento *in vitro*, utilizou-se meio de cultura composto por 6 mL de adubo comercial Jardim com Flores® (Tabela 1), 6 g de ágar, 25 g de sacarose, 1 mg·L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP), 0,1 mg·L<sup>-1</sup> de ácido naftalenoacético (ANA) e 2,5 mL de Kathon® como agente bactericida/fungicida. O pH do meio foi ajustado para 6,0. O pH do meio foi ajustado para 6,0, utilizando-se pHmetro e reagentes apropriados para correção. antes da autoclavagem. O uso de Kathon® no meio de cultura permitiu a manipulação dos meios sem a necessidade de cabine de segurança biológica.

Para a fase de multiplicação, utilizou-se meio de cultura com a mesma composição básica, contendo 6 mL de adubo comercial Jardim com Flores®, 6 g de ágar, 25 g de sacarose, 1 mg·L<sup>-1</sup> de BAP, 0,5 mg·L<sup>-1</sup> de ANA e 2,5 mL de Kathon®, com pH ajustado para 6,0. O aumento da concentração de ANA nessa etapa teve como objetivo favorecer o desenvolvimento e a multiplicação das brotações formadas.

**Tabela 1.** Composição nutricional do adubo líquido “Jardim com flores “

| Nutriente                                | Forma            | Concentração (%) |
|------------------------------------------|------------------|------------------|
| Nitrogênio (N)                           | Solução em água  | 6,5              |
| Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) | Solúvel em CNA + | 5,5              |
| Potássio (K)                             | Solúvel em Água  | 6,0              |
| Cálcio (Ca)                              | Solúvel em Água  | 3,3              |
| Magnésio (Mg)                            | Solúvel em Água  | 1,4              |
| Enxofre (S)                              | Solúvel em Água  | 1,8              |
| Boro (B)                                 | Solúvel em Água  | 0,12             |
| Ferro (Fe)                               | Solúvel em Água  | 0,14             |
| Manganês (Mn)                            | Solúvel em Água  | 0,08             |
| Zinco (Zn)                               | Solúvel em Água  | 0,12             |

Fonte: Adaptado do rótulo do fertilizante jardim com flores.

Inicialmente, os reagentes sólidos e líquidos foram pesados e medidos com auxílio de balança analítica e pipetas graduadas, respectivamente. Em seguida, os componentes foram diluídos em 1 litro de água, em um béquer, sob agitação até completa homogeneização. O pH do meio foi ajustado para 6,0, utilizando-se pHmetro e reagentes apropriados para correção.

Após a homogeneização e ajuste do pH, a solução foi transferida para uma panela e submetida ao aquecimento em fogo alto, permanecendo em fervura por aproximadamente 7 minutos, com o objetivo de promover a completa dissolução do ágar.

Após a fervura, o meio ainda líquido foi distribuído em frascos de vidro (tubos de ensaio de vidro) de 60ml, 25x150mm de vidro borossilicato previamente higienizados, foi colocado 12 ml de meio por frasco os quais foram fechados adequadamente e organizados em racks para facilitar o manuseio. Posteriormente, os frascos contendo o meio de cultura foram submetidos ao processo de esterilização em autoclave, permanecendo por 20 minutos sob temperatura de 125 °C. Concluído o processo de esterilização, o meio de cultura foi retirado da autoclave e deixado em repouso até o completo resfriamento e solidificação. Em seguida, os frascos foram armazenados em sala com ambiente controlado, equipada com ar-condicionado, permanecendo reservados até o momento da inoculação dos explantes (Figura 2).

**Figura 2.** Tubos de ensaio de vidro com 12 ml de meio



**Fonte:** Autoria própria.

### 3.2.3 Extração, descontaminação e inoculação dos explantes

Após a preparação, esterilização e solidificação do meio de cultura, procedeu-se às etapas de extração, descontaminação e inoculação dos explantes. O material vegetal foi obtido a partir das plantas matrizes previamente selecionadas e mantidas em estufa sob condições controladas de cultivo, conforme descrito anteriormente.

Inicialmente, os brotos foram submetidos a uma limpeza manual, na qual foram removidas as partes secas, danificadas ou mortas, com o objetivo de reduzir a carga inicial de contaminantes e selecionar tecidos vegetais viáveis para o cultivo *in vitro*. Em seguida, o material vegetal foi imerso em álcool etílico a 70% (v/v) por um período de 1 minuto, visando à desinfestação superficial. Após esse tratamento, os brotos foram lavados em água previamente autoclavada por 5 minutos, para a remoção de resíduos do álcool (Figura 3 A e B).

Na sequência, foram retiradas as gemas (Figura 3C), sem a realização de uma limpeza final nessa etapa, e os explantes foram submetidos à desinfecção química por meio da imersão em solução de hipoclorito de sódio a **0,5% (v/v)**, preparada a partir de solução comercial contendo aproximadamente **2,5% de cloro ativo** acrescida de quatro gotas de Tween 20, utilizado como agente tensoativo, permanecendo nessa solução por 15 minutos. Após o período de desinfecção, os explantes foram novamente lavados em água autoclavada por 5 minutos, com o intuito de eliminar resíduos do agente desinfetante. Posteriormente, as gemas laterais foram extraídas com o auxílio de pinças e bisturi previamente esterilizados. As gemas obtidas foram então imersas em uma solução antioxidante final composta por 500 mL de água autoclavada, 0,5 mL de Kathon® e 0,2 mL de ácido ascórbico, permanecendo nessa solução por 5 minutos, com o objetivo de minimizar a oxidação dos tecidos vegetais e reduzir o escurecimento dos explantes.

A inoculação foi realizada em condições assépticas, utilizando-se equipamentos de proteção individual, como jaleco, touca e sapatilha propé, além da higienização prévia do ambiente e dos materiais. Durante o procedimento, utilizou-se uma vela acesa para a criação de corrente de ar ascendente, contribuindo para a redução do risco de contaminação ambiental. As gemas foram cuidadosamente inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultura previamente preparado e esterilizado, garantindo contato adequado entre o explante e o meio nutritivo.

Durante a inoculação, foi utilizado spray contendo solução de hipoclorito de sódio a 0,5% (v/v), preparada a partir de solução comercial contendo aproximadamente 2,5% de cloro ativo aplicado no ambiente como medida auxiliar de controle microbiológico. Após a inoculação, os tubos de ensaio foram vedados com plástico filme, devidamente identificados e organizados em racks.

Os explantes inoculados foram mantidos em ambiente de temperatura controlada a 22°C, e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. O material foi monitorado periodicamente para avaliação da ocorrência de contaminações e do desenvolvimento inicial dos explantes.

Após o estabelecimento e crescimento dos tecidos vegetais, realizou-se a troca do meio de cultura conforme a necessidade experimental.

**Figura 3.** A - *T.xanadu* em cortes para extração de gemas. B - *T. xanadu* após a extração das gemas. C - Gemas de *T. xanadu*.



Fonte: Autoria própria.

#### 4. RESULTADOS

Antes do estabelecimento in vitro, as plantas-mãe, utilizadas como fonte de explantes foram mantidas sob condições controladas de cultivo, incluindo manejo nutricional e tratamento fitossanitário, visando melhorar o estado fisiológico e sanitário do material vegetal, conforme recomendado por gonzáles,2012. As mudas, adquiridas em viveiros comerciais, apresentavam inicialmente crescimento reduzido, folhas pouco lobadas, pecíolos mais curtos e menor porte vegetativo.

Após o período de manejo nutricional e fitossanitário, observou-se melhora no desenvolvimento vegetativo das plantas-mãe, caracterizada pelo aumento do porte, maior expansão foliar e incremento no número de folhas. De modo geral, as plantas apresentaram

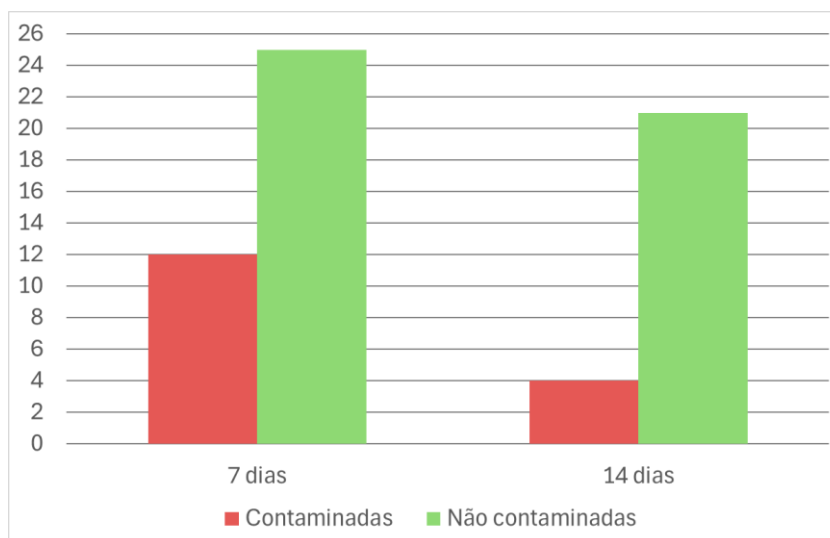
melhor vigor e uniformidade de crescimento, indicando condições fisiológicas mais adequadas para a obtenção de explantes. Dessa forma, foi possível obter plantas doadoras em condições satisfatórias de sanidade e desenvolvimento para o estabelecimento *in vitro*.

A etapa seguinte consistiu no estabelecimento de culturas assépticas. Apesar do tratamento fitossanitário das plantas-mãe e da aplicação de diferentes métodos de desinfecção nos explantes, foi observada a ocorrência de contaminação durante o cultivo *in vitro*. A porcentagem de assepsia foi avaliada aos 7 dias após a inoculação dos explantes em meio de cultura. A primeira avaliação foi realizada por corresponder ao período mínimo necessário para a detecção visual de contaminações causadas por microrganismos, como fungos, bactérias ou leveduras. No entanto, não foi realizada a identificação específica dos microrganismos contaminantes observados durante o experimento.

Durante o estabelecimento *in vitro*, foram inoculadas 37 gemas, das quais 12 apresentaram contaminação, correspondendo a 32,43% de contaminação. As demais 25 gemas permaneceram assépticas, representando 67,57% dos explantes inoculados. Os dados estão apresentados na figura 5.

Aos 14 dias após a inoculação dos explantes em meio de cultura, observou-se redução na contaminação em relação à avaliação inicial. Nessa etapa, permaneceram 25 gemas em cultivo, das quais 4 apresentaram contaminação (16%), enquanto 21 permaneceram assépticas (84%), demonstrando a manutenção da viabilidade da maioria dos explantes estabelecidos *in vitro*. Os dados referentes a essa avaliação estão apresentados na figura 5.

**Figura 5.** Assepsia das gemas 7 e 14 dias após a inoculação. Um total de 37 gemas foram inoculadas no início do experimento.



Fonte: Autor próprio.

Após a fase crítica de estabelecimento *in vitro*, marcada pela contaminação observada nos primeiros 14 dias de cultivo e pela oxidação registrada até aproximadamente 16 dias, as gemas viáveis passaram para a fase de crescimento e multiplicação. Nessa etapa, as culturas permaneceram em desenvolvimento no meio de cultura, apresentando crescimento vegetativo e manutenção da viabilidade dos explantes. Essa fase teve duração aproximada de 45 dias a partir da extração dos explantes.

Após aproximadamente 45 dias de cultivo, observou-se, por meio das imagens registradas, crescimento evidente dos explantes e início da multiplicação vegetativa. O desenvolvimento das gemas foi caracterizado pelo aumento do tamanho dos tecidos e pela formação de novas brotações no meio de cultura (Figura 6A).

Após esse período, foi realizado um corte dos explantes com o objetivo de induzir a multiplicação, a fragmentação dos explantes é uma prática comum na micropropagação, pois a remoção da dominância apical estimula a formação de novas brotações e aumenta a taxa de multiplicação *in vitro* (George et al., 2008; Hartmann et al., 2011) sendo um procedimento comum em protocolos de micropropagação, no qual a fragmentação do material vegetal estimula a formação de novas gemas e brotações devido à quebra da dominância apical e à redistribuição dos reguladores de crescimento vegetal. (Figura 6B).

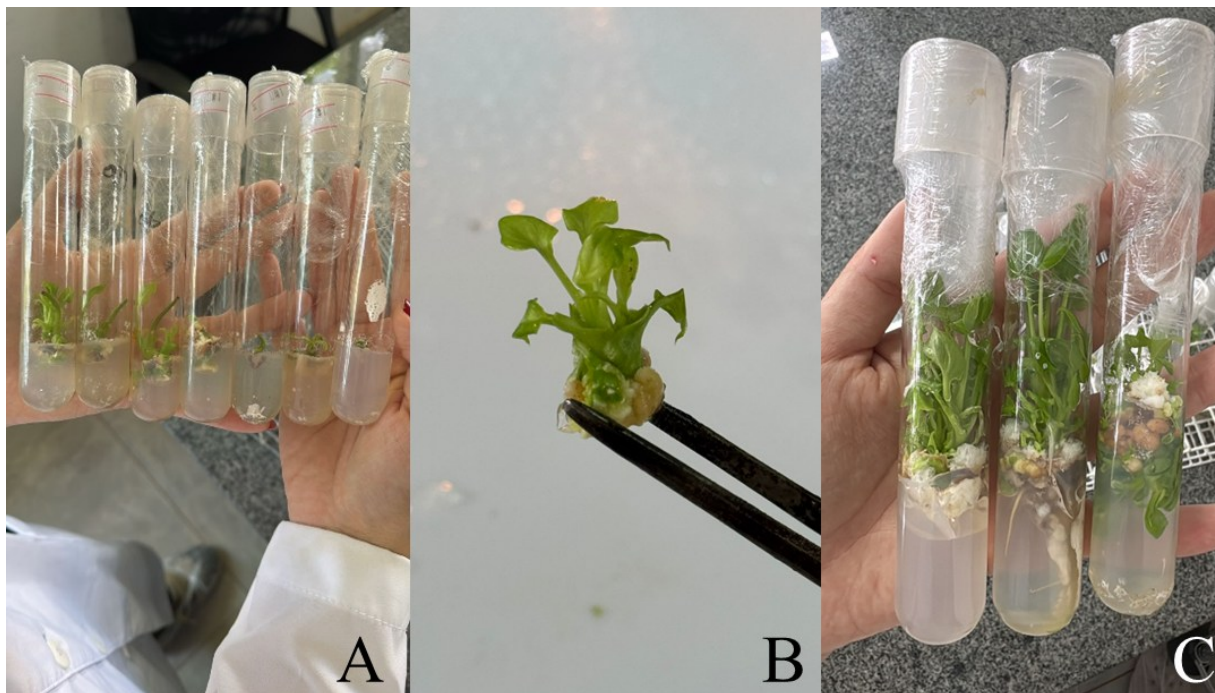
Após o corte dos explantes para indução da multiplicação, as culturas permaneceram por mais 60 dias em ambiente controlado, totalizando 110 dias de cultivo (Figura 6C), mantidas em meio de multiplicação, conforme descrito na seção de Materiais e Métodos. Durante esse período, as plantas permaneceram em desenvolvimento e não foram observadas contaminações tardias nas culturas estabelecidas, indicando a estabilidade das condições assépticas após a fase inicial de estabelecimento. *in vitro*

Ao final do período de cultivo, observou-se que os explantes apresentaram boa multiplicação após 110 dias (Figura 6), sem registro de novas contaminações, sendo observado principalmente o crescimento e desenvolvimento das brotações formadas. A ausência de contaminações tardias indica a estabilização das culturas *in vitro* após a fase inicial de estabelecimento, considerada a etapa mais crítica da micropropagação (George et al., 2008).

Durante essa fase, a multiplicação das brotações ocorreu no meio de cultura descrito na seção de Materiais e Métodos, favorecendo o desenvolvimento vegetativo dos explantes e a

formação de novas unidades propagativas. A fragmentação dos explantes e o cultivo em meio de multiplicação são práticas amplamente utilizadas na cultura de tecidos vegetais, pois estimulam a produção de brotações e aumentam a taxa de propagação clonal ((George et al., 2008; Hartmann et al., 2011).

**Figura 6.** Explantes em crescimento após 45 dias (A), 50 dias (B) e 110 dias (C).



Fonte: Autor próprio.

Após essa etapa, as plantas foram individualizadas para continuidade do crescimento, procedimento comum em protocolos de micropropagação, no qual as brotações formadas são separadas para permitir o desenvolvimento independente das mudas. Essa fase é fundamental para a obtenção de plantas completas e aptas para etapas posteriores de aclimatização e produção de mudas (Hartmann et al., 2011; Taiz et al., 2017). Não se sabe ao certo a quantidade de mudas final, em outros experimentos e fazendo uma perspectiva acreditamos que o número cheguei até 4.000 plantas.

## 5. DISCUSSÃO

Embora *T.xanadu* apresente elevado valor ornamental e ampla utilização comercial, observa-se uma escassez significativa de estudos científicos que descrevam, de forma detalhada e padronizada, protocolos específicos de cultivo in vitro para essa espécie. A maioria dos trabalhos disponíveis na literatura aborda o gênero *Thaumatophyllum* de forma geral ou concentra-se em outras espécies da família Araceae, o que limita a aplicabilidade direta desses protocolos para *T. xanadu* (McConnell et al., 2003; Rout., et al 2006).

Além disso, muitos dos protocolos descritos apresentam informações incompletas, especialmente no que se refere às etapas de descontaminação dos explantes, às concentrações dos agentes químicos empregados e às condições ambientais de cultivo. Essa limitação dificulta a reprodutibilidade dos resultados e compromete a transferência das técnicas do ambiente laboratorial para a escala comercial (Azofeifa-Bolanos et al., 2019 Leifert et al., 2001).

Dessa forma, a escassez de protocolos específicos e padronizados para *T. xanadu* representa um entrave científico e técnico para a adoção da micropropagação dessa espécie em sistemas produtivos comerciais. Estudos voltados ao desenvolvimento, avaliação e otimização de metodologias de cultivo in vitro, com ênfase nas etapas de estabelecimento e descontaminação, tornam-se, portanto, fundamentais para aumentar a eficiência, a reprodutibilidade e a viabilidade econômica do processo, contribuindo para o fortalecimento da cadeia produtiva de plantas ornamentais.

A contaminação observada durante o estabelecimento in vitro é um dos principais desafios da cultura de tecidos vegetais, especialmente na fase inicial de introdução dos explantes em meio de cultura. No presente estudo, a taxa de contaminação inicial observada (32,43%) indica que, embora o protocolo de desinfestação tenha sido realizado, ainda houve a presença de microrganismos associados ao material vegetal.

Mesmo com o tratamento fitossanitário prévio das plantas-mãe, a contaminação pode ocorrer devido à presença de microrganismos epifíticos e endofíticos, que nem sempre são completamente eliminados pelos agentes desinfetantes utilizados. Esse fenômeno é frequentemente relatado em espécies ornamentais tropicais, nas quais a estrutura dos tecidos

vegetais, a presença de microrganismos endofíticos e a interação com o ambiente favorecem a colonização microbiana e a ocorrência de contaminações em cultivo *in vitro* (George et al., 2008; Leifert et al., 2001)

A porcentagem de assepsia obtida (67,57%) demonstra que o protocolo de desinfestação adotado foi capaz de estabelecer a maioria dos explantes em condições assépticas, permitindo a continuidade do cultivo *in vitro*. Resultados semelhantes são descritos em estudos de micropropagação, nos quais a obtenção de taxas intermediárias de assepsia é comum na fase inicial de estabelecimento, taxas que são comuns e a média em todos os estudos, sendo considerada uma das etapas mais críticas do processo( Leifert et al., 2001).

Além disso, a avaliação realizada aos 7 dias após a inoculação mostrou-se adequada para a detecção inicial de contaminações, uma vez que o crescimento microbiano em meio de cultura geralmente se torna visível nesse período.

Essa redução pode estar associada à eliminação inicial dos explantes contaminados e à estabilização das culturas estabelecidas, uma vez que a maioria das contaminações em cultura de tecidos vegetais ocorre nos primeiros dias após a inoculação. Após esse período inicial, os explantes que permanecem assépticos tendem a apresentar maior estabilidade no meio de cultura.

Os resultados obtidos indicam que o protocolo de desinfestação utilizado foi eficaz para o estabelecimento da maior parte dos explantes, permitindo a continuidade do cultivo *in vitro*. Esse comportamento é frequentemente relatado em estudos de micropropagação, nos quais a fase de estabelecimento é considerada crítica devido à elevada suscetibilidade à contaminação microbiana. Esses microrganismos se desenvolvem rapidamente no meio de cultura, competindo por nutrientes e comprometendo o desenvolvimento dos explantes (Figura 7).

**Figura 7.** Explantes contaminados após 7 dias de inoculação.



Fonte: Autor próprio.

Nos casos em que a contaminação se apresentou de forma mais severa, não foi realizada descontaminação tardia das culturas, devido à baixa possibilidade de aproveitamento dos explantes contaminados. Dessa forma, optou-se pelo descarte do material contaminado, evitando a propagação de microrganismos e garantindo a manutenção das culturas assépticas obtidas no experimento.

Durante o estabelecimento *in vitro*, observou-se a ocorrência de oxidação em parte dos explantes, evidenciada pelo escurecimento dos tecidos e do meio de cultura. Ao todo, cinco gemas apresentaram oxidação, porém inicialmente permaneceram viáveis. Nesses casos, foi necessária a troca do meio de cultura após 16 dias de cultivo, a fim de reduzir os efeitos dos compostos fenólicos liberados pelos tecidos vegetais. Entre os explantes submetidos à troca de meio, um não sobreviveu, enquanto os demais permaneceram em desenvolvimento. A oxidação em culturas *in vitro* está geralmente associada à liberação de compostos fenólicos após o ferimento do material vegetal durante a excisão dos explantes, podendo interferir no desenvolvimento das culturas ((George et al., 2008; Leifert et al., 2001 ).

Diversos estudos relatam a importância do uso prévio de fungicidas e bactericidas no processo de desinfecção de explantes vegetais, especialmente na etapa de estabelecimento *in vitro*. Chen et al. (2012), por exemplo, realizaram o tratamento das plantas-mãe com Ridomil®

e Mancozeb® uma semana antes do início da desinfestação. De forma semelhante, Blanco e Valverde (2004) e Lara-Ascencio et al. (2021) submeteram os explantes à exposição a fungicidas e antibióticos, como Benlate®, Agri-mycin® ou Tokat®, por aproximadamente 30 minutos, visando reduzir a carga microbiana associada ao material vegetal.

Esses relatos reforçam que o controle fitossanitário prévio e a desinfecção química dos explantes constituem etapas fundamentais para o sucesso do estabelecimento de culturas assépticas, embora a eliminação total de contaminantes nem sempre seja possível, como observado no presente estudo.

Em relação ao uso do etanol no processo de desinfestação, diferentes concentrações são descritas na literatura. Blanco e Valverde (2004) utilizaram etanol a 95% (v/v), enquanto Chen et al. (2012) e Lara-Ascencio et al. (2021) empregaram etanol a 70% (v/v) na desinfecção de explantes vegetais. O álcool etílico é amplamente utilizado como agente bactericida devido à sua ação desidratante e à capacidade de reduzir a tensão superficial da membrana celular, promovendo a desnaturação de proteínas e a destruição de microrganismos.

Embora possa ser utilizado em concentrações mais elevadas, o etanol apresenta maior eficiência antimicrobiana em concentrações entre 60% e 80% (v/v), pois a presença de água favorece a penetração do composto nas células microbianas (Capra et al., 2020; Pumarola et al., 1992). Dessa forma, no presente trabalho, conforme descrito nos Materiais e Métodos, foi utilizada a concentração de etanol a 70% (v/v) por 1 minuto no processo de desinfestação dos explantes, buscando equilíbrio entre a eficiência antimicrobiana e a preservação da viabilidade do tecido vegetal. O álcool é amplamente utilizado na desinfestação de explantes vegetais devido à sua ação bactericida e desidratante, promovendo a desnaturação de proteínas e a destruição de microrganismos presentes na superfície do material vegetal Capra et al., 2020; Pumarola et al., 1992).

Após a etapa inicial de desinfecção com álcool 70%, os explantes foram submetidos à solução de hipoclorito de sódio associada ao Tween® 20. O hipoclorito de sódio, por sua vez, é um agente oxidante comumente empregado em protocolos de cultura de tecidos vegetais. Em solução aquosa, forma ácido hipocloroso (HClO) e íons hipoclorito ( $\text{ClO}^-$ ), responsáveis pela ação antimicrobiana. Esses compostos atuam sobre componentes celulares dos microrganismos, promovendo a degradação de proteínas, lipídios e material genético, contribuindo para a redução da contaminação. A adição de Tween® 20, um surfactante não iônico, auxilia na redução da

tensão superficial da solução desinfetante, permitindo maior contato entre o agente químico e a superfície do explante, aumentando a eficiência do processo de desinfecção.(Munoz-Castellanos et al., 2022).

Assim, a combinação de álcool 70%, hipoclorito de sódio e Tween® 20 constituiu o protocolo de desinfestação adotado neste trabalho, visando reduzir a carga microbiana associada aos explantes e favorecer o estabelecimento de culturas assépticas.

Mesmo com a adoção de protocolos de assepsia e manejo fitossanitário das plantas-mãe, a ocorrência de contaminação e oxidação durante o estabelecimento *in vitro* é considerada comum em culturas de tecidos vegetais. A presença de microrganismos associados ao material vegetal, especialmente contaminantes endofíticos, e a liberação de compostos fenólicos após o ferimento dos tecidos durante a obtenção dos explantes são fatores frequentemente relatados na literatura como limitantes dessa etapa do cultivo *in vitro* (George et al., 2008;) Nesse contexto, os resultados observados no presente estudo reforçam a importância da otimização contínua dos protocolos de desinfestação e do manejo dos explantes, abrindo perspectivas para investigações adicionais sobre concentrações de desinfetantes, tempos de exposição e estratégias para o controle da oxidação em culturas *in vitro*.

O crescimento observado aproximadamente 45 dias após o estabelecimento *in vitro* demonstra a adaptação dos explantes ao meio de cultura e às condições controladas de cultivo. O aumento do tamanho dos tecidos e a formação de novas brotações indicam que o meio de multiplicação utilizado foi adequado para o desenvolvimento vegetativo das gemas, favorecendo a continuidade do cultivo *in vitro*.

A realização do corte dos explantes para indução da multiplicação constitui uma prática comum em protocolos de micropropagação, uma vez que a fragmentação do material vegetal promove a quebra da dominância apical e estimula a formação de novas brotações. Esse processo está associado à redistribuição dos reguladores de crescimento vegetal e ao estímulo da atividade meristemática, resultando no aumento da taxa de multiplicação clonal (George et al., 2008; Leifert et al., 2001).

Após o corte, a permanência das culturas em meio de multiplicação por mais 60 dias, sem registro de contaminações tardias, indica a estabilidade das condições assépticas estabelecidas após a fase inicial do cultivo. Esse comportamento é esperado, uma vez que a

etapa de estabelecimento in vitro é considerada a mais crítica da micropropagação, concentrando a maior ocorrência de contaminações( George et al., 2008;).

A individualização das brotações ao final do período de multiplicação representa uma etapa importante do processo de micropropagação, permitindo o desenvolvimento independente das plantas e a formação de mudas completas. Esse procedimento favorece o crescimento uniforme das plantas e possibilita a continuidade do cultivo até etapas posteriores, como o enraizamento e a (,Hartman et al., 2011; Taiz et al., 2017).

De modo geral, os resultados obtidos demonstram que o protocolo de multiplicação adotado foi eficiente para a produção de brotações e para a manutenção da viabilidade das culturas in vitro, contribuindo para a obtenção de mudas destinadas à propagação.

## 6. CONCLUSÃO

A micropropagação de *T. xanadu* mostrou-se uma alternativa viável para a obtenção de mudas clonais em condições assépticas, desde que associada a um manejo prévio adequado das plantas-mãe e a protocolos eficientes de desinfestação dos explantes. O condicionamento nutricional e fitossanitário das plantas doadoras contribuiu para a obtenção de material vegetal mais vigoroso e uniforme, favorecendo o estabelecimento inicial das culturas in vitro.

Durante a fase de estabelecimento, observou-se que a contaminação foi mais intensa nos primeiros dias de cultivo, com 32,43% dos explantes contaminados na avaliação realizada aos sete dias após a inoculação. Na avaliação realizada aos 14 dias, verificou-se redução para 16% de contaminação entre as gemas remanescentes, indicando estabilização das culturas assépticas. Esses resultados confirmam que a fase inicial do cultivo in vitro é a etapa mais crítica do processo de micropropagação, sendo determinante para o sucesso das etapas subsequentes.

A ocorrência de oxidação fenólica em parte dos explantes demonstrou ser um fator limitante durante o estabelecimento das culturas, exigindo a substituição do meio de cultura para reduzir os efeitos dos compostos liberados pelos tecidos vegetais. Apesar disso, a maioria dos explantes oxidado permaneceu viável, evidenciando a importância do monitoramento e do manejo adequado das culturas durante essa fase.

Após aproximadamente 45 dias de cultivo, observou-se crescimento dos explantes e início da multiplicação vegetativa, com formação de novas brotações. A fragmentação dos explantes para indução da multiplicação mostrou-se eficiente, promovendo a quebra da dominância apical e estimulando a formação de novas gemas. Durante os 60 dias subsequentes em meio de multiplicação, não foram observadas contaminações tardias, indicando estabilidade das culturas estabelecidas e eficiência das condições assépticas mantidas no cultivo.

A individualização das brotações permitiu a continuidade do desenvolvimento das mudas, etapa essencial para a obtenção de plantas completas e aptas para fases posteriores do processo de produção de mudas em larga escala. De modo geral, os resultados demonstram que o protocolo de desinfestação e cultivo *in vitro* utilizado foi eficiente para o estabelecimento, multiplicação e manutenção de culturas assépticas de *T. Xanadu*.

Assim, conclui-se que a cultura de tecidos vegetais constitui uma ferramenta promissora para a propagação clonal dessa espécie ornamental, podendo contribuir para a produção de mudas uniformes, em maior escala e com qualidade sanitária superior aos métodos convencionais de propagação.

Como perspectivas futuras, recomenda-se a realização de novos estudos voltados à otimização da etapa de desinfestação dos explantes, incluindo a avaliação de outros agentes descontaminantes, como o hipoclorito de cálcio e peróxido de hidrogênio, além de diferentes concentrações e tempos de exposição de desinfetantes já utilizados. A investigação de combinações entre agentes químicos e ajustes no manejo das plantas-mãe também pode contribuir para a redução das taxas de contaminação e oxidação, aumentando a eficiência do estabelecimento *in vitro* de *T. xanadu*. Essas abordagens podem ampliar a padronização de protocolos de micropropagação para a espécie e fortalecer sua aplicação em escala comercial e experimental.

## REFERÊNCIAS

AGROLINK. **Mercado interno consome 95% da produção de flores e plantas ornamentais.** Disponível em:  
<https://www.agrolink.com.br/noticias/mercado-interno-consome-95--da-producao-de-flores-e->

[plantas-ornamentais\\_76696.html](#)

Acesso em: 5 fev. 2026.

AZOFEIFA-BOLAÑOS, J. B. et al. **Microbial contamination in plant tissue culture: causes, detection and control.** *Revista de Biología Tropical*, v. 67, n. 1, p. 1–15, 2019.

AZOFEIFA-BOLAÑOS, JB et al. Efeito da desinfecção de segmentos nodais no desempenho morfogênico de plantas in vitro de *Vanilla planifolia* Andrews. *Agronomía Mesoamericana*, v. 30, n. 1, p. 17, 2019.

BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66: 1085-1113

BOYCE, P.C. & Croat, T.B. 2014. The überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera.

CALDAS, L. S; Haridassan, P; Ferreira, M. E. Meios nutritivos. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. (Org.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-CNPq, v. 1, cap. 3, p. 87-117. 1998.

ENCYCLOPEDIA OF LIFE (EOL). *T.xanadu* Croat, Mayo & J. Boos. Disponível em: <https://www.eol.org/pages/245887>. Acesso em: 1 fev. 2026.

FORBES BRASIL. *Flores e plantas ornamentais se consolidam como um dos principais segmentos do agronegócio brasileiro*. 2024. Disponível em: <https://forbes.com.br>. Acesso em: fevereiro, 2026

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G.-J. **Plant propagation by tissue culture**. 3. ed. Dordrecht: Springer, 2008.

GEORGE, Hall & De Klerk (2008) — livro clássico de cultura de tecidos

GONZÁLEZ, A. et al. Manejo de plantas-mãe para estabelecimento de culturas in vitro. *Revista de Biotecnologia Vegetal*, 2012.

HARTMANN, H. T. et al. *Plant propagation: principles and practices*. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011.

HUSSAIN, A., Ahmed, I., Nazir, H., & Ullah, I. (2012). Plant Tissue Culture: Current Status and Opportunities. InTech. doi: 10.5772/50568

IBRAFLOR - INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Números do Setor**. Holambra, 2024. Disponível em: . Acesso em: jan. 2026 (INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA.Holambra, 2026)

ÍNDICE IPNI (2026). Internacional de Nomes de Plantas. <http://www.ipni.org>, The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries e Australian National Herbarium. [Acessado em 02 de fevereiro de 2026].

INTERNATIONAL SOCIETY FOR HORTICULTURAL SCIENCE (ISHS). *History and development of ornamental horticulture*. Leuven, 2016.

LEIFERT, C.; CASSELLS, A. C. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 37, p. 133–138, 2001.

McCONNELL, DB *et al.* Diretrizes culturais para a produção comercial de plantas ornamentais de interior. *Thaumatophyllum* University of Florida. 2003. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu> Acesso em: 25 de janeiro de 2026.

MUÑOZ-CASTELLANOS, L. N. et al. Surface disinfection methods in plant tissue culture. *Plants*, 2022.

NATIONAL PARKS BOARD. *T.xanadu*. Flora & Fauna Web: Singapore Government. Disponível em: <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/1/4/1486>. Acesso em: jan. 2026

NOTÍCIAS AGRÍCOLAS. *Floricultura cresce e movimenta mais de R\$ 21 bilhões no Brasil*. 2024. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br>. Acesso em: fevereiro de 2026.

PIERIK, R. L. M. **In vitro culture of higher plants**. Dordrecht: Springer, 1997. N

ROUT, G. R.; MOHAPATRA, A.; JAIN, S. M. Tissue culture of ornamental pot plants: present scenario and future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 531–560, 2006.

ROUT, GR; MOHAPATRA, A.; JAIN, SM. Cultura de tecidos de plantas ornamentais em vasos: uma revisão crítica do cenário atual e das perspectivas futuras. *Biotechnology Advances*, v. 24, n. 6, p. 531-560, 2006

SAKURAGUI CM, Calazans LSB, de Oliveira LL, de Moraes ÉB, Benko-Iseppon AM, Vasconcelos S, Schrago CEG, Mayo SJ. Recognition of the genus *Thaumatophyllum* Schott - formerly *Philodendron* subg. *Meconostigma* (Araceae) - based on molecular and morphological evidence. *PhytoKeys*. 2018 May 2;(98):51-71.

SATHYANARAYANA, B.N., VARGHESE, D.B. Plant Tissue Culture. Practices and new experimental protocols. I. K. International Pvt Ltd. 316p. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

Thorpe T. History of plant tissue culture. *Methods Mol Biol*. 2012;877:9-27. doi: 10.1007/978-1-61779-818-4\_2. PMID: 22610616.

THORPE, T. A. **Applications of plant tissue culture**. In *Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, v. 48, p. 1–8, 2012.

THORPE, T. A. **History of plant tissue culture**. *Molecular Biotechnology*, v. 37, p. 169–180, 2007.

TOMBOLATO, A. F. C. et al. **Bulbosas ornamentais no Brasil**. *Ornamental Horticulture*, v. 16, n. 2, 2010.

UEMURA FLORES E PLANTAS. *T.xanadu BR – pote 23 cm*. Disponível em: <https://www.uemurafloreseplantas.com.br/1e9066/xanadu-br-pote-23-cm>. Acesso em: 1 fev. 2026.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO (UNAM). Cultivo in vitro de tejidos vegetales. Disponível em: <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/5bb7844e-ae14-4c71-8d4d-1475d554f0e3/content>. Acesso em: 7 fev. 2026.