



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA
FINS ORNAMENTAIS**

INGRID BEATRIZ SILVA DE SOUZA

BRASÍLIA, 05 DE NOVEMBRO 2021

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA
FINS ORNAMENTAIS**

INGRID BEATRIZ SILVA DE SOUZA
ORIENTADORA: DR. CRISTIANE DA SILVA FERREIRA

BRASÍLIA, 05 DE NOVEMBRO DE 2021

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

INGRID BEATRIZ SILVA DE SOUZA

**DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA
FINS ORNAMENTAIS**

Trabalho de conclusão de curso submetido à
faculdade de agronomia e medicina veterinária
da universidade de Brasília, como requisito
parcial para a obtenção do grau de engenheiro
agrônomo.

APROVADO PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 05/11/2021

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. CRISTIANE DA SILVA FERREIRA
Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, UnB
(ORIENTADORA)

Dra. CHRISTINA CLEO VINSON WILLIAMS
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB

Dra. JOSEPHINA BARATA DA VEIGA
Agência de Desenvolvimento Sustentável do Amazonas – ADS

BRASÍLIA, 05 DE NOVEMBRO DE 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

SOUZA, INGRID BEATRIZ SILVA DE. **DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA FINS ORNAMENTAIS**. Brasília, 2021. Orientação de Cristiane da Silva Ferreira. Trabalho de Conclusão de Curso Agronomia – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. 26 p.: il.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUZA, I. B. S. **DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA FINS ORNAMENTAIS**. 2021. 26 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Ingrid Beatriz Silva de Souza

TÍTULO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (GRADUAÇÃO):

DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA FINS ORNAMENTAIS.

Grau: Engenheiro Agrônomo Ano: 2021.

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. Os autores reservam-se os outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito dos autores.

Ingrid Beatriz Silva de Souza

E-mail: ingrid.beatriz98@gmail.com

BRASÍLIA, 05 DE NOVEMBRO DE 2021

DEDICATÓRIA

À Deus por me propiciar saúde e vida.

À minha família, em especial minha mãe, Maria de Fátima Silva Rosa, que me assegurou a oportunidade de estar na universidade e hoje poder concluir este curso. Ao meu esposo Paulo Henrique da Silva Sousa por todo apoio incondicional, carinho, companheirismo e compreensão. Ao meu filho Miguel Silva de Souza que hoje se torna a razão do meu viver.

À minha orientadora Cristiane da Silva Ferreira, cuja dedicação e paciência serviram como pilares de sustentação para a conclusão deste trabalho. Grata por tudo.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Cristiane da Silva Ferreira, pelos ensinamentos, companheirismo, confiança, apoio e incentivo. Uma constante fonte de motivação ao longo de todo o projeto.

À minha família, pilares da minha formação como ser humano.

As amigas Giovana Mazutti Silva e Leticia Costa Geraldo, que sempre estiveram ao meu lado compartilhando sua experiência de forma construtiva. Gratidão!

A todos os profissionais do Laboratório de Fisiologia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, em especial ao técnico Fábio Nakamura, por todo o apoio ao longo da realização desse trabalho.

Aos docentes e discentes do curso de Agronomia da Universidade de Brasília, que me forneceram todas as bases necessárias para a realização deste trabalho, agradeço com profunda admiração e fico lisonjeada por ter feito parte disso.

A todos os funcionários da Universidade de Brasília que contribuíram direta ou indiretamente para o cumprimento desta jornada acadêmica. Obrigado!

“A vida é fruto da decisão de cada momento. Talvez seja por isso que a ideia de plantio seja tão reveladora sobre a arte de viver. ”

(Padre Fábio de Melo)

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1. Espécies estudadas	14
3.1.1. <i>Rosa chinensis</i> Jacq.	14
3.1.2. <i>Dracaena trifasciata</i> (Prain) Mabb.	15
3.1.3. <i>Sequoia sempervirens</i> (D. Don) Endl.	15
3.2. Obtenção dos explantes.....	16
3.3. Procedimentos de esterilização e assepsia	17
3.4. Meios de cultura e cultivo <i>in vitro</i>	18
3.5. Delineamento estatístico	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS	23

DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES E CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS PARA FINS ORNAMENTAIS

RESUMO

As plantas ornamentais, são amplamente utilizadas na decoração de diversos ambientes em função da beleza e da sensação de bem-estar que promovem. O mercado se baseia, principalmente na produção e comercialização de flores e plantas que mantenham suas características estéticas. Neste sentido, a técnica de cultura de tecidos tem sido uma aliada do setor, pois possibilita regenerar uma planta inteira a partir de um tecido ou órgão vegetal (explante) da planta que se deseja clonar. O objetivo do presente estudo foi identificar fontes viáveis de explantes, com fácil acesso, e testar protocolos de desinfestação destes, para estabelecimento do cultivo *in vitro* das espécies ornamentais *Rosa chinensis* e *Dracaena trifasciata*, bem como, avaliar o potencial ornamental de *Sequoia sempervirens* obtida de explantes de plantas mantidas *in vitro*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília. Foi testada a eficiência da solução comercial de hipoclorito de sódio 25% por 25 e 20 minutos na descontaminação dos explantes utilizados de *R. chinensis* e *D. trifasciata*, respectivamente, assim como a otimização de protocolos de meio de cultura para o estabelecimento inicial do cultivo de *R. chinensis*, *D. trifasciata* e *S. sempervirens*. Foi observada a contaminação em apenas 20% de do material inoculado de *R. chinensis* e *D. trifasciata*, demonstrando a eficiência do protocolo de esterilização utilizando hipoclorito de sódio. A regeneração de plantas de *R. chinensis* foi favorecida em meio de MS contendo hormônios AIA e BAP, enquanto *D. trifasciata* necessitou apenas de água para se desenvolver. O estudo também confirmou o potencial ornamental de plântulas da *S. sempervirens* geradas *in vitro*, uma vez que novas plantas foram regeneradas com sucesso a partir de um explante asséptico.

Palavras-chave: Plantas ornamentais. Cultura de tecidos. Desinfestação. *Rosa chinensis*. *Dracaena trifasciata*. *Sequoia sempervirens*.

ABSTRACT

Ornamental plants are widely used for decorating different environments due to their beauty and sense of well-being they promote. The market is mainly based on the production and sale of flowers and plants that maintain their aesthetic characteristics. In this regard, the tissue culture technique has been an ally of the sector, as it makes it possible to regenerate an entire plant (clone) from tissues or organs (explant). The aims of the present study were to identify viable sources of explants, with easy access, and to test disinfection protocols for the establishment of *in vitro* cultivation of the ornamental species *Rosa chinensis* and *Dracaena trifasciata*, and to evaluate the ornamental potential of *Sequoia sempervirens* obtained from *in vitro* explants. The experiment was carried out at the Tissue Culture Laboratory of the Botany Department of the University of Brasília. The efficiency of a 25% sodium hypochlorite commercial solution in the decontamination of explants of *R. chinensis* and *D. trifasciata* was tested, using respectively 25 and 20 minutes. This was followed by the optimization of culture medium protocols for the initial establishment of explants of *R. chinensis*, *D. trifasciata* and *S. sempervirens*. Contamination was observed in only 20% of the inoculated material of *R. chinensis* and *D. trifasciata*, demonstrating the efficiency of the sterilization protocol using sodium hypochlorite. The regeneration of *R. chinensis* plants was favored in MS medium containing AIA and BAP hormones, while *D. trifasciata* only needed water to develop. The study also confirmed the ornamental potential of *S. sempervirens* seedlings generated *in vitro*, as new plants were successfully regenerated from an aseptic explant.

Keywords: Ornamental plants. Tissue culture. Disinfection. *Rosa chinensis*. *Dracaena trifasciata*. *Sequoia sempervirens*.

1. INTRODUÇÃO

Plantas ornamentais, é um termo amplo que se refere a espécies bastante utilizadas em função da beleza encontrada em suas flores, inflorescências, folhagens, frutos e caule com cores, formas, texturas e aromas diversos. O cultivo dessas plantas visa, principalmente, seu emprego na decoração de interiores e no paisagismo de ambientes externos para torná-los mais atraentes e promover o bem-estar, através do uso de espécies nativas ou introduzidas, muitas vezes ligadas a cultura local (HURRELL, 2016).

Utilizadas desde os primórdios da humanidade, as plantas ornamentais sofreram um grande processo de domesticação e seleção, além da introdução indiscriminada de espécies exóticas, o que gerou uma grande perda de populações naturais e degradação da biodiversidade. Essas espécies exóticas já se encontram amplamente cultivadas e melhoradas geneticamente, facilitando sua produção em larga escala, por serem herança de paisagistas europeus que replicaram aqui seus jardins, até o surgimento de Roberto Burle Marx, que através do uso de espécies tropicais, criou jardins que enalteciam a vegetação brasileira e remetiam seus biomas Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pampas, Pantanal e a Amazônia. As pesquisas nesse campo da ciência passaram a se concentrar em trazer conhecimento sobre o cultivo e a produção comercial dessas espécies nativas, passando a fomentar o setor de floricultura e plantas ornamentais (LORENZI; MELLO FILHO, 2001; BARRET, 2007).

No Brasil, nos últimos anos, verificou-se uma expansão do mercado de ornamentais, que se tornou relevante para o agronegócio brasileiro através da geração de renda e criação de empregos, além de propiciar beleza e bem-estar em diversos ambientes (CONAB, 2021). Foi um setor que resistiu consideravelmente à diversas crises econômicas e financeiras e desde 2008 se mostrou estável e confiável (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

No entanto, esse cenário mudou com a pandemia do Covid-19. No início, as medidas de isolamento acabaram afetando abruptamente o setor de flores, folhas e folhagens de corte em razão dos inúmeros cancelamentos de eventos nos mais diversos segmentos (CONAB, 2021). Porém, o setor buscou reação se adequando à nova realidade por meio da inovação e uso de ferramentas tecnológicas de vendas. Depois, o que se observou foi um acréscimo na demanda por plantas ornamentais que exigiam menos cuidados e menor incidência de luz direta. Tais fatos, revelavam uma variável no comportamento do consumidor devido ao isolamento imposto pela pandemia, denominado quarentena (ANACLETO et al. 2021; CONAB, 2021). Tendo em vista que os consumidores passaram a permanecer mais no

ambiente doméstico, em virtude do *home office*, estes buscaram realizar adequações para tornar esses ambientes mais aconchegantes através da ornamentação natural com vasos ou mesmo com minijardins, que é a simulação de um jardim dentro de um vaso ou recipiente semelhante (CONAB, 2021). Essa foi a forma encontrada por muitos para se sentirem em maior contato com a natureza, o que resultava em importante efeito terapêutico durante o período de quarentena, devido a sensação de relaxamento e bem-estar que proporcionava (ANACLETO et al. 2021).

Dado o exposto, pode se constatar que o mercado de plantas ornamentais tem se mantido em constante desenvolvimento, se adequando sempre à cultura e a mudança de comportamento do consumidor, tanto em nível regional quanto global (ANACLETO et al. 2021, CONAB 2021). Por outro lado, suprir a demanda da produção em larga escala de plantas que mantenham os atributos originais da planta matriz e cuja multiplicação ocorra em menor escala de tempo sempre foi um desafio aos produtores. Nas últimas décadas, uma importante ferramenta biotecnológica tem se popularizado como aliada na manutenção da indústria de plantas ornamentais, a técnica de cultura de tecidos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; FARIA et al. 2006; COLOMBO et al. 2010). A cultura de tecidos de plantas consiste na micropropagação asséptica de espécies baseada na totipotência das células, onde podemos realizar por meio de explantes (fragmentos da planta com tecido meristemático) uma clonagem vegetal, ou seja, uma propagação assexuada de células ou organismos de modo a obter um novo indivíduo, mantendo-se o genótipo idêntico àquele do ancestral comum (TORRES et al. 2000).

Além de trabalhar com características selecionadas, a técnica possibilita a reprodução da espécie em larga escala, através de clones, garantindo assim a qualidade genética e estética do material, uniformidade de lote, agilidade na produção, material livre de pragas e doenças e garantia de produção durante todo o ano. Isso ocorre graças a possibilidade de produção em condições controladas que a técnica oferece, atendendo as exigências de qualidade que o setor dispõe, principalmente no ramo das exportações (TEIXEIRA, 2012).

A técnica oferece diversas vantagens na sua aplicação e pode ser realizada através de diferentes métodos laboratoriais em função do genótipo, tipo de explante e condições da cultura utilizada. Além da multiplicação de espécies, em especial aquelas com difícil propagação ou que possuam poucos representantes disponíveis, também é empregada na limpeza clonal produzindo espécies livre de vírus e outros microrganismos, produção de

metabólitos secundários, melhoramento genético e suporte técnico a aplicação básica nas áreas da bioquímica, fisiologia vegetal, fitopatologia e citogenética (QUISEN; ANGELO, 2008).

O sucesso da aplicação técnica, no entanto, depende tanto da escolha do melhor explante viável (sementes, brotos, ápices, folhas), quanto do processo de descontaminação desses explantes (OLIVEIRA et al. 2018), através da elaboração de eficientes protocolos de desinfestação. A desinfestação consiste na eliminação de microrganismos superficiais em um explante, utilizando-se soluções desinfetantes (TORRES et. al 2000), podendo ser realizada através do uso de diversos compostos onde a concentração e o tempo variam em função do explante utilizado. Dentre esses compostos destacam-se cloreto de mercúrio, álcool, etanol, peróxido de hidrogênio, nitrato de prata, bem como a termoterapia que pode estar associada ou não a outros meios de desinfestação (MROGINSKI; ROCA, 1991; VILLALOBOS; THORPE, 1991; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LAMEIRA et.al 2000). Normalmente utiliza-se compostos a base de cloro comercial como o hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio em menor proporção, por ser um método de baixo custo e de fácil manuseio. Em conjunto ao composto desinfetante é comum a utilização de um produto tenso ativo que promove um melhor contato da substância com os tecidos do explante através da quebra da tensão superficial da água, destacando-se o Tween 20% (MROGINSKI; ROCA, 1991). Porém este pode ser substituído por um detergente neutro comercial, visando a redução de custos do processo (LAMEIRA et.al 2000; YOSHIKO et. al 2001).

A relevância do processo de desinfestação para o cultivo *in vitro*, ocorre devido a elevada proliferação de bactérias e fungos, que competem por nutrientes do meio de cultura e podem levar à morte da planta. Deste modo, o desenvolvimento de protocolos de assepsia e o controle de contaminação por microrganismos são etapas essenciais para o sucesso da micropropagação de plantas ornamentais *in vitro*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este estudo teve por objetivo avaliar a eficiência da solução comercial de hipoclorito de sódio na assepsia dos explantes de *Rosa chinensis* e *Dracaena trifasciata*, a fim de estabelecer um protocolo de desinfestação de baixo custo, que auxilie no cultivo *in vitro* dessas plantas. Adicionalmente, realizar a manutenção da propagação vegetativa de *Sequoia*

sempervirens, a partir de material *in vitro*, com vistas à obtenção de plantas para uso ornamental.

2.2. Objetivos específicos

- Testar a eficiência de protocolos de assepsia que utilizam solução comercial de hipoclorito de sódio, nos explantes de *R. chinensis* e *D. trifasciata* visando o controle de contaminação por microrganismos.

- Testar a viabilidade do explante para o cultivo *in vitro* de *R. chinensis* e *D. trifasciata* e *S. sempervirens*.

- Avaliar a viabilidade de *S. sempervirens* para uso ornamental em minijardins, a partir do sucesso em sua micropropagação, regeneração e da manutenção da planta em condições de cultivo *in vitro*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Espécies estudadas

3.1.1. Rosa chinensis Jacq.

Espécie popularmente conhecida como mini-rosa ou rosa de cacho, pertence ao gênero *Rosa* da família Rosaceae, sendo uma das espécies de flores mais cultivada e comercializada para fins ornamentais no mundo, considerada a rainha das flores. Originária da Ásia, a espécie possui hábito lenhoso e perene, podendo se desenvolver em um arbusto bastante ramificado com até 1.5 m de altura e acúleos no caule. Originalmente, suas flores eram solitárias com apenas cinco sépalas e cinco pétalas de brancas a vermelhas, bastante diferente das rosas cultivadas atualmente que contam com dezenas de pétalas, exalando ainda mais sua beleza e perfume. É amplamente cultivada em todo mundo com diversas variedades e cultivares advinda de programas de melhoramento genético que focaram principalmente no seu potencial ornamental. Além disso, a rosa é amplamente utilizada para fins medicinais, terapêuticos, culturais, alimentícios e na indústria cosmética (EFLORAS, 2021; HUNI, 2021).

3.1.2. *Dracaena trifasciata* (Prain) Mabb.

Conhecida como espada de São Jorge, pertence ao gênero *Dracaena* da família Ruscaceae (MABBERLEY, 2017). Tem sua origem na África e atualmente é cultivada em escala mundial para fins ornamentais e através do misticismo que a cerca em algumas religiões de matriz africana. É uma espécie de hábito herbáceo com folhas suculentas, lanceoladas, com manchas transversais irregulares e intercaladas, dispostas em roseta. Possui inflorescências de coloração rosa ou esbranquiçada, com frutos carnosos e alaranjados. Muitas variedades e cultivares são ornamentalmente categorizadas como folhagens, sendo utilizadas na decoração de diversos ambientes como plantas em vaso ou como folhagens de corte na composição de arranjos. Além disso, também é utilizada para fins medicinais, fonte de fibra vegetal e atua na melhora da qualidade do ar absorvendo compostos tóxicos como formaldeído e óxidos de nitrogênio (CLAVERO, 2020; HUNI, 2021).

3.1.3. *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl.

Pertencente ao gênero *Sequoia* da família Cupressaceae, popularmente conhecida como Sequoia vermelha, é a única espécie existente do gênero, sendo uma das árvores mais altas do mundo. Em 2013 a espécie foi incluída na lista vermelha da International Conservation (IUCN) como espécie ameaçada (FARJON; SCHMID, 2013). São espécies com hábito lenhoso e perene, podendo atingir diâmetros de até 9 m e cerca de 110 m de altura e viver milhares de anos. Com folhagem semelhante a pinheiros, perene e cônica, produz frutos do tipo cone e são restritas originalmente as encostas da Califórnia-EUA e atualmente aos Parques Nacionais e Estatais de Redwood, onde encontram condições ideais de água e ar seco para sua sobrevivência e multiplicação (EFLORAS, 2021). Por possuir uma madeira de alta qualidade, tem despertado interesse na silvicultura, desencadeando diversos estudos sobre a espécie, inclusive sua propagação através da cultura de tecidos, em um cenário em que vinha sendo utilizada apenas para fins de ornamentação, adaptação e conservação da espécie no Brasil (MENEGUZZI et al., 2019).



Figura 1: Indivíduos adultos de *Rosa chinensis* (A) *Dracaena trifasciata* (B) e *Sequoia sempervirens* (C). Fotos: (A) ©Plantnet, (B) © Projeto Jardinando, (C) C. S. Ferreira.

3.2. Obtenção dos explantes

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília. Os explantes foram obtidos através de sementes ou do meristema da gema apical, em indivíduos adultos, das espécies estudadas (Tab. 1). O material biológico, fonte do explante, foi conservado em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (sementes) ou em sala de crescimento (planta em estágio vegetativo) sob controle de temperatura ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo de 12h, nas dependências do laboratório de Fisiologia Vegetal (UnB).

As plantas de *R. chinensis* e *D. trifasciata*, utilizadas como fonte de explantes, foram adquiridas em viveiros comerciais na região de Brasília. Para obtenção dos explantes de *S. sempervirens* foram utilizadas plantas cultivadas *in vitro* no laboratório de Cultura de tecidos da UnB.

Tabela 1: Espécies utilizadas nos protocolos de assepsia e de meios nutritivos para cultivo *in vitro*.

Espécie	Família	Parte da planta utilizada
<i>Rosa chinensis</i>	Rosaceae	Gemas axiais
<i>Dracaena trifasciata</i>	Ruscaceae	Sementes
<i>Sequoia sempervirens</i>	Cupressaceae	Gemas axiais

De cada espécie, os explantes foram obtidos da seguinte forma:

Rosa chinensis: os explantes com cerca de 3 cm, foram obtidos da região apical dos ramos, contendo cerca de 1-2 gemas. Após a retirada das folhas, foram lavados em água corrente.

Dracaena trifasciata: sementes maduras foram retiradas dos frutos e lavadas em água corrente, com auxílio de uma peneira, fazendo leve fricção para retirada de toda a polpa.

Sequoia sempervirens: os explantes com cerca de 3 cm, foram obtidos da região apical de ramos cultivados *in vitro*, contendo cerca de 2-3 gemas. Em câmara de fluxo laminar, estes eram retirados do meio de cultivo e cortados para inoculação.

3.3. Procedimentos de esterilização e assepsia

Foi utilizado um protocolo de esterilização inicial a base de solução hipoclorito de sódio 25% (25 ou 20 minutos), descrito abaixo, para as espécies de *R. chinensis* e *D. trifasciata*. Antes de iniciar cada protocolo de esterilização e assepsia, os explantes eram lavados em água corrente e envolvidos, individualmente, em tecido gaze.

Hipoclorito de sódio 25% (25 ou 20 minutos): na câmara de fluxo laminar os explantes das espécies *R. chinensis* (gemas axiais do caule) foram imersos por 25 minutos em solução comercial de hipoclorito de sódio 25%, contendo duas gotas de detergente comercial. Para a espécie *D. trifasciata* (sementes) o tempo de imersão foi de 20 minutos. Em seguida os explantes foram lavados em água autoclavada três vezes. Depois de desinfestados, os explantes foram dispostos em placa de cultura esterilizada para posterior inoculação.

Os explantes de *S. sempervirens* foram obtidos de ramos sadios estabilizados *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília, com isso não sofriam esterilização antes da inoculação. Contudo, visando garantir a assepsia do material, em câmara de fluxo laminar, além da utilização de materiais previamente autoclavados a 120 atm por 20 minutos, ocorria a constante higienização das mãos e antebraço com álcool 70%, bem como, a flambagem inicial com três repetições de pinças e lâminas, que após o manuseio de cada explante era novamente flambada para garantir a saúde do material inoculado e evitar possíveis contaminações, mesmo procedimento utilizado para as outras espécies.

3.4. Meios de cultura e cultivo *in vitro*

Para testar a viabilidade do explante e a eficiência dos procedimentos de esterilização e assepsia, os explantes foram cultivados *in vitro* por 60 dias. Os meios de cultura utilizados de todas as espécies, foram previamente ajustados para pH 5,7 e autoclavados a 120 atm por 20 minutos.

Meio de cultura - *Rosa chinensis*: gemas axiais do caule, foram inoculadas em meio de cultura, composto por MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) + 30 g/L sacarose + 7 g/L ágar, suplementado com 0,1 mg/L AIA (auxina, ácido indolacético) + 0,5 mg/L BAP (citocinina, benzilaminopurina), dispostos em tubos de ensaio e após lacrados com parafilme.

Meio de cultura - *Dracaena trifasciata*: não foi utilizado qualquer meio, sendo as sementes adicionadas em tubos de ensaio contendo 25 ml de água destilada com ponte de papel filtro e após, lacrados com parafilme.

Meio de cultura - *Sequoia sempervirens*: gemas axiais do caule, foram inoculadas em meio de cultura composto por MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) + 30 g/L sacarose + 7 g/L ágar, dispostos em tubos de ensaio e após lacrados com parafilme.

Todos os explantes inoculados das três espécies estudadas, foram dispostos em estantes inox e cultivados *in vitro* em sala de crescimento sob controle de temperatura (25 °C) e fotoperíodo de 12h, nas dependências do laboratório de Fisiologia Vegetal (UnB).

3.5. Delineamento estatístico

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 50, 10 e 25 repetições para as espécies *Rosa chinensis*, *Dracaena trifasciata* e *Sequoia sempervirens*, respectivamente, dispostas em tubos de ensaio ao acaso. Foi realizada a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5%. Para as análises foi utilizado o programa Minitab 20. Os resultados estão apresentados graficamente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O protocolo de esterilização utilizando solução germicida a base de hipoclorito de sódio, testado para sementes e gemas axiais das espécies ornamentais de *R. chinensis* e *D. trifasciata*, é de uso geral no laboratório de Cultura de Tecidos da UnB, tendo sido aplicado com sucesso para desinfestar sementes de espécies nativas do Cerrado e tubérculos de batata (*Solanum tuberosum*) como fontes de explantes (A.C.Torres, dados não publicados). Por se tratar de um método de baixo custo e de fácil manuseio, uma vez que seu emprego dispensa a necessidade de equipamentos especiais, temos buscado ampliar seu uso para outras plantas/explantes por meio de testes que avaliem sua capacidade de assepsia. Nesse estudo, a contaminação ocorreu em apenas 20% dos explantes das duas espécies (Tab. 2), o que está dentro do esperado para a cultura de tecidos (SOUSA et al. 2007), evidenciando ser um método eficiente de descontaminação para os explantes de *R. chinensis* e *D. trifasciata* analisados.

Tabela 2: Porcentagem de contaminação dos explantes cultivados *in vitro* por 60 dias.

Espécie	Nº de explantes inoculados	Nº de explantes contaminados	Porcentagem de contaminação
<i>Rosa chinensis</i>	50	10	20%
<i>Dracaena trifasciata</i>	10	2	20%
<i>Sequoia sempervirens</i>	25	0	0%

A busca por métodos menos onerosos de assepsia na propagação de plantas por cultura de tecidos têm sido uma constante entre os pesquisadores (OLIVEIRA et al. 2018). Ribeiro et al. (2011) obtiveram sucesso na desinfestação de explantes de *S. sempervirens* utilizando diferentes concentrações de hipoclorito de sódio adicionado ao meio de cultura antes

de autoclavar. Em *R. chinensis* e *D. trifasciata*, a descontaminação foi efetiva a partir da simples imersão em concentração elevada antes de inocular o explante. Desde que os demais cuidados assépticos, usuais durante a manipulação de explantes em cultura de tecidos, sejam respeitados, o uso de hipoclorito de sódio em sua solução comercial pode ser suficiente para garantir o sucesso da assepsia.

Rosa chinensis respondeu bem ao cultivo em meio MS suplementado com hormônios (AIA e BAP), que induzem o enraizamento e crescimento da parte aérea, respectivamente. Alguns explantes de *R. chinensis* desenvolveram flores durante o cultivo *in vitro*, o que foi observado ao final dos 60 dias (Fig. 2).



Figura 2: *Rosa chinensis* produzindo (A) botões florais ou (B) flores *in vitro*.

Para *D. trifasciata*, a semente da planta se mostrou como uma boa fonte de explante, necessitando apenas de água na etapa inicial de germinação, sem a introdução em um meio de cultura (contendo nutrientes e/ou hormônios) para o desenvolvimento de uma plântula nas condições *in vitro* (Fig. 3).



Figura 3: Desenvolvimento completo da parte aérea e radicular de *Dracaena trifasciata* cultivada *in vitro* com (A) 30 dias e aos (B) 60 dias.

Rosa chinensis e *D. trifasciata*, possuem reconhecido valor ornamental com a comercialização de suas plantas por meio de cultivo tradicional. Este trabalho contribui para o conhecimento sobre o cultivo *in vitro* das duas espécies, adicionando informações a respeito da desinfestação eficiente para efetuar sua propagação.

O presente estudo confirma o potencial ornamental de plântulas da *S. sempervirens* cultivadas *in vitro* (RIBEIRO et al. 2011), uma vez que novas plantas podem ser regeneradas com sucesso a partir de explantes assépticos. Contudo, são necessários cuidados na manipulação dos explantes para evitar a contaminação em novo meio de cultura. A assepsia durante o manuseio dos ramos estabelecidos *in vitro* de *S. sempervirens*, bem como na inoculação em novo meio de cultura é de suma importância para o estabelecimento da nova plântula, uma vez que não sofrem nova esterilização antes da inoculação. A partir da sequência de cuidados na limpeza e da prática de manipulação, foi possível notar que não houve contaminação do material inoculado (Tab. 2) com o desenvolvimento normal de uma plântula em condições *in vitro* (Fig. 4).



Figura 4: Cultivo *in vitro* de *Sequoia sempervirens*: (A) parte aérea desenvolvida em meio de cultura; (B) nos frascos está o material utilizado para a obtenção de explantes, enquanto os tubos de ensaio (no suporte azul) contêm plantas inteiras, com raiz e parte aérea, regeneradas *in vitro*.

Além do uso da planta na arborização de parques e jardins botânicos, principalmente em países de clima temperado, o excelente vigor e longevidade de *S. sempervirens* desperta o interesse para a produção e comercialização de bonsais, sendo o cultivo de minijardins clonais, obtidos a partir de estacas da planta, a principal forma de propagação vegetativa (PEREIRA et al. 2019). Porém, a planta tem potencial, também, para a composição de minijardins domésticos com miniaturas de *S. sempervirens*. Estudos mostraram que a assepsia dos explantes para cultivo *in vitro* não costuma ser exigente em sua desinfestação (RIBEIRO et al. 2011). Aqui nós demonstramos que a espécie tolera bem o cultivo *in vitro*, com uma manutenção de baixo custo, sob condições adequadas impostas pela técnica.

Em termos da biologia e importância ecológica, *S. sempervirens* tem baixa taxa de germinação (<10%) e apresenta crescimento lento (BOE, 1974), somam se a isso, o fato estar listada na categoria de ameaçadas (FARJON; SCHMID 2013). Neste contexto, a propagação vegetativa é uma excelente alternativa para uso da planta em maior escala no mercado de plantas ornamentais, garantindo que a espécie se mantenha preservada.

5. CONCLUSÃO

O uso de hipoclorito de sódio na concentração de 25% durante 25 ou 20 minutos, para tratar os explantes obtidos do ápice de *R. chinensis* ou sementes de *D. trifasciata*,

respectivamente, se mostrou eficiente para controlar a contaminação das plantas em meio de cultura.

A regeneração de plantas de *R. chinensis* foi favorecida em meio de MS contendo AIA e BAP, enquanto *D. trifasciata* necessitou apenas de água para se desenvolver.

Por fim, a manutenção de *S. sempervirens* se mostrou viável a partir de explantes mantidos em condições assépticas. A utilização de plantas de *S. sempervirens*, obtidas de cultivo *in vitro*, para compor minijardins é uma alternativa que se mostra viável e que pode agregar valor ao comércio desse tipo de produto ornamental e ainda contribuir para a preservação da espécie.

6. REFERÊNCIAS

ANACLETO, A.; BORNANCIN, A. P. A.; MENDES, S. H. C.; SCHEUER, L. Entre flores e temores: a pandemia do novo coronavírus (COVID-19) e o comércio varejista de flores.

Ornamental Horticulture, [S.l.], v. 27, n. 1, p. 26-32, 2021. ISSN 2447-536X.

Doi:<https://doi.org/10.1590/2447-536X.v27i1.2232>.

BARRET, C.; VIANA, A. M. B.; CASTRO, A. C. R.; VINHAS, N. J. Plantas do futuro do NE: plantas ornamentais, produtoras de fibras e com sementes ornamentais. **Ornamental Horticulture**, [S.l.], v. 13, p. 2122-2130, 2007. ISSN 2447-536X.

Doi:<https://doi.org/10.14295/oh.v13i0.1977>

BOE, K. N. *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. In: SCHOPMEYER, C. S. (Ed.). Seeds of woody plants in the United States. **Agriculture Handbook**, 450., Washington: USDA Forest Service, p. 764-766, 1974.

CLAVERO, J. I. J. Notas taxonómicas sobre el género *Dracaena* Vand. ex L.y su presencia en España. **Bouteloua**. v. 30, p. 49-53, 2020. ISSN 1988-4257

COLOMBO, L.A.; DE ASSIS, A. M.; FARIA, R. T.; ROBERTO, S. R. Estabelecimento de protocolo para multiplicação *in vitro* de Bastão-do-imperador (*Etilingera elatior*) Jack RM Sm. **Acta Scientiarum. Agronomy**. v. 32, p. 695-700, 2010.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim Hortigranjeiro**, Brasília, DF, v. 7, n. 5, 2021. Disponível

em:<https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/37128_38dc3fb15ee3ecb65a083346c82b6414>. Acesso em: 27 de Set de 2021.

EFLORAS. Cupressaceae: *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endlicher. **Flora of North America**, v. 2, 2021. Disponível

em:<http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=200005399>. Acesso em: 27 de Set de 2021.

EFLORAS. Rosaceae: *Rosa chinensis* Jacq. **Flora of Pakistan**, p. 122, 2021. Disponível

em:<http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=5&taxon_id=200011233>. Acesso em: 27 de Set de 2021.

FARIA, R. T. DE, DALIO, R. J. D., UNEMOTO, L. K., & SILVA, G. L. DA. Propagação in vitro de *Oncidium baueri* Lindl. (Orchidaceae) sem uso de ágar. **Acta Scientiarum: Agronomy**, v. 28, n. 1, p. 71-74, 2006.

FARJON, A.; SCHMID, R. *Sequoia sempervirens*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2013: e.T34051A2841558. Disponível

em:<<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T34051A2841558>>. Acesso em: 20 de Out. de 2021.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, v. 1, p. 43-76, 1998.

HERBÁRIO PROF. JORGE PEDRO PEREIRA CARAUTA – HUNI. *Rosa chinensis* Jacq. **Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro**, 2021. Disponível em:

<<http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/rosa-chinensis-jacq>>. Acesso em: 27 de Set. de 2021.

HERBÁRIO PROF. JORGE PEDRO PEREIRA CARAUTA – HUNI. *Sansevieria trifasciata* Prain. **Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro**, 2021. Disponível em: <

<http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/sansevieria-trifasciata-prain>>. Acesso em: 27 de Set. de 2021.

HURRELL, J. A. Ornamental Plants. In: ALBUQUERQUE U.; ALVES, R. N. (org.). **Introduction to Ethnobiology**. Cham: Springer. p. 71-176, 2016.

Doi:https://doi.org/10.1007/978-3-319-28155-1_25

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014.
Doi:<https://doi.org/10.14295/rbho.v20i2.727>

LAMEIRA, O.A.; LEMOS, O.F.; MENEZES, I.C. de; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de tecidos (manual)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000.

LORENZI, H.; MELLO FILHO, L.E. As plantas tropicais de R. Burt Marx. Nova Odessa, MABBERLEY, D. J. **Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classifications and uses**. Ed. 4. Cambridge: Cambridge University Press, 2017.

MENEGUZZI, A.; CAMARGO, S. S.; NAVROSKI, M. C.; PEREIRA, M. O.; SOUZA, P. F.; RUFATO, L. Ágar e carvão ativado influenciam no desenvolvimento in vitro da parte aérea e radicular de sequoia. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lajes, v. 18, p. 20-24, 2019.

MROGINSKI, L. A.; ROCA W. M. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro. *In*: MROGINSKI, L. A.; ROCA W. M. **Cultivo de Tejidos en la Agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT. Cap 2, p. 19-40, 1991,

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-499, 1962.

OLIVEIRA, D. V.; SANTOS, I. R. I.; SALOMÃO, A. N.; MARTINS, I. S.; MUNDIM, R. C.; ALVES, R. B. N. Procedimento simplificado para descontaminação, introdução e multiplicação in vitro de explantes de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* [Spreng.] Pedersen). **Boletim de pesquisa e Desenvolvimento**, v. 335. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,. 2018.

PEREIRA, M. O.; NAVROSKI, M. C.; ANGELO, A. C.; FONSECA, P. H. T.; MORAES, C.; LOVATEL, Q. C.; AMARAL, M. Rooting environments in *Sequoia sempervirens* mini-cuttings of clone a228. **Cerne**, v. 25, n. 4, p. 386-393, 2019.

QUISEN, R. C.; ÂNGELO, P. C. S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.

RIBEIRO, J.; TEIXEIRA, S.; BASTOS, D. Cultivo in vitro de *Sequoia sempervirens* L. em meio de nutritivo esterilizado com hipoclorito de sódio. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 1, p. 77-82. 2011. DOI: <https://doi.org/10.5902/198050982749>.

SOUSA, G. C.; CLEMENTE, P. L.; ISAAC, V. L. R.; FARIA, S. P.; CAMPOS, M. R. C. Contaminação Microbiana na Propagação in vitro de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crispa*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 405-407, 2007.

TEIXEIRA, M.; FERNANDES, T. M.; BLUMER, A. Cultura de tecidos vegetais de plantas ornamentais. In: SIMPÓSIO ENSINO GRADUAÇÃO, 10., 2012, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba, 2012.

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÀ, F. G.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRIGIDO, M. M.; ROMANO, E. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000.

VILLALOBOS, V. M.; THORPE, T. A. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In: MROGINSKI, L. A.; ROCA W. M. **Cultivo de Tejidos en la Agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT. Cap 6, p. 127-141, 1991,

YOSHIKO, A. S.; TEIXEIRA, H. C. D.; ANDRADE, L. A.; SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.