



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**FORMAÇÃO DE UM BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA, SELEÇÃO DE
ACESSOS E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Bougainvillea***

JESSICA CAMARGO FOSCHINI

**Araras
2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**FORMAÇÃO DE UM BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA, SELEÇÃO DE
ACESSOS E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE Bougainvillea**

JESSICA CAMARGO FOSCHINI

ORIENTADOR: PROF. DR. JEAN CARLOS CARDOSO

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO DAL'AVA MARIANO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE EM PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

Araras

2017

Foschini, Jessica

Formação de um Banco Ativo de Germoplasma, seleção de acessos e propagação vegetativa de Bougainvillea / Jessica Foschini. -- 2017.
88 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador: Jean Carlos Cardoso

Banca examinadora: Jean Carlos Cardoso, Fernando César Sala, Pedro Roberto Furlani, Eduardo D'Alva Mariano

Bibliografia

1. Formação de BAG. 2. Seleção de acessos. 3. Propagação vegetativa. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

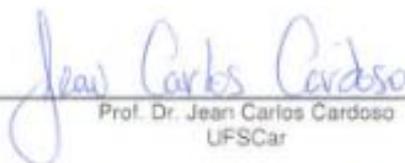


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

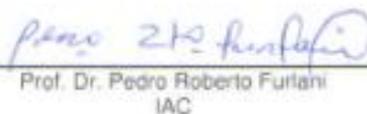
Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados

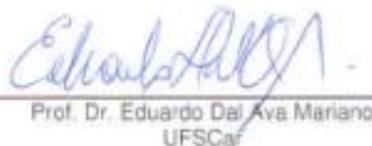
Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Jessica Camargo Foschini, realizada em 04/09/2017:


Prof. Dr. Jean Carlos Cardoso
UFSCar


Prof. Dr. Fernando César Sala
UFSCar


Prof. Dr. Pedro Roberto Furlani
IAC


Prof. Dr. Eduardo Dal'Ava Mariano
UFSCar

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela oportunidade de viver, por me proporcionar força e saúde para seguir minha jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jean Carlos Cardoso, quem muito admiro pela competência profissional, agradeço pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho, pela orientação, amizade, sinceridade, apoio, conselhos, pelo exemplo de profissionalismo e ética, sendo minha principal referência profissional desde a graduação.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Eduardo Dal’Ava Mariano, por seus ensinamentos e disposição sempre que precisei.

Ao Arien van Vliet e sua família, pela oportunidade, paciência, ensinamentos e principalmente pela confiança depositada em meu trabalho.

Aos meus pais Mirian R. Foschini e Eduardo Alessandro Foschini, pela dedicação, exemplo, amor, incentivo e apoio incondicional, pela compreensão nos momentos difíceis, não me deixando desistir dos meus sonhos diante das inúmeras dificuldades pelo caminho.

A toda a minha família pelo apoio, em particular a minha querida avó Maria Lessa De Camargo e meu avô Octavio Martins (*in memoriam*). E mais que especial, agradeço minha sobrinha, Helena Germano Foschini, pelos momentos de amor e alegria, sendo o meu refúgio e fortaleza nos momentos mais difíceis.

Aos amigos que tornam a jornada mais leve, principalmente ao Cesar Zanello, Luciano Delmondes, Patrícia Azevedo, Lucas Smith Pimenta, Ivan Pona, Vínicius Cavassini e Ana Carolina Arantes, pelos diversos momentos de trocas de informações e experiências, pelo apoio, amizade sincera e constantes conselhos.

Aos membros do Grupo de Pesquisa em Plantas Hortícolas e Paisagismo (GPHP – UFSCar) pela amizade, convivência e experiência, em especial Gabrielle Alves e Lis Natali.

À Universidade Federal de São Carlos através do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados, pela oportunidade de formação. Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados (PPGPVBA –UFSCar) pelo conhecimento proporcionado.

Aos componentes da banca examinadora pelas contribuições dadas ao trabalho e tempo disponibilizado.

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABELAS	iii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	6
Objetivo geral.....	6
Objetivos específicos	6
REVISÃO DE LITERATURA	7
1 Importância da floricultura no Brasil	7
2 Primaveras (<i>Bougainvillea</i>)	9
3 Propagação por estaquia caular de primaveras (<i>Bougainvillea</i>)	10
4 Propagação <i>in vitro</i> de flores	11
LITERATURA CITADA	14
Capítulo 1. Formação de um banco ativo de germoplasma e seleção de acessos de primavera (<i>Bougainvillea</i>) para cultivo em vasos	19
Resumo	19
Abstract	20
1 Introdução	21
1.1 Formação de um banco ativo de germoplasma.....	22
1.2 Identificação das espécies de <i>Bougainvillea</i>	23
1.2.1 <i>Bougainvillea spectabilis</i>	24
1.2.2 <i>Bougainvillea glabra</i>	25
2 Material e métodos	27
2.1 Formação do banco ativo de germoplasma de primaveras	27
2.2 Caracterização de acessos de <i>Bougainvillea</i>	28
3 Resultados e discussão	29
3.1 Características das brácteas	30
3.2 Características das folhas	32
3.3 Características do caule	33
3.4 Identificação dos acessos escolhidos.....	36

4	Conclusões.....	38
5	Literatura citada.....	39
	Capítulo 2. Estaquia caulinar e micropropagação de acessos de <i>Bougainvillea glabra</i> e <i>B. spectabilis</i>	43
	Resumo	43
	Abstract.....	44
1	Introdução	45
	1.2 Propagação vegetativa por estaquia.....	47
	1.3 Fatores que afetam o enraizamento das estacas	48
	1.4 Enraizamento do acesso selecionado visando formação de mudas e melhorias no cultivo	49
2	Material e métodos	51
	2.1 Experimento I: Estaquia caulinar de primaveras.....	51
	2.2 Experimentos sobre micropropagação de primaveras.....	52
	2.2.1 Efeitos das concentrações e tempo de exposição ao hipoclorito de sódio no estabelecimento <i>in vitro</i> de explantes de primaveras	53
	2.2.1.1 Assepsia dos explantes.....	53
	2.3 Meios de cultivo para o estabelecimento <i>in vitro</i>	55
3	Resultados e discussão	56
	3.1 Estaquia caulinar de primaveras <i>B. glabra</i> e <i>B. spectabilis</i>	56
	3.2 Micropropagação de primavera	60
	3.2.1 Assepsia no estabelecimento <i>in vitro</i> de primaveras.....	60
	3.2.2 Efeitos de diferentes meios de cultivo no estabelecimento <i>in vitro</i> de ápices caulinares de <i>Bougainvillea glabra</i>	65
4	Conclusões.....	71
5	Literatura citada.....	72
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	75

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Capítulo 1	
Figura 1. Acessos de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) utilizados neste estudo para formação do Banco Ativo de Germoplasma em casa de vegetação no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.....	30
Figura 2. Diferença entre as cores apresentadas pelos acessos estudados de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017.....	31
Figura 3. Diferença entre o tamanho das brácteas dos acessos A2 (2) e A1 (1) de <i>Bougainvillea glabra</i> presentes no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, SP. CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017.	32
Figura 4. Formato da folha dos acessos estudados de <i>Bougainvillea sp</i> presentes no banco ativo de germoplasma, no município de Holambra, São Paulo – Elíptica para <i>Bougainvillea glabra</i> (1) e ovalada para <i>Bougainvillea spectabilis</i> (2). CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017.....	33
Figura 5. Diferença entre os espinhos apresentadas pelos acessos estudados de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) (1) Espinhos pequenos e retos; (2) Pequenos e curvos. CCA/ UFSCAR, Araras – SP, 2017.....	36
Figura 6. Diferença entre os espinhos apresentadas pelos acessos estudados de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) (1) Espinhos grandes e retos; (2) Grandes e curvos. CCA/ UFSCAR, Araras – SP, 2017.....	36
Figura 7. Acesso A1 de <i>Bougainvillea glabra</i> presente no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017.	38
Figura 8. Acesso A5 de <i>Bougainvillea spectabilis</i> presente no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017.	38
Capítulo 2	
Figura 1. Confecção das estacas de <i>Bougainvillea sp.</i> e plantio em ‘paper pots’ em casa de vegetação no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.....	59

Figura 2. Estacas enraizadas do acesso A5 de <i>Bougainvillea spectabilis</i> após 28 dias do plantio. CCA/ UFSCAR, Araras – SP, 2017.....	60
Figura 3. Estacas do acesso A5 de <i>Bougainvillea spectabilis</i> (1) Estacas vivas e não enraizadas; (2) Estacas vivas enraizadas. CCA/ UFSCAR, Araras – SP, 2017... ..	59
Figura 4. Coleta de ápices de plantas do acesso A1 de <i>Bougainvillea glabra</i> presentes no matrizeiro, no município de Holambra, SP. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.	63
Figura 5. Fonte de explantes e tipo de explantes de <i>Bougainvillea glabra</i> utilizados no experimento de micropropagação, sendo (1) ápice caulinar, (2) segmento nodal e (3) segmento intermodal. CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017.	62
Figura 6. Etapas para introdução dos explantes do acesso A1 de <i>Bougainvillea glabra</i> . CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017.....	62
Figura 7. Contaminações nos explantes do acesso A1 de <i>Bougainvillea glabra</i> (1) e (2) Contaminações por bactérias; (3) e (4) Contaminações fúngicas. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.....	62
Figura 8. Regeneração de ápices caulinares de primavera submetidas a assepsia com hipoclorito de sódio a 60% durante 20 minutos. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017	62
Figura 9. Aspecto da multiplicação <i>in vitro</i> de primavera (<i>Bougainvillea glabra</i>) após sucessivos subcultivos em meio nutritivo com WPM, acrescido de 0,5 mg L ⁻¹ de BAP e posterior troca para MS ½. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.	70
Figura 10. (1) Regeneração direta; (2) e (3) calos+folhas; (4) e (5) formação de calos. CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017.	70

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Capítulo 1	
Tabela 1. Classificação da durabilidade das brácteas dos acessos estudados de <i>Bougainvillea sp.</i> , após abertura do botão floral. CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017..	30
Tabela 2. Características das brácteas dos diferentes acessos estudados de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017.....	32
Tabela 3. Características das folhas dos diferentes acessos de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017	34
Tabela 4. Características do caule dos diferentes acessos estudados de primavera (<i>Bougainvillea sp.</i>) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo. CCA/UFSCAR, Araras-SP, 2017	29
Tabela 5. Características agronômicas dos acessos selecionados - A1 de <i>Bougainvillea glabra</i> e A5 <i>Bougainvillea spectabilis</i> , presente no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017	31
Capítulo 2	
Tabela 1. Combinações de concentrações de hipoclorito e tempo de exposição para assepsia de ápices caulinares de <i>Bougainvillea glabra</i> (acesso A1) cultivados em meio WPM com adição de 0,5 mg. L ⁻¹ . CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.....	54
Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações de ácido Indolbutírico (ABI) em relação ao percentual EE – estacas enraizadas; BR- Brotações, ALT – Altura, de <i>Bougainvillea glabra</i> e <i>Bougainvillea spectabilis</i> . CCA/UFSCAR, Araras –SP, 2017.	57
Tabela 3. Médias de interação para brotação de estacas de <i>Bougainvillea glabra</i> e <i>Bougainvillea spectabilis</i> tratadas com diferentes doses de AIB.....	59
Tabela 4. Médias de interação para enraizamento de estacas de <i>Bougainvillea glabra</i> e <i>Bougainvillea spectabilis</i> tratadas com diferentes doses de AIB.....	60
Tabela 5. Ápices caulinares do acesso A1 de <i>Bougainvillea glabra</i> submetidos a diferentes concentrações de hipoclorito de sódio em 15 e 20 minutos de exposição. CCA/ UFSCAR, Araras – SP, 2017.....	64

Tabela 6. Porcentagem de explantes contaminados (CNT), explantes verdes (EV) formação de calos (FC), calos + folhas (CF), regeneração direta (RD), número de folhas (NF), comprimento das brotações (cm) (CB) e número de brotações (NB) em função de diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.....	67
---	----

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIB** – Ácido Indolbutírico
ABA – Ácido abscísico
ANA– Ácido naftalenoacético
AX – Auxinas
BAP – 6- Benzilaminopurina
BAG – Banco Ativo de Germoplasma
BRA – Brassinoesteróides
CIN – Cinetina
CK– Citocininas
CV– Coeficiente de variação
ET – Etileno
F – Valor da análise de variância
GA – Giberelinas
IBRAFLOR – Instituto Brasileiro de Floricultura
JA – Jasmonatos
MMA – Ministério do Meio Ambiente
MS – Meio nutritivo de Murashige & Skoog, 1962
MS 1/2– Meio nutritivo de Murashige & Skoog com metade da concentração dos sais
PA – Poliaminas
SA – Salicilatos
ST – Estrigolactonas
STS – Tioossulfato de prata
UR – Umidade Relativa do ar
WPM – Wood Plant Medium, LLOYD & MCCOWN, 1980

FORMAÇÃO DE UM BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA, SELEÇÃO DE ACESSOS E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Bougainvillea*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, 2017.

Autor: JESSICA CAMARGO FOSCHINI

Orientador: Prof. Dr. JEAN CARLOS CARDOSO

Co-orientador: Prof. Dr. EDUARDO DAL'AVA MARIANO

RESUMO

O mercado mundial de flores e plantas ornamentais tem demonstrado elevado crescimento ao longo dos últimos anos. Acompanhando este crescimento, observa-se também o aumento do interesse pelo estudo e produção de novas espécies com potencial de uso ornamental, dentre elas a primavera (*Bougainvillea sp.*), um gênero com muitas espécies nativas do Brasil. O cultivo e a produção de primaveras em vasos no Brasil é uma prática recente, e tem como necessidade o desenvolvimento de tecnologias que viabilizem o processo, como a escolha de genótipos adequados, a propagação, indução floral e durabilidade das flores. Nesse contexto, a seleção de genótipos mais adequados ao cultivo em vaso com características herbáceas e semi arbustivas, bem como a efetivação de tecnologia de propagação vegetativa para manutenção da produção são primordiais no processo produtivo. Sendo assim, este trabalho teve como objetivos: (1) formação de um Banco Ativo de Germoplasma visando à seleção de acessos e futuros programas de melhoramento genético e propagação; (2) estabelecimento *in vitro* de acessos comerciais de primavera utilizando diferentes explantes e meios de cultura; (3) multiplicação de estacas e enraizamento em casa de vegetação pela técnica de estaquia. Ao total foram coletados e identificados dez acessos para formação do BAG, dos quais dois foram utilizados para estudos de propagação vegetativa, sendo apenas um utilizado no estudo *in vitro* (A1 – *B. glabra*). Em função dos resultados obtidos, pode-se dizer que o cultivo de primavera *in vitro* poderá vir a ser uma alternativa para produção da espécie utilizando-se como explante ápices caulinares, assepsia em hipoclorito de sódio 60% por 20 minutos e meio de cultivo WPM, contudo os protocolos estabelecidos nesse estudo ainda não permitem a produção de mudas em laboratório. Já a técnica de estaquia caulinar mostrou-se viável para obtenção de mudas, podendo ser aplicada a um cultivo comercial. Os melhores resultados apresentados para estaquia caulinar foram com a utilização de AIB na concentração de 1000 ppm para o acesso A5 (*B. spectabilis*), e sem adição de auxina para o acesso A1 (*B. glabra*).

Palavras-chave: Banco de germoplasma; cultura de tecidos; *Bougainvillea*; produção de flores.

FORMATION OF ACTIVE GERMLASM BANK, SELECTION OF ACCESS AND VEGETATIVE PROPAGATION OF *Bougainvillea*. Dissertation (Master in Plant Production and Associated Bioprocesses) - Federal University of São Carlos, Agricultural Sciences Center, 2017.

Author: JESSICA CAMARGO FOSCHINI

Adviser: Prof. Dr. JEAN CARLOS CARDOSO

Co-adviser: Prof. Dr. EDUARDO DAL'AVA MARIANO

ABSTRACT

The world market of flowers and ornamental plants have been demonstrating high growth along the last years. Accompanying this growth, it is also observed the increase of the interest by the study and production of new species with potential of ornamental use, among them the primavera (*Bougainvillea sp.*), a gender with many native species of Brazil. The cultivation and the production of primavera in vases in Brazil are a recent practice, and he has as need the development of technologies that they make possible the process, as the choice of appropriate genotypes, the propagation, floral induction and durability of the flowers. In that context, the selection of more appropriate genotypes to the cultivation in vase with herbaceous characteristics and semi-shrub, as well as the effectiveness of technology of vegetative propagation for maintenance of the production are primordial in the productive process. Being like this, this work had as objectives: (1) formation of an Active Bank of Germplasm seeking to the selection of accesses and futures programs of genetic improvement and propagation; (2) establishment in vitro of commercial accesses of primavera using different explants and culture means; (3) multiplication of cuttings and rooting vegetation home for the cutting technique. To the total they were collected and identified ten accesses for formation of BAG, of which two were used for studies of vegetative propagation, being just an used in the study in vitro (A1. *B. glabra*). In function of the obtained results, it can be said that the primavera cultivation in vitro can come to be an alternative for production of the species being used as explant stem apexes, asepsis in sodium hypochlorite 60% for 20 and a half minutes of cultivation WPM, however the established protocols in that study still don't allow the production of seedlings in laboratory. Already the technique of stem cutting was shown viable for obtaining of seedlings, could be applied to a commercial cultivation. The best results presented for stem cutting were with the use of AIB in the concentration of 1000 ppm for the access A5 (*B. spectabilis*), and without auxin addition for the access A1 (*B. glabra*).

Keywords: Flower production; germplasm bank; Bougainvillea; tissue culture.

INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas o mercado mundial de flores e plantas ornamentais tem se mostrado vigoroso e em plena expansão (GIACON, 2015), exibindo desde a década de 90, taxas de crescimento anual da ordem de 8 a 15 % em volume de produção e 15 a 17% em valor (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). Esse crescimento tem sido observado em todo o mundo, tanto nos países mais desenvolvidos, quanto nos países em desenvolvimento. O Brasil segue essa tendência de expansão e desenvolvimento mundial, e tem aumentado sua produção para abastecer a demanda deste mercado, que tem se tornado um segmento econômico de grande importância para o país (SOUSA et al., 2011).

De acordo com Machado, Jasmim e Ponciano (2013), o comércio de flores movimentava no Brasil R\$5,7 bilhões por ano, tendo um consumo per capita de R\$ 26,68 habitante/ano. Conforme dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Floricultura – IBRAFLOR no ano de 2014, haviam aproximadamente 8.248 produtores de flores e plantas ornamentais no país, 206 mil empregos diretos em toda cadeia, mais de 350 espécies produzidas, mais de 3000 variedades, 21.124 mil pontos de vendas, mais de 60 centrais de atacado e 650 empresas atacadistas.

A região Sudeste concentra a maior parcela do número de produtores de flores, acumulando 53,3% do total (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014), fato que está diretamente relacionado à chegada de imigrantes holandeses no interior do estado de São Paulo. Em 1948, logo após a segunda guerra mundial estes imigrantes se instalaram na antiga Fazenda Ribeirão e iniciaram o cultivo de flores, transformando a atual cidade de Holambra no maior polo de produção e comercialização de flores e

plantas ornamentais da América Latina (LOPES, 2015), fato que fez com que o município se tornasse nacionalmente conhecido como “cidade das flores” (MELLO; BRAGA, 2015). Na sequência segue as regiões Sul, com 28,6% do total de produtores, a região Nordeste com 11,8%, a região Norte, ficando com 3,5% e, a região Centro-Oeste, com representatividade de 2,8% (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

O Brasil possui uma área total de 14.922 hectares em cultivo de flores (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014), com tamanho médio de propriedade de 1,8 hectares (IBRAFLOR, 2013). A atividade é intensa em mão de obra e gera cerca de 8 empregos diretos por hectare (IBRAFLOR, 2013). Segundo os dados publicados pelo IBRAFLOR (2013), a produção de flores no país distribui-se em 50% para flores em vasos, 40% para flores de corte e 10% para plantas ornamentais.

Conforme Junqueira e Peetz (2014), o setor produtivo de flores e plantas ornamentais no Brasil vem consistentemente consolidando posições de maior relevância no agronegócio nacional, destacando-se como uma atividade economicamente crescente, que além de agregar alto potencial de expansão, representa também uma das principais atividades geradoras de ocupação, emprego e renda para pequenos produtores ou produtores familiares em todo o País.

De acordo com Araújo (2008), a atividade apresenta inúmeras vantagens, como alta rentabilidade por área cultivada e capacidade de maior geração de empregos por unidade de área. Além disso, dentre os segmentos da agricultura, a floricultura se destaca como o que apresenta um retorno mais rápido dos investimentos aplicados (FAVA; CAMILI, 2014).

A floricultura brasileira é altamente tecnológica quanto à utilização do cultivo protegido, fertirrigação, produção e propagação de mudas. Costuma-se inclusive ser apontada como o segmento mais dinâmico da horticultura e, nesse sentido, indutora de mudanças (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

A diversidade de clima e solo possibilita ao Brasil o cultivo de diversas espécies de flores, de origens nativas e exóticas, de clima temperado e tropical (BUAINAIN; BATALHA, 2007). Nesse contexto de grande utilização e importação de mudas de espécies exóticas, a utilização de espécies nativas com potencial ornamental, como a *Bougainvillea*, associada ao desenvolvimento de novas cultivares mais adaptadas, pode ser uma alternativa para produções com maior sustentabilidade e um estímulo à autossuficiência do setor da floricultura no país (VALLS, 2005; AHMAD et al., 2007; CARDOSO, 2013).

A *Bougainvillea sp.* é uma dicotiledônea pertencente à família das Nyctagenaceas. O colorido existente nas plantas é proveniente das brácteas, folhas modificadas que envolvem e protegem as flores. O conjunto resulta numa aparência excêntrica encontrada em diversas cores (GAGO, 2008; AHMAD et al., 2007; SHAH et al., 2006).

São muitas as espécies do gênero *Bougainvillea*, como *B. spectabilis*, *B. bracteata*, *B. brasiliensis*, *B. glabra*, *B. peruviana*, *B. sanderiana*, *B. speciosa*, entre outras. Dessas, as mais comumente cultivadas são *B. spectabilis* e *B. glabra*, a partir das quais surgiram inúmeros híbridos cultivados e utilizados como ornamentais. A diferença entre elas, na maioria das vezes, deve-se ao diâmetro dos troncos, quantidades e formas dos espinhos, existência ou não de pilosidade nas folhas. O melhoramento genético, por meio da hibridação, já possibilitou a obtenção de brácteas com dezenas de formas e cores, inclusive bicolores (AHMAD et al., 2007). De todas as trepadeiras, esta é sem dúvida, uma das mais cultivadas nos jardins tropicais em todo o mundo. Com podas adequadas e bem conduzidas pode ser cultivada como uma arvoreta, com grande potencial para a topiaria, obtendo-se diferentes formas (BORGOGNONE, 2013; SHAH et al., 2006).

Em países de clima temperado é comum o cultivo de primavera em vasos (MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014). Contudo, no Brasil a produção de primaveras em vasos é uma prática recente, com bom potencial de mercado, havendo a necessidade do desenvolvimento de tecnologias específicas para o seu cultivo, como a obtenção de genótipos mais adaptados às condições ambientais das áreas de cultivo, bem como com porte reduzido para facilitar o cultivo e tratamentos culturais em vasos, uma prática completamente diferente daquela de uso no paisagismo. Além disso, a propagação vegetativa dessa planta em larga escala é uma necessidade do sistema produtivo, com fornecimento adequado de quantidade de mudas para o estabelecimento de sistemas produtivos escalonados.

A atual produção de mudas de primaveras ainda apresenta como problemas a baixa qualidade do material de propagação, uma vez que o mesmo é coletado diretamente da natureza ou de áreas de jardins e cercas vivas já estabelecidas com riscos de contaminação por pragas e doenças, além de apresentar excessiva desuniformidade, o que interfere diretamente na qualidade do produto final a ser ofertado em vasos. Como exemplo, a utilização de materiais propagativos provenientes de muitas origens e com alta diversidade genética não permitem o

escalonamento adequado da produção, pois em geral as exigências culturais de cada genótipo são diferentes, o que afeta o florescimento numa mesma época e a possível entrega de um lote com mínimo de uniformidade requerido pelo mercado de flores atual. Além disso, a utilização de materiais com grande desuniformidade genética tem impacto direto no custo de produção e dificulta a manutenção de uma produção escalonada, similar ao que é realizado com outras espécies ornamentais.

Apesar do cultivo de primaveras demonstrar grande potencial para o mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais nativas, ainda não existe um protocolo conhecido para seleção de genótipos adequados para o cultivo em vasos, bem como não é bem conhecida a propagação vegetativa visando a clonagem de genótipos da espécie, o que possibilitaria a produção massal de genótipos considerados superiores, com bom desenvolvimento e resposta a tratos culturais, bem como livres de pragas e doenças e com florescimento uniforme em condições de cultivo.

A alta exigência do mercado consumidor quanto ao volume de produção, qualidade visual e aspecto fitossanitário fazem com que aumente a necessidade do investimento no desenvolvimento de técnicas que visam o melhoramento genético, tratos culturais e sanidade, em especial na produção de mudas e o desenvolvimento de novas cultivares, técnica em que o Brasil é ainda dependente de países mais desenvolvidos, como a Holanda (CARDOSO, 2013).

Uma solução para este problema seria o estabelecimento de protocolos de propagação vegetativa de genótipos de *Bougainvillea*, visando a produção de mudas em larga escala de plantas com alta qualidade genética, fisiológica e fitossanitária. A propagação vegetativa tem como finalidade a obtenção de uma progênie de genótipo idêntico ao da planta matriz. O processo biológico é conhecido como clonagem e a população resultante é nomeada por clone. Entre as inúmeras vantagens da propagação vegetativa podem ser destacadas a fixação de genótipos superiores, a uniformização da população e a facilidade de propagação (SEXTO, 2005).

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a utilização de estacas caulinares e a micropropagação de plantas estão entre aquelas de maior utilização na floricultura e que poderiam resolver parcialmente a necessidade de fornecimento de mudas de alta qualidade. Aplicando-se diferentes técnicas de propagação vegetativa, pode-se apontar um ou mais caminhos a serem explorados para a

obtenção de mudas de primavera, uma vez que a propagação vegetativa é a técnica mais viável para o cultivo comercial da espécie.

A estaquia trata-se de um método de reprodução assexuada de plantas, que consiste no plantio de pequenas estruturas nomeadas 'estacas', que podem ser tanto do caule, quanto de raízes ou folhas, cultivadas para obtenção de novas plantas com as mesmas características das matrizes. Conforme Rodrigues et al. (2017) a propagação vegetativa por meio de estaquia é uma das técnicas mais utilizadas na área de plantas ornamentais, uma vez que permite a obtenção de grande quantidade de mudas em menor período de tempo. Guimarães (2017) ressalta que a estaquia caulinar é uma tecnologia de custo reduzido, rápida e simples, que pode proporcionar a produção de mudas em larga escala. Nesse sentido podendo vir a ser uma técnica promissora para obtenção de mudas de primaveras.

A propagação *in vitro*, ou micropropagação, é uma das técnicas empregadas na cultura de tecidos vegetais. De início, pequenos fragmentos de tecido vivo, chamados explantes, são isolados de uma planta, desinfetados e cultivados assepticamente por períodos indefinidos em um meio de cultura apropriado. O objetivo é obter uma nova planta idêntica à original, ou seja, realizar uma clonagem vegetal. Para que variedades sejam micropropagadas eficientemente faz-se necessário, primeiramente, o estabelecimento de protocolos de desinfestação dos explantes, a elaboração de meios nutritivos específicos e demais condições ideais de cultivo *in vitro* (CARVALHO; SILVA, 2012).

Considerando-se a valoração do potencial ornamental e o crescente interesse no mercado de flores por essa espécie (SHAH et al., 2006), torna-se cada vez mais importante o desenvolvimento de pesquisas que viabilizem a conservação e a produção de primaveras, visando aperfeiçoar a produção de mudas, que poderão ser comercializadas para atender a demanda do mercado.

OBJETIVOS

Objetivo geral

(1) Formação de um Banco ativo de germoplasma (BAG) visando à seleção de acessos para futuros programas de melhoramento genético e propagação desta espécie; (2) estabelecimento *in vitro* de acessos comerciais de primavera utilizando diferentes explantes e meios de cultivo; (3) propagação pela técnica de estaquia.

Objetivos específicos

- a) Formação de um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de primaveras (*Bougainvillea*) para caracterização, seleção de acessos e propagação;
- b) Selecionar acessos para cultivo comercial, propagação *in vitro* e por estaquia caulinar;
- c) Estabelecer o melhor tempo e concentração de hipoclorito de sódio para a assepsia do material para propagação *in vitro*;
- d) Determinar o melhor meio de cultura e a concentração de 6-benzilaminopurina (BAP) para a etapa de estabelecimento *in vitro* e indução de múltiplas brotações;
- e) Estabelecer um protocolo de propagação vegetativa por estaquia caulinar com a utilização de auxina para o adequado enraizamento.

REVISÃO DE LITERATURA

1 Importância da floricultura no Brasil

Define-se como floricultura, a atividade econômica que envolve a produção e comercialização de flores, sendo elas de corte, vaso ou para cultivo em jardins (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). No Brasil, essa atividade começou a ganhar importância econômica há pouco mais de trinta anos (BUENO, 2013), mas foi nos últimos 20 anos que se verificou um expressivo crescimento da oferta de alguns produtos da floricultura e do paisagismo, em função da opção de produtores, situados próximos de importantes centros de consumo, com o interesse em entrar nessa atividade na busca de uma alternativa rentável para suas pequenas propriedades (SIMINSKI; REIS, 2011; LANDGRAF; PAIVA, 2009).

Nos últimos anos a floricultura brasileira vem adquirindo notável desenvolvimento e se caracterizando como um dos mais promissores segmentos da horticultura (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014; BONGERS, 2010). O setor tem se destacado entre os diversos segmentos do agronegócio brasileiro, principalmente pelos altos investimentos em tecnologia de produção e faturamento da cadeia tanto no mercado interno quanto no mercado externo (GIACON, 2015).

Além disso, a floricultura tem como característica marcante a possibilidade de retorno econômico relativamente rápido em pequenas áreas de cultivo, sendo uma atividade típica da agricultura familiar, o que contribui para a fixação do homem no campo e ocupação das áreas de aptidão agrícola (LANDGRAF; PAIVA, 2009).

A exploração dessa atividade econômica no país é favorecida pela amplitude de clima, temperatura, umidade, condições do solo e relevo, e pela grande biodiversidade nas diversas regiões brasileiras, que possibilitam a produção das mais diversas espécies e variedades de flores e plantas ornamentais (CERATTI *et al.*, 2007; GIACON, 2015), caracterizando excelentes vantagens técnicas e configurando ao país um enorme potencial desse complexo (CERATTI *et al.*, 2007).

A produção e consumo de flores e plantas ornamentais no país, vem acompanhando a tendência de expansão do mercado mundial (GIACON, 2015). Sendo que a maior parte da produção brasileira é direcionada para o abastecimento do mercado interno (CERATTI *et al.*, 2007). As exportações apesar de pouco expressivas, giram em torno de aproximadamente 2 a 5 % do valor total de produção e tem conquistado sucessivos recordes nos últimos anos, com embarques para Holanda, Estados Unidos, Alemanha, Japão, Espanha, França e mais outros 30 diferentes destinos no mundo (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). Dentre os produtos exportados, destacam-se as rosas, bulbos, dracenas, orquídeas, gipsófilas, kalanchoes, gerânios, crisântemos, flores secas, folhagens, sementes e flores tropicais (LANDGRAF; PAIVA, 2009).

Conforme Carvalho *et al.* (2014), a floricultura é uma atividade agrícola dinâmica e muito exigente em relação à qualidade do produto pelo mercado consumidor, e essas exigências se tornam ainda maiores quando se trata de exportação de produtos. As flores são produzidas principalmente por valores estéticos e por isso, a melhoria dos atributos de qualidade visual, tais como tipo de folha, cor da inflorescência, longevidade e conservação pós-colheita, forma e arquitetura da planta e criação de novas variações, são objetivos de ordem econômica importantes de serem alcançados.

Para atender a esse padrão de qualidade, são empregadas na produção de flores as mais avançadas técnicas de produção e comercialização, como cultivo protegido, automatização no que diz respeito ao controle das condições climáticas, fertirrigação, produção e propagação de mudas (CARVALHO *et al.*, 2014). Nesse sentido a propagação *in vitro* oferece ao setor, mudas de alto padrão, em qualidade e quantidade suficiente para atender a demanda do mercado em curto espaço de tempo (PASQUAL *et al.*, 2008).

2 Primaveras (*Bougainvillea*)

Originária do Brasil, a primavera (*Bougainvillea*) é uma planta com alto potencial ornamental (SKAH et al., 2006; JAVED; HASSAN; NAZIR, 1996), popularmente conhecida como primavera, três-marias, flor-de-papel, sempre-lustrosa, ceboleiro, espinho-de-santa-rita ou bouganvillea (COSTA, 2015; LOPES; RITTER; RATES, 2009; LORENZI; SOUZA, 1999), recebendo diferentes nomes de acordo com cada região do país. Pertencente à família Nyctagenaceae, a qual possui distribuição pantropical, com um total de aproximadamente 30 gêneros e 400 espécies. Sendo o gênero *Bougainvillea* o primeiro a ser identificado no Brasil em 1788 (WILLDELNOW, 1799). Só no Brasil ocorrem em torno de 10 gêneros e 70 espécies, muitas com potencial ornamental (SOUZA; LORENZI, 2008; SHAH et al. 2006; JAVED et al., 1996). Esta família é composta por espécies com porte de ervas, arbustos, árvores ou lianas, suas folhas são alternas ou opostas e simples, suas inflorescências, são cimosas em geral e suas flores podem ser vistosas ou não, sendo que no caso do gênero *Bougainvillea* possuem em torno de suas flores brácteas vistosas (SOUZA; LORENZI, 2008; SHAH et al., 2006).

Costa et al. (2015) relatam que quando adulta, a primavera pode atingir de cinco a dez metros de altura. Suas flores são pequenas de cor branca-amarelada envolvidas por três brácteas coloridas podendo apresentar colorações branca, rosa claro, laranja, púrpura, alaranjada ou amarelas, formando grande inflorescência nas pontas dos ramos.

Sua propagação pode ser feita através da técnica de estaquia (SOUZA; LORENZI, 2008) ou por alporquia. No entanto, a espécie apresenta baixas taxas de enraizamento (SINGH; RAWAT; TOMAR, 2011; SHAH et al., 2006), o que dificulta sua produção em escala comercial. Costa et al. (2015) ressaltam a falta de estudos sobre o desenvolvimento de técnicas que visam melhorar sua produção e otimizar a obtenção de mudas.

Além do seu potencial ornamental e sua grande importância para o setor agrícola brasileiro (MEHRAJ et al., 2014), apresenta também potencial para as indústrias farmacêuticas (XU et al., 2009). Suas hastes e folhas são utilizadas na medicina popular para tratamentos de diabetes e hepatite (LOPES; RITTER; RATES, 2009; AHMAD et al., 2007; BATES; JONES; BAILEY, 2000). Davis et al.(2000), relatam que em um estudo realizado com camundongos demonstrou que

uma substância isolada da primavera o D-pinitol, administrado pelas vias oral ou intraperitoneal, é capaz de reduzir as taxas de glicose no plasma em 21-22%.

Além disso, o extrato de suas folhas tem ação repelente e também pode ser utilizado como alternativa no controle de pragas em diversas culturas (LOPES; RITTER; RATES, 2009; SOARES et al. 2004), ajudando a minimizar o uso de produtos químicos na agricultura, sendo uma ferramenta útil para o cultivo orgânico e agroecológico. Filho et al. (2011) relatam a eficiência no uso de extrato de primavera para controle de doenças fungicas no cultivo de alface (*Lactuca sativa*). Baptista, Resende e Oliveira (2007) relatam a eficiência no uso de extrato de primavera, como controle alternativo de pinta preta (*Alternaria solani*) do tomateiro (*Solanum lycopersicum*).

Apesar de ser uma técnica relativamente recente no Brasil, o cultivo em vasos de *Bougainvillea sp.*, apresenta grande relevância social e econômica para o país, servindo como fonte de renda para agricultura familiar, gerando empregos diretos e contribuindo para o desenvolvimento das regiões envolvidas em sua produção.

3 Propagação por estaquia caulinar de primaveras (*Bougainvillea*)

A produção de mudas de primavera ocorre através da propagação vegetativa, por meio da técnica de estaquia ou alporquia, sendo a estaquia o método mais utilizado para produção comercial (HARTMANN et al., 2002; MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014). A propagação vegetativa apresenta inúmeras vantagens quando comparada a propagação por sementes, sendo as principais o baixo custo de produção e a facilidade de execução, podendo obter muitas plantas de uma única planta-matriz (HARTMANN et al., 2002; FERRARI; GROSSI; WENDLING, 2004; MOURA; SALLA; LIMA, 2015). Porém esta técnica ainda demonstra algumas desvantagens, no que diz respeito à obtenção de um material de propagação viável, por proporcionar baixo enraizamento, tornando-se um obstáculo para a propagação em larga escala da espécie (FERRARI; GROSSI; WENDLING, 2004; MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014) resultando em perdas econômicas significativas ao produtor.

O método de propagação da primavera está entre os principais aspectos que limitam o seu cultivo, pois além de apresentar baixo rendimento (SHAH et al., 2006; MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014; COSTA et al., 2015), favorece a ocorrência de doenças, comportando-se como vetores na disseminação dessas. As mudas obtidas

pelo processo convencional de propagação apresentam desuniformidade, o que dificulta o manejo de produção.

Muito embora os métodos de propagação utilizados estejam sendo aperfeiçoados de modo a elevar a taxa de multiplicação e melhorar a produção de mudas, estes métodos têm sido considerados como pouco efetivos quanto à sanidade e uniformidade das plantas obtidas (SHAH et al., 2006). Por isso, métodos que sejam desenvolvidos e aperfeiçoados visando à produção de mudas de melhor qualidade e garantindo maior uniformidade de lotes na produção, são de grande importância para viabilizar o seu cultivo comercial (MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014; SHAH et al., 2006).

Algumas técnicas modernas de biotecnologia como a cultura de tecidos, a manipulação genética e a biologia molecular estão sendo utilizadas para melhorar as condições de cultivo de inúmeras plantas. Dentre as diversas práticas de cultura de tecidos uma das mais utilizadas é a micropropagação ou propagação *in vitro* de plantas, que atualmente é responsável pela produção de mudas de diversas espécies com fins comerciais (MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014).

Levando-se em consideração a grande dificuldade de obtenção de mudas com qualidade fitossanitária e o baixo enraizamento proporcionado pelos métodos convencionais de produção de primaveras, a técnica da cultura de tecidos pode ser uma ferramenta útil na melhoria da sanidade e uniformidade do material cultivado em campo.

4 Propagação *in vitro* de flores

Segundo Hartmann et al. (2002), a propagação *in vitro*, também denominada de micropropagação, é o nome dado para a cultura de células ou órgãos vegetais, em frascos de cultivo contendo meio nutritivo sob ambiente controlado. De acordo com Maciel et al. (2000), é uma técnica que demonstra grande sucesso e tem sido amplamente utilizada em todo o mundo, como um meio rápido de propagação vegetativa. Conforme Hartmann et al. (2002), trata-se de uma área de expansão agrícola, uma vez que permite a rápida multiplicação de material vegetal geneticamente idêntico de plantas matrizes, que são selecionadas, atendendo demanda específica do mercado.

Dentre os grupos de plantas que têm suas mudas produzidas por micropropagação, o grupo de flores e plantas ornamentais recebe elevado destaque (CARVALHO; SILVA, 2012). Essas técnicas junto com outros avanços da biotecnologia apresentam vantagens quando comparadas aos métodos convencionais de propagação de flores, permitindo a obtenção em um curto espaço de tempo de um grande número de plantas isentas de pragas e doenças em qualquer época do ano (CARVALHO; SILVA, 2012; SORACE et al., 2008; MACIEL et al., 2000), possibilitando à produção de flores um forte e contínuo crescimento do setor (SKAH et al., 2016).

Carvalho e Silva (2012) ressaltam que apesar dos inúmeros benefícios que o método oferece, ela ainda apresenta algumas desvantagens quanto ao alto custo do procedimento, necessidade de mão de obra especializada, protocolos ausentes para algumas espécies e longos períodos de pesquisas. Prakash (2006) afirma que para o êxito dessa técnica, é de suma importância que o comportamento das mudas micropropagadas no campo, seja avaliado, ou seja, plantas obtidas pela propagação *in vitro*, devem ser comparadas com aquelas produzidas pelos métodos de propagação convencionalmente utilizados. Além disso, as condições térmicas e luminosas em que a cultura será mantida no laboratório, além do meio de cultivo apropriado, que possibilite a indução, multiplicação, crescimento de brotações adventícias e enraizamento (SORACE et al., 2008).

Em um levantamento realizado por George e Sherrington em 1984, revelaram que as espécies mais propagadas *in vitro* eram as orquídeas, sendo produzidas em 60% dos laboratórios no mundo. Plantas ornamentais e as outras flores ocupavam o segundo lugar, sendo produzidas em 33% dos laboratórios em todo o mundo, em terceiro e quarto lugares foram classificadas as samambaias e as espécies lenhosas, respectivamente (CARVALHO; SILVA, 2012). Bosa *et al.* (2003), afirmam que por excelência, as plantas ornamentais e flores foram o grupo em que a aplicação da micropropagação teve maior expressão no mundo científico, com repercussão direta na economia. O incentivo para esse crescimento fundamenta-se no alto valor agregado ao produto final.

Ainda hoje, as mudas de flores, obtidas através da técnica de micropropagação, recebem destaque e são as mais produzidas no mundo inteiro, uma vez que, além de ser uma técnica altamente conveniente para manutenção e coleção de genótipos de plantas, é também uma forma de se manter sempre

disponível explantes saudáveis, isentos de pragas e doenças, proporcionando lotes uniformes, com o mesmo padrão de desenvolvimento (CABRAL et al., 2003), o que influencia de forma positiva em um maior rendimento de produção.

Por ser uma técnica que permite a produção massal de plantas a partir de um mínimo de material utilizado como explante primário, é de particular importância para espécies onde o método de propagação convencional é pouco eficiente, como é o caso da primavera (MOSLEH; DUHOK; LAYLA, 2014). Esse fato pode lhe conferir ainda uma vantagem do ponto de vista ecológico na conservação *ex situ* de espécies nativas, assim como evitando a retirada de grandes quantidades de exemplares dos habitats naturais para exploração econômica (FLORES, 2003). Para Pence (2011), uma estratégia eficiente para a conservação de plantas, está na possibilidade de se obter plantas completas a partir do cultivo *in vitro*, de células, tecidos ou órgãos vegetais.

LITERATURA CITADA

AHMAD, I. et al. *In vitro* response of various growth regulators on the regeneration of *Bougainvillea spectabilis* Willd. **Suranaree Journal of Science and Technology**, v. 14, n. 2, p. 157-162, 2007.

ARAÚJO, S. S. et al. **Indução do superbrotamento da mamona BRS-Paraguaçu através do cultivo *in vitro***. In: Congresso Brasileiro de Mamona, 3., 2008, Salvador. Energia e ricinoquímica: resumos. Salvador: SEAGRI/Embrapa Algodão, 2008.

BAPTISTA, M. J.; RESENDE, F.; OLIVEIRA, A. R. Avaliação de produtos alternativos no manejo da pinta preta do tomateiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n. 2, 2007.

BATES, S. H.; JONES, R. B.; BAILEY, C. J., Insulin-like effect of pinitol. **British Journal of Pharmacology**, v. 130, n. 8, p. 1944-1948, 2009.

BONGERS, F. J. G. **Informativo IBRAFLOR**. Instituto Brasileiro de Floricultura. Holambra, p. 1-10, 2010. Disponível em: <http://www.ibraflor.com/ns_mer_interno.php>. Acesso em: 12 set. 2016.

BORGOGNONE, D. Effect of irrigation regime on growth, flowering and water use of *Bougainvillea spectabilis*. In: STRACKE, C. M. (Ed.). **Advances in Irrigation and Hydroponics: Competence & Skills Development in Agriculture & Aquaculture**. Berlin: Logos Verlag Berlin GmbH, 2013.

BOSA, N. et al. Crescimento de mudas de gipsofila em diferentes substratos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 514-519, jul./set. 2003.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeias produtivas de flores e mel**. Brasília: IICA/MAPA/SPA, 2007.

- BUENO, P. H. V. Panorama mundial do controle biológico de pragas na floricultura em sistemas protegidos. In: Congresso Colombiano SOCOLEN, 40., 2013, Bogotá. **Anais...** Bogotá: Universidade El Bosque, 2013. p. 241-249. Disponível em: <http://www.socolen.org.co/images/stories/pdf/40_Congreso.pdf#page=252>. Acesso em: 04 set. 2016.
- CARDOSO, C. J. Melhoramento de espécies ornamentais como estratégia para o desenvolvimento e autossuficiência do setor. *Horticultura Brasileira*, Vitória da Conquista, v. 31, n. 1, p. 171, mar.2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362013000100028>. Acesso em: 22 set. 2016.
- CARVALHO, D. B. de.; SILVA, L. M.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Indução de raízes em estacas semilenhosas de Azaléia através da aplicação de ácido naftaleno-acético em solução. **Scientia Agraria**, v. 3, n. 1-2, p. 97-101, 2002.
- CARVALHO, J. M. F. C. **Manual do laboratório de cultivo de tecido**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 46).
- CARVALHO, J. M. F. C. ARAÚJO, S. S. **Técnicas de cultivo *in vitro* aplicadas a mamoeira**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. (Embrapa Algodão. Documentos, 194).
- CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. de A. **Plantas Matrizes na Propagação Vegetativa**. Campina Grande: Embrapa, 2012.
- CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. de A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. (Embrapa Algodão. Documentos, 148).
- CERATTI, M. et al. Comercialização de flores e plantas ornamentais no segmento varejista no município de Lavras/Mg. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1212-1218, jul./ago. 2007.
- COSTA, M. E. et al. Enraizamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis* Willd. com o uso de ácido indolbutírico. **Acta Agronômica**, v. 64, n. 3, p. 221-226, 2015.
- DAVIS, A. et al. Effect of pinitol treatment on insulin action in subjects with insulin resistance. **Diabetes Care**, v. 23, n. 7, p. 1000-1005, 2000.
- DUVAL, M. C. A produção de flores e a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, jun. 2014.
- FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPel, 1995.
- FAVA, C. L. F.; CAMILI, E. C. Produção de cultivares de *Anthurium andraeanum* nas condições de Acorizal-MT. Cuiabá: UFMG, 2014.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. (Embrapa Florestas, Documentos n. 94).

FILHO, J.A. et al. Efeito da aplicação de maravilha (*Mirabilis jalapa* L.), primavera (*Bougainvillea spectabilis* L.) e isolados de Trichoderma na produção de alface. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, especial, p. 612-618, 2011.

GAGO, C. M. L. **Indicadores precoces de longevidade em buganvília envasada**. 2008. 195f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias, especialidade de Horticultura) - Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve, 2008.

GIACON, M. G. **Fertirrigação nitrogenada na cultura do gladiolo (*Gladiolus hortulanus*) L. cv. Amsterdam**. Dourados: UFGD, 2015.

GRATTAPLAGIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v.1.

GUIMARÃES, R. N. **Propagação vegetativa do pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) por estaquia**. 2017. 74 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 7th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 2002.

IBRAFLO. Instituto Brasileiro de Floricultura. **Dados do setor condensados, 2013**. Disponível em: <www.ibraflor.com.br>. Acesso em: 05 out. 2016.

IBRAFLO. Instituto Brasileiro de Floricultura. **Dados do setor condensados, 2014**. Disponível em: <www.ibraflor.com.br>. Acesso em: 05 out. 2016.

IBRAFLO. Instituto Brasileiro de Floricultura. **Dados do setor condensados, 2015**. Disponível em: <www.ibraflor.com.br>. Acesso em: 05 out. 2016.

JAVED, A. M.; HASSAN, S.; NAZIR, S. *In vitro* propagation of *Bougainvillea spectabilis* through shoot apex cultura. **Pakistan Journal of Botany**, v. 28, n. 2, p. 207-211, 1996.

JUNQUEIRA, H. A.; PEETZ, S. M. 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**, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. Agronegócio da floricultura brasileira. **Magistra**, v. 21, p. 253-261, 2009.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. **Floricultura-Produção e comercialização no estado de Minas Gerais**. 1. ed. Lavras: UFLA, 2008. v. 1.

LOPES, A. P. **Território usado e recursos hídricos**: o uso da água na produção de flores e plantas ornamentais em Holambra-SP. 2015. 164 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/138538>>. Acesso em: 16 set. 2016.

LOPES, R. K.; RITTER, M. R.; RATES, S. M. K. Revisão das atividades biológicas e toxicidade das plantas ornamentais mais utilizadas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 3, p. 305-315, jul./set. 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1056>>. Acesso em: 10 out. 2016.

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

MACHADO, N. S. A.; JASMIM, M. A.; PONCIANO, J. N., Indicadores econômicos da produção de flores tropicais no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 173-184, 2013.

MEHRAJ, H. et al. Morpho-physiological and flowering behavior of *bougainvillea* cultivars. **International Journal of Sustainable Crop Production**, v. 9, n. 3, 2014.

MELLO, J. L. V. H.; BRAGA, S. S. Holambra: turismo, patrimônio e perdas. **Revista Brasileira de Ecoturismo**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 64-92, 2015.

MOSLEH, M. S.; DUHOK, S.; LAYLA, S. In vitro micropropagation of selected *Bougainvillea* sp. through callus induction. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 6, n. 6, p. 01-06, 2014.

MOURA, A. P. C.; SALLA, V. P.; LIMA, D. M. Enraizamento de estacas de *Bougainvillea* com concentrações de ácido naftalenoacético. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 16, n. 2, p. 57-61, mar./abr. 2015.

PASQUAL, M. et al. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 1, 2008.

PENCE, V. C. Evaluating cost for the *in vitro* propagation and preservation of endangered plants. **In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, Wallingford, v. 47, n. 1, p. 176-187, 2011.

RODRIGUES, J. P. et al. Rooting and anatomy of stem cuttings from *Justicia brandegeana* Wash. & LB Sm (*Acanthaceae*) in different substrates. **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, Itapetininga, v. 4, n. 1, 2017.

SEXTO, P. A. S. **Cultivo in vitro e estaquia de *Ginkgo biloba* L.** 2005. 215f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS.

SHAH, T. S. et al. Mass propagation of *Bougainvillea spectabilis* through shoot tip culture. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 953-959, 2006.

SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial**: plantas para o futuro – Região Sul. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011.

SINGH, K. K.; RAWAT, J. M.; TOMAR, Y. K. Influence of IBA on rooting potential of torch glory *Bougainvillea glabraduring* winter season. **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**, v. 3, n. 2, p. 162-165, 2011.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para a identificação das famílias fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

STUMPF, E. R. T. et al. Método para avaliação da potencialidade ornamental de flores e folhagens de corte nativas e não convencionais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 13, n. 2, p. 143-148, 2007.

STUMPF, E. R. T. et al. Prospecção de Plantas Nativas do Bioma Pampa para Uso na Arte Floral. **BioScriba**, v. 1, p. 65-72, ago. 2008.

VALLS, J. F. M. Recursos genéticos de *Arachis*: avanços no conhecimento botânico e a situação atual de conservação e uso. **Agrociencia**, v. 9, n. 1-2, p.123-132, 2005.

XU, S. et al. Reproductive organography of *Bougainvillea spectabilis* Willd. **Scientia Horticulturae**, v. 120, n. 3, p. 399-405, 2009.

CAPÍTULO 1. Formação de um banco ativo de germoplasma e seleção de acessos de primavera (*Bougainvillea*) para cultivo em vasos

Resumo

A formação de bancos ativos de germoplasma (BAG) de espécies nativas auxiliam em processos de conservação da biodiversidade, além do resgate e valorização da utilização de espécies nativas com potencial ornamental para o mercado de flores. Dentre os fatores que dificultam o cultivo de espécies nativas estão a obtenção do material genético mais adequado aos sistemas de cultivo e dificuldades na propagação. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo coletar e caracterizar acessos de primaveras (*Bougainvillea*) provenientes de áreas de paisagismo e cercas vivas, de forma a criar um BAG com os objetivos de seleção de genótipos para o cultivo em vaso e suapropagação. Para tanto, foram realizadas expedições de coleta de germoplasma de genótipos de *Bougainvillea*, em diferentes municípios do Estado de São Paulo e Minas Gerais. O material vegetal constituído de segmentos caulinares proveniente de diferentes localidades foi coletado e propagado pelo método de estaquia caular. O BAG foi mantido em condições de casa de vegetação, localizada no município de Holambra, no Estado de São Paulo, sendo formado por dez acessos, que foram avaliados em diferentes etapas de desenvolvimento vegetativo e de floração. Desses, foram selecionados dois acessos para fins comerciais visando a produção de flores em vaso. Esses acessos apresentaram como principais características resistência a pragas e doenças, precocidade na produção e boa durabilidade das flores.

Palavras-chave: *Bougainvillea glabra*; *Bougainvillea spectabilis*; espécies nativas; recursos genéticos; cultivo protegido.

CHAPTER 1. Formation of active germplasm bank and selection of accesses of *Bougainvillea* sp. for growth in pots

Abstract

The Active Germplasm Banks (BAGs) of native species helps in biodiversity conservation processes, as well as the rescue and valorization of the use of wild species with ornamental uses at the flower market. Among the factors that difficult the cultivation of native species are the obtaining of the adequate genetic material to the actual systems of cultivation and the difficulties in propagation. Thus, the present work aimed to collect and characterize different accesses of primaveras (*Bougainvillea* sp.) from landscaping areas and ornamental edges, in order to create a BAG with the objectives of selection of genotypes for pot cultivation and propagation. In order to do so, we carried out collections of germplasm of *Bougainvillea* genotypes, in different municipalities of the State of São Paulo and Minas Gerais. The BAG were constituted of stem cuttings obtained from these different localities. The BAG was kept in greenhouse conditions, located in the municipality of Holambra, in the State of São Paulo, and was formed by ten accessions, which were evaluated in different stages of vegetative and flowering development. From these, two genotypes were selected for commercial purposes and the production of potted flowers. These accesses presented as main characteristics resistance to pests and diseases, precocity in the production of flowers and good durability of the flowers.

Key-words: *Bougainvillea glabra*; *Bougainvillea spectabilis*; Brazilian wild species; Genetic Resources; Greenhouse culture.

1 Introdução

O mercado mundial de flores e plantas ornamentais tem como uma das características marcantes, a constante busca por novidades, constituída em sua maior parte por novas espécies e cultivares comerciais, como forma de atender ao interesse do mercado consumidor por inovação (WEISS, 2002). Essas inovações ocorrem com a criação de novas cultivares, pelo resgate de espécies que caíram em desuso ou pela identificação de plantas com características desejáveis, que apresentam aplicabilidade definida para nichos de mercado (NASCIMENTO et al., 2008).

Nesse cenário, a floricultura é um dos segmentos da horticultura com maior procura por novidades, constituídas por novas espécies e ou cultivares que apresentam cores, formas e padrões ainda a serem explorados (ARTHY; BRANGROVE, 2003). No Brasil esse fator é fortalecido pela grande biodiversidade disponível e a ser explorada racionalmente, especialmente em relação às espécies nativas, que além de atender as necessidades do consumidor por novos produtos, valoriza a biodiversidade brasileira (HEIDEN; BARBIERI; STUMPF, 2006), ainda auxilia na sua conservação, atualmente ameaçada pela expansão de áreas urbana, extrativismo comercial e agricultura (OLIVEIRA et al., 2013).

Nesse sentido o Brasil apresenta grande vantagem nesta oferta, uma vez que abriga a maior diversidade de plantas do planeta (MMA, 2015). Várias espécies nativas têm despertado o interesse frente à perspectiva de uso ornamental, conforme registrado por Tognon et al. (2011; 2015) e Tombolato et al. (2011), como é o caso da primavera (*Bougainvillea sp.*), de interesse nesse estudo.

Essa planta de origem brasileira apresenta notável variabilidade genética, e é encontrada nas florestas originais dos Estados de São Paulo, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Bahia, pertencente ao gênero *Bougainvillea*, apresenta alto potencial ornamental, sendo cultivada em todo país para fins de decoração e paisagismo (DUHOK; LAYLA, 2014). Entretanto, mesmo havendo esse grande interesse do mercado consumidor por esse tipo de produto e do floricultor, existe uma grande dificuldade na obtenção de acessos adaptados ao cultivo, bem como em material propagativo em quantidade e qualidade exigida pela floricultura atual (VALLS, 2005).

A conservação de recursos genéticos implica na manutenção de coleções em seu local de ocorrência (*in situ*) ou fora de seu local de ocorrência (*ex situ*). Na conservação de coleções fora do seu local de ocorrência, indivíduos, embriões, sementes ou qualquer outra estrutura vegetal, podem ser mantidas sob diferentes condições a depender do material empregado, podendo ser em campo, casas de vegetação, em câmaras secas sob baixas temperaturas, ou por conservação *in vitro*.

Cada método de conservação possui vantagens e desvantagens, sendo necessária a implementação de estratégias complementares que permitam uma conservação eficaz de uma porção significativa de toda a diversidade genética existente (SANTOS et al., 2000). Uma dessas estratégias é a conservação de BAG visando a produção comercial, como é o caso do uso na produção de flores, sendo necessário a seleção de genótipos com características ornamentais e hortícolas que atendam o objetivo da produção.

1.1 Formação de um banco ativo de germoplasma

Bancos de germoplasma normalmente são criados com o objetivo de introduzir (via coleta ou intercâmbio), caracterizar e conservar parte da variabilidade genética possível de cada espécie (FERRÃO; FONSECA; BRAGANÇA, 2000). A caracterização de acessos visa descrever os diversos acessos de uma coleção, por meio de características de interesse, como a produtividade, tamanho, precocidade, durabilidade, resistência a pragas e doenças, dentre outras (NETO et al., 2014). Para isso os materiais genéticos são coletados, documentados e preservados.

De acordo com Ledo et al. (2010), por meio de coleta pode-se retirar o germoplasma de locais onde ele esteja ameaçado e conservá-lo em local seguro

para sua utilização imediata ou futura. De acordo com os autores, as principais razões para coleta de germoplasma são: perigo de erosão genética ou extinção, demanda em nível nacional ou internacional, perda ou insuficiência de representação da diversidade nas coleções *ex situ*, e a necessidade de ampliação do conhecimento da espécie.

Nesse contexto, a seleção de genótipos para fins comerciais depende da amplitude do acervo de recursos genéticos disponíveis, na forma de acessos coletados e caracterizados, mantidos no banco de germoplasma (QUEIROZ; LOPES, 2007). São poucos registros encontrados no que diz respeito à existência de bancos ativos de germoplasma de primaveras no Brasil e no mundo. Germek (2004) relata que no início dos anos de 1950, havia no município de Campinas – São Paulo, pouca variabilidade de cores e inflorescências registradas, sendo as mais comuns a roxa, a lilás e a tijolo, resultantes de sementes provenientes de polinizações naturais, assim como de cruzamentos, estas foram plantadas no jardim do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), na Fazenda Santa Elisa. Dessas plantas resultaram novos tipos, inclusive uma variedade com flores completamente brancas, sendo considerada a única até então conhecida pela pureza da cor. Com o passar dos anos o banco foi destruído abrindo espaço para novas construções. Hoje as plantas não existem mais no local, restando alguns poucos exemplares na cerca do Instituto.

Diante disso, percebe-se a necessidade de se fazer o enriquecimento das coleções de germoplasma atuais por meio de coleta e intercâmbio de materiais, visando a conservação de genótipos em bancos de germoplasma e a sua utilização imediata ou futura em programas de melhoramento, através da exploração da variabilidade genética disponível.

1.2 Identificação das espécies de *Bougainvillea*

O gênero *Bougainvillea* pode ser simplificada em *Bougainvillea glabra* e *Bougainvillea spectabilis*. Plantas da espécie *Bougainvillea* são árvores, arvoretas, apoiantes, aculeadas ou inermes, caules estriados, levemente pubescentes. Possuem folhas alternas, simples, inteiras, elípticas ou elípticolanceoladas, base aguda, obtusa ou cuneada, ápice acuminado ou cuspidado, faces pubescentes ou velutinas. Inflorescências racemosas, terminais ou

axilares, flores perfeitas, involucradas em três, igual número de brácteas petalóides, coloridas, 5 sépalas unidas que formam um tubo, de 7 a 8 estames, ovário elíptico ou fusiforme, estilete curto, filiforme, reto ou recurvado papiloso. Fruto antocarpo fixado nas brácteas, fusiforme ou coriáceo, 5 nervuras longitudinais proeminentes enroladas no ápice (MARCHIORETTO; LIPPERT; SILVA, 2011).

Segundo Reitz e Klein (1970) a *Bougainvillea spectabilis* se diferencia da *Bougainvillea glabra* por apresentar em suas folhas grande concentração de tricomas, formando uma camada mais densa na face abaxial. Outra diferença estaria nos acúleos mais desenvolvidos em *Bougainvillea spectabilis*. De acordo com Sexia et al. (2009) a *Bougainvillea spectabilis* geralmente não apresenta antocarpos, fato que possivelmente pode estar relacionado à alta taxa de esterilidade dessa espécie. Os autores ainda ressaltam que a espécie possui reprodução sexuada bastante limitada. Além da presença de tricomas a *Bougainvillea spectabilis* também pode ser distinguida de *Bougainvillea glabra*, por apresentar os acúleos mais longos.

1.2.1 *Bougainvillea spectabilis*

Trata-se de uma árvore apoiante, caule estriado, indumento hirsuto, tricomas articulados, espinhos 0,2 - 0,8 centímetros de comprimento, ramos pubescentes, tricomas articulados. Folhas elípticas 5-9,5 x 1-1,5 cm de comprimento, base cuneada a obtusa, ápice cuspidado, margem inteira, cartácea, face adaxial indumento hirsuto, tricomas articulados maiores e mais concentrados na nervura central e adjacentes, os menores dispersos no limbo, face abaxial, indumento hirsuto, tricomas articulados concentrados na nervura central, pecíolo hirsuto, tricomas articulados, 0,5-2,5 cm. Inflorescência racemosa, terminal ou axilar, pedúnculo com indumento hirsuto, tricomas articulados, 1,5-8,0 cm, flores bissexuais, agrupadas em 3 de 1,7-2,1 cm envolvidas por 3 brácteas membranáceas, coloridas, levemente pubescente, tricomas articulados dispersos, 5 sépalas unidas formando um tubo, ápice arredondado, base atenuada, pubescentes, tricomas articulados, estames 7-8, filete 0,7-1,2 cm de comprimento, anteras elípticas, 0,5-0,75 mm, ovário elíptico a fusiforme 4 mm de comprimento, estilete estigmatoso (MARCHIORETTO; LIPPERT; SILVA, 2011).

1.2.2 *Bougainvillea glabra*

Trata-se de uma árvore ou arvoreta, caule estriado pubescente, tricômas articulados, espinhos de 0,7-1,3 centímetros de comprimento, gemas entre ramos e acúleos, ramos estriados pubescentes, tricomas articulados. Possuem folhas elípticas a largo-elípticas, 1,7-5,6 x 3-10 centímetros de comprimento, base aguda a obtusa, ápice cuspidado a acuminado, margem inteira, cartácea, face adaxial e abaxial glabra a brevemente pubescente com tricômas articulados dispersos pelo limbo, concentrados nas nervuras central e adjacentes; pecíolo 0,9-2 centímetros, pubescente, tricômas articulados. Inflorescência racemosa axilar ou terminal, pedúnculo pubescente, tricômas articulados, 1,5–5,5 centímetros, com 3 flores bissexuais, glabras a pubescentes, 3 brácteas membranáceas coloridas, glabras; 5 sépalas unidas formando um tubo, ápice arredondado, base atenuada, 1,5-1,9 cm; 7-8 estames, filetes 0,65- 1,3 centímetros, anteras ferrugíneas, 0,75-1 mm; ovário elíptico 2-4 mm, estilete estigmatizado. Antocarpo fixado nas brácteas, 5 nervuras longitudinais proeminentes enroladas no ápice (MARCHIORETTO; LIPPERT; SILVA, 2011).

De acordo com Coutinho et al. (2015), a identificação, seguida de avaliações de genótipos superiores em produções comerciais, constituem o método mais simples e de seleção e apresenta grande chance de sucesso, quando se tem uma grande diversidade genética disponível ainda pouco explorada.

A aparência exuberante e o aspecto estético das primavera devem-se principalmente a coloração de suas brácteas (SOUZA; LORENZI, 2008; SHAH et al., 2006), que são estruturas foliares associadas às inflorescências das angiospermas, tendo como função garantir a proteção da inflorescência ou flores em desenvolvimento. Quando localizadas ao longo da haste da inflorescência, apresentam geralmente aspecto escamiforme, não passando de membranas esverdeadas ou secas, já quando associadas às flores, muitas vezes mostram-se desenvolvidas, assumindo formas, cores e texturas semelhantes aos de uma pétala (GAGO, 2008).

De acordo com Reitz e Klein (1970) estas brácteas estão diretamente ligadas aos processos de polinização, por serem coloridas, chamam a atenção de polinizadores. Conforme Douglas (2007) estas são consideradas agentes de

dispersão do antocarpo, porque quando secas permanecem unidas, possuindo função semelhante ao de uma asa, podendo ser facilmente transportada pelo vento.

No cultivo e comercialização de flores e plantas ornamentais, a conservação, assim como a capacidade de desenvolver novas brácteas, são fatores de extrema importância para garantir a qualidade do produto e também sua durabilidade no mercado. De acordo com Gago (2008), no que diz respeito à durabilidade de flores e plantas ornamentais, a maioria dos estudos estão relacionados as flores, sendo as brácteas nesse sentido pouco estudadas. Sabe-se que o tiosulfato de prata (STS) e o ácido naftale-acético (ANA) tem alguma eficácia no controle da abscisão das brácteas em primaveras (GAGO, 2008; GAGO; MONTEIRO; RODRIGUES, 2001; MEJIAS; RUANO, 1990). No entanto são escassas as informações sobre a interação entre estes dois produtos, assim como o processo fisiológico subjacente. Conforme Gago (2008) a abscisão das brácteas de primaveras esta relacionada simultaneamente a abscisão de suas flores, ocorrendo assim a abscisão de todo o conjunto - constituído por três flores e três brácteas.

Em produção comercial a abscisão desse conjunto se dá frequentemente após o período de colheita, se tornando um grande problema na comercialização e qualidade do produto final, conferindo a esta baixa durabilidade, quando comparado a outras plantas que competem no mercado, como é o caso do kalanchoe (*Kalanchoe blossfeldiana*), violetas (*Saintpaulia ionantha*), mini orquídeas, entre outras.

Vale ressaltar que além das características genéticas, as condições de interior como luz e temperatura, duração de transporte, também são características importantes para garantir a qualidade pós-colheita do produto, podendo influenciar diretamente na abscisão das flores, assim como ocasionar manchas e danos mecânicos, razão pela qual têm sido realizados diversos estudos relacionados ao transporte de flores. Sabe-se que primaveras envasadas, submetidas a condições de transporte e posteriormente expostas a ambiente interior com baixa luminosidade, apresentam elevadas taxas de abscisão de suas brácteas, reduzindo assim sua durabilidade (GAGO, 2008). Por este motivo a grande atenção voltada para durabilidade das brácteas, selecionando para o cultivo comercial os que tenham maior durabilidade.

2 Material e métodos

2.1 Formação do banco ativo de germoplasma de primaveras

O estudo foi realizado em casa de vegetação telada, do tipo arco conjugada, de aço galvanizado de dimensões 84 m x 36 m, com pé direito de 4 m, instalada no sentido norte/sul, fechada nas laterais com sombrite (75%) e cortinas laterais móveis. Localizada no município de Holambra, no estado de São Paulo, a 22°37'55" de latitude sul e 47°03'36" de longitude oeste, a 600 metros acima do nível do mar.

Para o trabalho, foram realizadas expedições de coleta de germoplasma de variedades de *Bougainvillea*, em diferentes municípios do Estado de São Paulo e Minas Gerais, sendo eles Holambra-SP, Artur Nogueira – SP, Santo Antônio de Posse – SP, Araras – SP e Munhoz – MG, em geral provenientes de regiões urbanas e chácaras, alocadas em áreas de jardinagens e cercas vivas. Em cada ponto de coleta foram retirados de dez a quinze ramos semi-lenhosos, com aproximadamente 60 cm de comprimento e acondicionados em jornal umedecido, para posterior confecção das estacas caulinares para multiplicação do material e estabelecimento do banco de germoplasma.

Nas expedições realizadas foram coletados todos os genótipos encontrados que apresentavam brácteas com coloração ou formas diferentes, com propósito de se obter uma maior diversidade possível da espécie. Os acessos coletados foram multiplicados por meio de propagação vegetativa pela técnica de estaquia, utilizando-se a parte herbácea das estacas semi lenhosas coletadas, utilizando a porção terminal com aproximadamente 15 cm de comprimento. Essas foram plantadas em 'paper pots' contendo como substrato a fibra de coco de granulometria fina para o enraizamento. Após o enraizamento completo das estacas – o que ocorreu aproximadamente 30 dias após o plantio, estas foram transferidas para vasos de 24 centímetros (diâmetro da boca), com volume de 5,7 litros. Utilizou-se substrato a base de casca de pinus compostada (85%), vermiculita (10%) e areia (5%).

Como características físico-químicas do substrato utilizado para condução do matrizeiro estão: pH 6,2; condutividade elétrica 0,5 mS/cm; Capacidade de retenção de água de 120% p/p; densidade de 365 kg/m³ (Terra Nutri substratos agrícolas, Paulínia-SP, 2016).

De acordo com análise realizada no Laboratório de Análise de Solo e Planta, do Centro de Solos e Recursos Ambientais, do Instituto Agronômico de Campinas – IAC pode ser formulado o fertilizante concentrado, de modo a ajustar os valores apresentados pela análise. A irrigação foi efetuada em sistema de gotejo do tipo espaguete utilizando-se microtubos, de modo a garantir maior uniformidade e menor perda de nutrientes por lixiviação. Utilizou-se para fertirrigação 13 litros do fertilizante concentrado para cada 1000 litros de água, com valores de condutividade elétrica de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$ e pH ajustado em 5,5, de acordo com recomendações técnicas.

Para formulação da solução concentrada foram utilizados 15 kg de Nitrato de Cálcio; 6 kg de Ferro-EDDHA; 30 kg de Nitrato de Potássio; 30 kg de Nitrato de Magnésio; 15 kg de Sulfato de Amônia; 80 kg de monoamôniofosfato; 1 kg de KCS Mix (Timac Agro, Navarra).

Para identificação dos acessos em *Bougainvillea glabra* e *Bougainvillea spectabilis*, utilizou-se a seguinte chave de identificação dos gêneros de *Nyctaginaceae* descrita por Marchioretto et al. (2011), Com. ex Juss., Gen. Pl. 91. 1789.

Chave de identificação dos gêneros de *Nyctaginaceae*

1. Flores com involúcro.....2
2. Arvoretas apoiantes, flores com involúcro bracteolado.....*Bougainvillea*

Chave de identificação das espécies de *Bougainvillea*

1. Plantas glabras ou raramente pubescentes com tricomas esparsos.....*Bougainvillea glabra*
- 1'. Plantas geralmente com indumento hirsuto.....*Bougainvillea spectabilis*

2.2 Caracterização de acessos de *Bougainvillea*

As avaliações morfológicas foram realizadas em diferentes fases de desenvolvimento das plantas, sendo elas divididas em fase vegetativa e fase de floração, desde o início do enraizamento até a formação de flores e comercialização (Mehraj et al., 2014). Foram avaliados dez acessos de primavera, para a caracterização agronômica, sendo considerados sete caracteres quantitativos: enraizamento, altura da planta, diâmetro do caule, comprimento da folha, largura da

folha e comprimento das brácteas. Todas as medidas foram expressas em centímetros. Os caracteres qualitativos avaliados foram: coloração das brácteas, coloração das folhas, durabilidade das brácteas, presença de espinhos, formato da folha.

Diante da importância da durabilidade das brácteas para maior qualidade e tempo de comercialização do produto final, fez-se necessário a criação de uma classificação de durabilidade, selecionando para o cultivo comercial e continuidade do estudo, variedades com maior durabilidade das brácteas.

Quanto a durabilidade das brácteas de acessos de primaveras, as mesmas foram classificadas em pouca durabilidade, com até 7 dias de durabilidade das brácteas após a abertura do botão floral; média durabilidade com 8 a 15 dias e boa durabilidade com brácteas de durabilidade igual ou acima de 16 dias (Tabela 1).

Os acessos também foram classificados quanto à superfície da folha, sendo elas glabra (ausência de tricomas na superfície da folha) ou pilosa (presença de tricomas na superfície da folha). Também foram classificados quanto ao formato do limbo em elíptica e ovalada. Quanto ao comprimento e largura das folhas (expresso em centímetros) - mensurado com o auxílio de régua milimetrada. O diâmetro do caule (expresso em centímetros) foi mensurado com o auxílio de um paquímetro.

Tabela 1. Classificação da durabilidade das brácteas dos acessos estudados de *Bougainvillea*, após abertura do botão floral. Holambra, SP.

Durabilidade	Dias após abertura do botão floral
Baixa	0 a 7 dias
Média	8 a 15 dias
Alta	Acima de 16 dias

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3 Resultados e discussão

Foram coletados e caracterizados dez acessos de primavera, classificados em A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9 e A10 (Figura 1), sendo eles identificados, caracterizados. Esses acessos constituíram o atual banco ativo de germoplasma, que apresenta uma boa diversidade genética, com plantas de diferentes portes,

cores e formas, o que se torna muito importante para possibilitar futuros estudos da espécie.

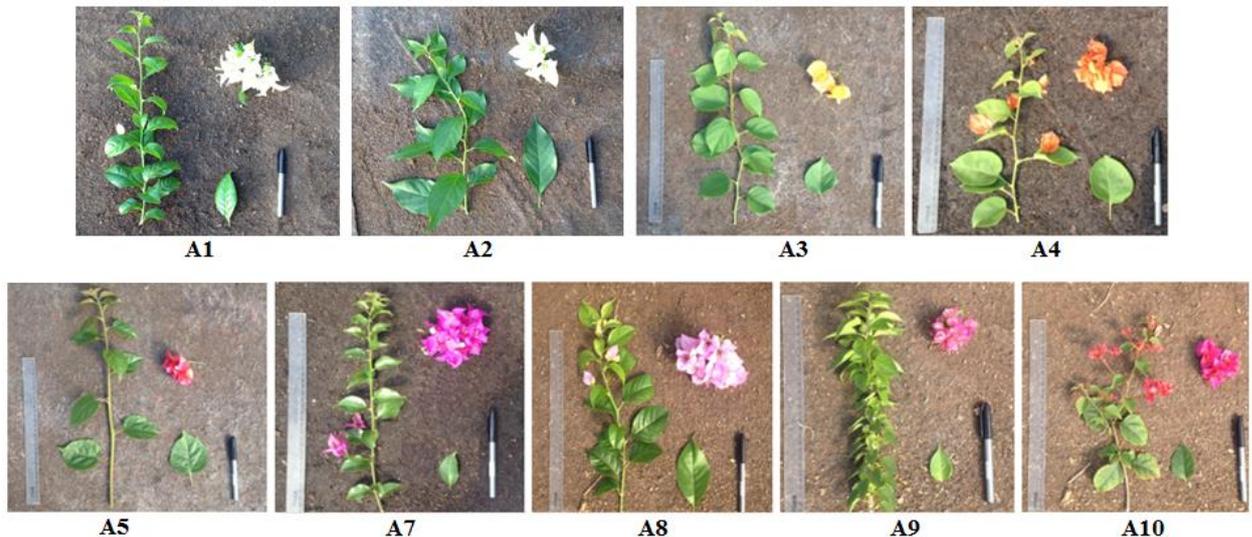


Figura 1. Acessos de primavera (*Bougainvillea* sp.) utilizados neste estudo para formação do Banco Ativo de Germoplasma em casa de vegetação no município de Holambra, São Paulo.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3.1 Características das brácteas

A escolha de acessos com maior durabilidade das brácteas após a abertura do botão floral é fundamental para o cultivo de primaveras, sendo essa uma das características necessárias a competitividade do produto no mercado de flores, já que a espécie apresenta baixa durabilidade quando comparada a outras plantas ornamentais já estabelecidas no mercado. Para os genótipos de primaveras, em especial, o principal problema observado está no armazenamento de plantas floridas em condições de baixa luminosidade, como é o caso da maioria dos varejos. Esse processo leva a uma redução drástica na durabilidade das flores, que raramente ultrapassam os 7 dias de prateleira. Isso provavelmente deve ocorrer devido ao acúmulo de etileno nessas condições, o qual as primaveras parecem ser bastante sensíveis. Dessa forma, para a avaliação da durabilidade das brácteas dos diferentes genótipos visando a produção comercial em vasos foi utilizada a aplicação em pulverização do regulador vegetal Ácido Naftalenoacético (ANA) na concentração de 10 mg L^{-1} , mantidos em ambiente interno. A aplicação do ANA teve como principal objetivo aumentar a durabilidade de prateleira das plantas floridas.

Todos os acessos foram estudados quanto a sua coloração e durabilidade, sendo os que apresentaram maior durabilidade após a abertura do botão floral: A1 (25 dias), A2 (21 dias), A5 (16 dias), A6 (16 dias), A7 (15 dias) e A8 (26 dias) (Tabela 2), classificados como acessos de média e alta durabilidade.

Tabela 2. Características das brácteas dos diferentes acessos estudados de primavera (*Bougainvillea sp.*) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Acesso	Coloração	Brácteas		Durabilidade	
		Comprimento(cm)	Classificação	Dias	
A1	Branca	4,50	Alta	25	
A2	Branca	6,50	Alta	21	
A3	Amarela	3,50	Baixa	07	
A4	Laranja	3,50	Baixa	07	
A5	Vermelha	3,50	Alta	16	
A6	Pink	3,50	Alta	16	
A7	Roxo	2,50	Alta	15	
A8	Lilás	4,50	Alta	26	
A9	Rosa claro	1,50	Baixa	06	
A10	Rosa escuro	3,00	Baixa	06	

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Os acessos estudados apresentaram coloração, tamanho e formatos diversificados (Figura 2).

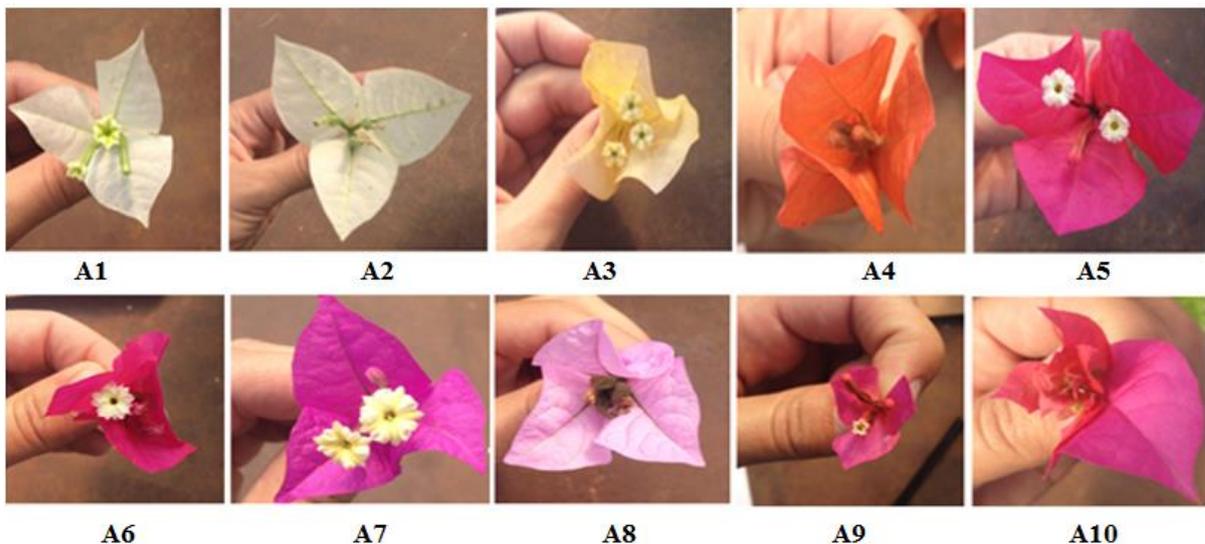


Figura 2. Diferença entre as cores apresentadas pelos acessos estudados de primavera (*Bougainvillea sp.*) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Além da abscisão das brácteas, outros aspectos observados durante o cultivo, também interferiram na seleção de genótipos para cultivo e propagação vegetativa. Plantas que apresentaram brácteas que após a abertura do botão floral se apresentavam pouco vistosas, com perda de coloração ou aparência de murcha, foram descartadas do processo, a exemplo dos genótipos A4 e A8, pois para a produção de flores a aparência das plantas é um fator de grande importância, para que a planta desperte interesse no consumidor. Apesar de apresentarem coloração das brácteas, estrutura e folhas muito semelhantes, os acessos A1 e A2 diferiram em relação ao tamanho das brácteas, sendo as do acesso A2 maiores que as do acesso A1 (Figura 3; Tabela 2).



Figura 3. Diferença entre o tamanho das brácteas dos acessos A2 (2) e A1 (1) de *Bougainvillea glabra* presentes no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, SP.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3.2 Características das folhas

Quanto ao formato do limbo foliar, os acessos tiveram suas folhas classificadas em elípticas e ovaladas (Figura 4), sendo elípticas para os acessos A1, A2, A7 e A8, e ovaladas para os acessos A3, A4, A5, A6, A9 e A10 (Tabela 3).

Para fins de cultivo, o formato do limbo foliar tem menor interferência na produção de primavera em vaso do que por exemplo a coloração e durabilidade das brácteas, contudo para identificação das espécies o limbo foliar é de grande importância. De acordo com observações realizadas ao longo dos anos de estudo, pode-se perceber que os acessos de *B. glabra* apresentavam folhas com formato elíptico e plantas dos acessos de *B. spectabilis* apresentaram formato do limbo foliar ovalado. Além disso a presença de tricomas no limbo foliar é uma das características de identificação entre *B. glabra* e *B. spectabilis*.

Tabela 3. Características das folhas dos diferentes acessos de primavera (*Bougainvillea*) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Acesso	Comp. (cm)	Larg. (cm)	Limbo	Superfície
A1	10,50	5,00	Elíptica	Glabra
A2	15,60	6,00	Elíptica	Glabra
A3	6,00	6,00	Ovalado	Pilosa
A4	6,50	6,00	Ovalada	Pilosa
A5	8,00	8,00	Ovalada	Pilosa
A6	7,00	5,00	Ovalada	Pilosa
A7	4,50	3,00	Elíptica	Glabra
A8	7,00	5,00	Elíptica	Glabra
A9	4,00	2,50	Ovalada	Pilosa
A10	6,00	6,00	Ovalada	Pilosa

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

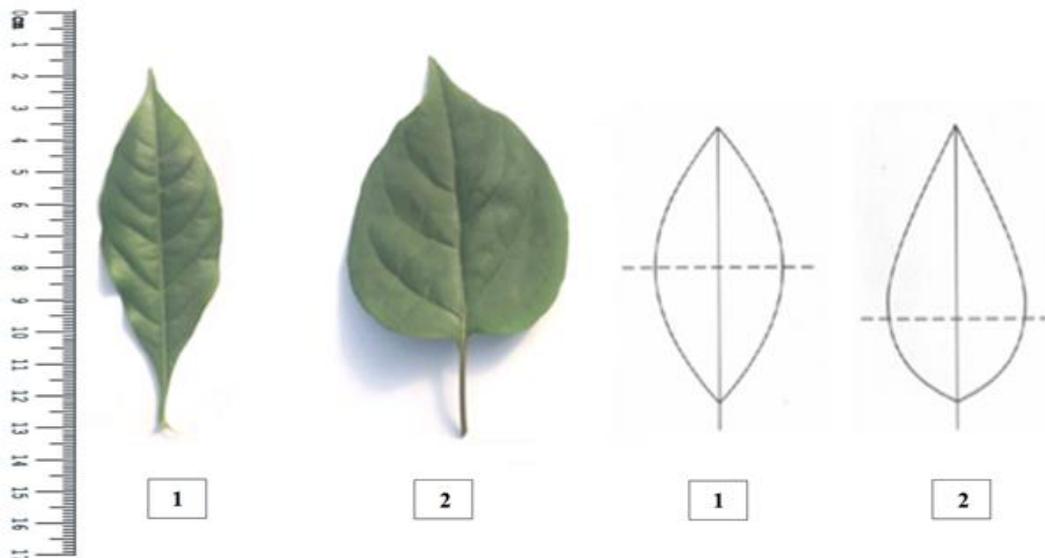


Figura 4. Formato da folha dos acessos estudados de *Bougainvillea* presentes no banco ativo de germoplasma, no município de Holambra, São Paulo – Elíptica para *Bougainvillea glabra* (1) e ovalada para *Bougainvillea spectabilis* (2).

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3.3 Características do caule

Também foram observadas diferenças nos tipos e comprimentos dos espinhos contidos nos caules de primaveras (Figura 5; Figura 6; Tabela 4). Essa é

uma característica importante comercialmente, pois a presença de espinhos pode representar risco de pequenos acidentes na manipulação, tanto de trabalhadores da produção, como dos consumidores finais. A presença de espinhos pequenos ou a ausência dos mesmos pode diminuir ou mesmo eliminar esse risco. Não foram encontrados genótipos sem espinhos até o momento, o que representaria uma grande vantagem para o cultivo com fins ornamentais dessa espécie. A exceção dos genótipos A2 e A4, todos os demais genótipos apresentaram espinhos pequenos.

Outra característica de grande importância é o porte da planta, que pode determinar sua utilização como uso em vasos, corte ou paisagismo. Para a seleção de genótipos visando à produção comercial de primaveras em vasos, a presença de caules com entrenós curtos e retilíneos pode representar uma vantagem, pois atualmente, há uma demanda por plantas de porte compacto no mercado de flores. Os acessos que apresentaram menor porte foram A1, A3 e A9. Em relação à altura, na seleção de acessos para cultivo em vaso, esses acessos apresentam porte desejável, contudo a susceptibilidade a pragas e doenças apresentada por estes ao longo do cultivo, fez com que os acessos A3 e A9 fossem descartados da seleção.

Em contrapartida, plantas de grande porte podem ser utilizadas no paisagismo como arvoretas ou mesmo para cercas vivas. Os acessos que apresentaram maior porte foram A2, A5 e A8, sendo que a utilização desses acessos para cultivo em vasos pequenos, só seria possível com o uso de reguladores de crescimento.

A primavera apresenta características de interesse agrônomo importantes para seu cultivo comercial, dentre elas, as que merecem maior destaque são: a altura da planta sendo alvo as plantas mais compactas para a produção em vasos; a eficiência na produção de raízes adventícias provenientes especialmente de estaquia caulinar; resistência a pragas e doenças; precocidade na produção e durabilidade das flores. Estas são ferramentas importantes para seleção de acessos que melhor se adaptam aos sistemas de produção, garantindo melhores produtividades e maiores retornos econômicos.

Ao final do processo de seleção os acessos escolhidos para o cultivo foram A1 referente a espécie *Bougainvillea glabra* e A5 referente a espécie *Bougainvillea spectabilis*, por apresentarem características interessantes para o cultivo, assim como maior resistência a doenças e pragas como larva-minadora (*Lirimyza sativae*), pulgão (*Aphis gossypii*), ácaro branco (*Polyphagotarsonemus latus*) e *Fusarium*,

esse último causador de murcha e podridão das raízes. Essas pragas e doenças foram avaliadas com observações de campo ao longo de dois anos de cultivo, eliminando do processo os acessos que apresentavam presença ou sintomas destas, fator não considerado inicialmente, mas que teve peso considerável na seleção dos genótipos. O mesmo critério de seleção também foi utilizado por Cardoso (2010) e Cardoso (2012) em estudo para seleção de cultivares de orquídeas do gênero *Cattleya* e *Dendrobium* para cultivo em vaso, no qual foram avaliadas a presença e sintomas das principais pragas e doenças nas plantas durante o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, eliminando no momento das seleções aquelas que apresentavam suscetibilidade ao ataque destas.

De acordo com Melville et al. (2016), a obtenção de genótipos mais tolerantes a pragas pode ser utilizada como estratégia de controle, reduzindo a população de insetos a níveis que não causam danos econômicos, podendo dessa forma diminuir a utilização de inseticidas no cultivo, dando maior sustentabilidade ao processo produtivo. Gallo et al. (2002) ressaltam que o uso de genótipos resistentes oferece como vantagem ao sistema de produção o fato de não apresentar efeito acumulativo e persistente, não ofertando riscos ao meio ambiente. Moreira et al. (2015) também citam que o uso de variedades resistentes como o processo mais eficaz no controle de doenças em plantas.

No caso de primaveras, o fator suscetibilidade a pragas e doenças, a durabilidade das brácteas e a boa resposta dos genótipos aos tratamentos culturais, como bom enraizamento de estacas caulinares e floração de plantas ainda com porte compacto foram determinantes na escolha dos genótipos visando a produção comercial em vasos. Essas características também foram aquelas de maior limitação para o cultivo, sendo as demais características secundárias no processo produtivo. No caso de durabilidade das brácteas, essa é uma característica essencial para a comercialização, sendo indispensável uma durabilidade de média a alta.

Tabela 4. Características do caule dos diferentes acessos estudados de primavera (*Bougainvillea*) presentes no banco de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Acesso	Caule	
	Diâmetro (cm)	Espinhos
A1	1,90	Pequenos e curvos
A2	1,30	Grandes e curvos
A3	1,00	Pequenos e curvos
A4	1,10	Grandes e curvos
A5	1,50	Pequenos e retos
A6	1,10	Pequenos e retos
A7	1,80	Pequenos e curvos
A8	1,50	Pequenos e curvos
A9	1,60	Pequenos e retos
A10	2,00	Pequenos e retos

Fonte: Arquivo pessoal (2017).



Figura 5. Diferença entre os espinhos apresentadas pelos acessos estudados de primavera (*Bougainvillea*) (1) Espinhos pequenos e retos; (2) Pequenos e curvos.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).



Figura 6. Diferença entre os espinhos apresentadas pelos acessos estudados de primavera (*Bougainvillea*) (1) Espinhos grandes e retos; (2) Grandes e curvos.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3.4 Identificação dos acessos escolhidos

Os acessos selecionados A1 e A5 foram respectivamente identificados em *Bougainvillea glabra* (Figura 7) e *Bougainvillea spectabilis* (Figura 8) de acordo com as características descritas na tabela comparadas a chave de identificação descrita por Marchioretto et al. (2011)

Plantas do acesso A1 foram identificadas como *Bougainvillea glabra*, por apresentarem copa irregular, troncos tortuosos, ramificados e ásperos, folhas de formato elíptico, opostas, simples, pecioladas, ausência de tricomas – glabras (Tabela 5). As folhas são elípticas, brilhantes e lisas, não apresentando tricomas, caule com espinhos pequenos e levemente curvados na porção distal, com brácteas de coloração branca e flores pequenas com tons amarelados,

Plantas do acesso A5 foram identificadas como *Bougainvillea spectabilis*, por apresentarem copa irregular, troncos tortuosos, ramificados e ásperos, folhas opostas, simples, pecioladas, formato ovalado e grandes e presença de tricomas na face abaxial com presença de espinhos grandes e curvos. As brácteas possuem coloração vermelho escura ou clara, com nuances de róseo, flores pequenas e de coloração creme.

Cardoso (2010) ao selecionar genótipos de orquídeas ressaltou a grande importância de se considerar as características agrônômicas que interferem em um bom desenvolvimento das plantas, para facilitar o processo produtivo, e reduzir custos de produção, inserindo variedades mais adaptadas ao sistema produtivo.

Tabela 5. Características botânicas dos acessos selecionados - A1 de *Bougainvillea glabra* e A5 *Bougainvillea spectabilis*, presente no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Características botânicas dos acessos selecionados				
Genótipo	Folhas	Brácteas	Flores	Espinhos
<i>Bougainvillea glabra</i>	Elípticas, brilhantes e lisas, não apresentam tricomas.	Branças	Pequenas com tons amarelados	Espinhos pequenos e levemente curvados nas pontas
<i>Bougainvillea spectabilis</i>	Grandes e arredondadas e presença de tricomas na parte inferior e superior	Vermelhas escuras ou claras e também podem apresentar tons de rosa	Pequenas de coloração creme	Presença de espinhos grandes e curvados

Fonte: Arquivo pessoal (2017).



Figura 7. Acesso A1 de *Bougainvillea glabra* presente no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).



Figura 8. Acesso A5 de *Bougainvillea spectabilis* presente no banco ativo de germoplasma no município de Holambra, São Paulo.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

4 Conclusões

Levando-se em consideração as condições em que o presente trabalho foi realizado e as características agrônômicas avaliadas, pode-se concluir que existe uma grande diversidade genética a ser explorada dentro do gênero *Bougainvillea*, sendo possível a sua conservação em condições de casa de vegetação. A caracterização desses acessos ainda permitiu identificar aqueles que considerados superiores para utilização no cultivo comercial, devido a características como maior resistência a pragas e durabilidade das brácteas. Esse estudo ainda permitiu a identificação de características agrônômicas de interesse, que poderão ser utilizadas

em programas de melhoramento genético, possibilitando a realização de futuros estudos e até mesmo lançamentos de novas variedades no mercado.

5 Literatura citada

ARTHY, J.; BRANSGROVE, K. **New foliage and cut flowers species from North Queensland Commercial Potential**. Barton, Austrália: Rural Industries Research and Development Corporation, 2003.

CAMPOS, A. D. et al. **Enraizamento de estacas de mirtilo provenientes de ramos lenhosos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Comunicado técnico, 133).

CARDOSO, J. C. *Laeliocattleya* 'Brazilian Girl Rosa': cultivar de orquídea para cultivo em vaso. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 378-381, 2010.

CARVALHO, D. B. de.; SILVA, L. M.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Indução de raízes em estacas semilenhosas de Azaléia através da aplicação de ácido naftaleno-acético em solução. **Scientia Agraria**, v. 3, n. 1-2, p. 97-101, 2002.

COSTA, M. E. et al. Enraizamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis* Willd. com o uso de ácido indolbutírico. **Acta Agronômica**, v. 64, n. 3, p. 221-226, 2015.

COUTINHO, R. W. P.; SOUSA, B. F. R.; TSUTSUMI, Y. C.; Método de melhoramento genético no girassol. **Nucleus**, v.12, n1, abr. 2015.

DOUGLAS, N. A. **Molecular phylogenetic studies in Nyctaginaceae**: Patterns of diversification in arid North America. Tese (Doutorado em Filosofia) - Duke University, Department of Biology in the Graduate School, 2007.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas. 2004. (Documentos n. 94).

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; BRAGANÇA, S. M. Banco Ativo de Germoplasma de *Coffea canéfora*, variedade conilon no estado do Espírito Santo. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés Do Brasil, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos Expandidos**. Brasília, DF: Embrapa Café/MINASPLAN, 2000. p. 405-407.

GAGO, C. M. L. **Indicadores precoces de longevidade em buganvília envasada**. 2008. 195f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias, especialidade de Horticultura) - Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve, 2008.

GAGO, C. M. L.; MONTEIRO, J. A.; RODRIGUES, M. H. *Bougainvillea* post production: NAA and STS control of bract abscission is subject to exogenous ethylene. **Acta Horticulturae**, v. 543, p. 47-53, 2001.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GERMEK, E. B. As primaveras de Campinas. **O Agrônomo**, Campinas, v. 56, n. 1, p. 35, 2004.

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. Considerações sobre o uso de plantas ornamentais nativas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 12, n. 1, p. 2-7, 2006.

LEDO, S. A. C. et al. **Coleta e conservação de germoplasma de espécies silvestres de *Manihot* no Estado da Bahia para ampliação da coleção de trabalho da Embrapa Mandioca e Fruticultura**. Comunicado Técnico 146. Cruz das Almas, BA: Embrapa, 2010. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/882041/1/comunicado146ID27575.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2016.

LIMA, D. M. et al. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

LIMA, D. M. et al. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indolbutírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LONE, B. A. et al. Enraizamento de estacas de azaleia (*Rhododendron simsii* Planch.) no outono em AIB e diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1720-1725, ago. 2010.

MARCHIORETTO, S. M.; LIPPERT, A. P. U.; SILVA, V. L. **A família Nyctaginaceae juss. no Rio Grande do Sul, Brasil**. Pesquisas, Botânica n. 62, p. 129-162. São Leopoldo: Instituto Anchieta de Pesquisas, 2011.

MEHRAJ, H. et al. Morpho-physiological and flowering behavior of *bougainvillea* cultivars. **International Journal of Sustainable Crop Production**, v. 9, n. 3, 2014.

MENEGUZZI, A. et al. Ácido indolacético influencia no enraizamento de estacas de *Pittosporum tobira*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 14, n. 1, p. 24-28, 2015.

MEJIAS R. J.; RUANO M. C. **El cultivo industrial de plantas en macetas**. Molins de Rei, Barcelona: Ediciones de Horticultura S.L., 1990. p. 530-533.

MELVILLE, C. C. et al. Preferência do pulgão-preto, *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphidae), a genótipos de feijão-caupi. **Revista Agroambiente On-line**, v. 10, n. 2, p. 153-160, abr./jun. 2016.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade da Flora e Fauna Brasileira**. 2015. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em: 10 set. 2016.

- MOREIRA, S. O. et al. Resistência à mancha bacteriana e características agrônômicas de linhas recombinadas de *Capsicum annum* L. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 10, n. 2, p. 198-204, 2015.
- MOSLEH, M. S.; DUHOK, S.; LAYLA, S. In vitro micropropagation of selected *Bougainvillea* sp. through callus induction. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 6, n. 6, p. 01-06, 2014.
- NASCIMENTO, C. A. et al. BAP e AIB no cultivo *in vitro* de *Eugenia pyriformis* Cambess. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 223-228, abr./jun. 2008.
- NETO, S. J. J.; RÊGO, R. E.; NASCIMENTO, F. M.; FILHO, S. L. A. V.; NETO, A. X. J.; RÊGO, M. M. Variabilidade em população base de pimenteiras ornamentais (*Capsicum annum* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, p.084-089, jan/fev. 2014.
- OLIVEIRA J. C. J. F. et al. Potencial das espécies nativas na produção de plantas ornamentais e paisagismo agroecológico. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 3, p. 190-200, 2013.
- PIO, R. et al. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de oliveira (*Olea europaea*) utilizando ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 562-567, 2005.
- PIVETTA, L. F. K. et al. Efeito do armazenamento de estacas no enraizamento de roseiras para corte nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 25-30, 2003.
- REITZ, P. R.; KLEIN, R.M. Nictagináceas. In: REITZ, P.R. (Ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, SC: Conselho Nacional de Pesquisas/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal/Herbário "Barbosa Rodrigues", 1970.
- SARZI, I.; PIVETTA, K. F. L. Efeito das estações do ano e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de miniroseira (*Rosa* spp.). **Científica**, Jaboticabal, v. 332, n. 1, p. 62-68, 2005.
- SCUTTI, M. B. Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* berg.) *in vitro* e por estaquia. **ScientiaAgraria**, v.1, n. 1-2, p. 75-82, 2000.
- SHAH, T. S. et al. Mass propagation of *Bougainvillea spectabilis* through shoot tip culture. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 953-959, 2006.
- SILVA, F. de A. S. **ASSISTAT versão 7.6 beta**. Campina Grande, PB: Assistência Estatística, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN - Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Campina, 2012.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para a identificação das famílias fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

TOGNON, G. B. et al. Ornamental Potential and Postharvest of *Baccharis uninella* D.C. **Acta Horticulturae**, v. 1000, 2015.

TOGNON, G. B. et al. **Native ornamental plants of South Brazil**. Buenos Aires: International Symposium on New Floricultural Crop, 2011.

TOMBOLATO, A. F. C. et al. **Potential ornamental plants of Tambaba environmental protected área, Paraíba State, Brazil**. Buenos Aires: International Symposium on New Floricultural Crops, 2011.

VIEIRA, M. L. C. Conservação de germoplasma *in vitro*. **Revista Biotecnologica Ciência e Desenvolvimento**, a. 3, n. 14, p. 18-20, 2000.

VALLS, J. F. M. Recursos genéticos de *Arachis*: avanços no conhecimento botânico e a situação atual de conservação e uso. **Agrociencia**, v. 9, n. 1-2, p.123-132, 2005.

WEISS, D. Introduction of new cut flowers; domestication of new species and introduction of new traits not found in commercial varieties. In: VAINSTEIN, A. (Ed.). **Breeding for ornamentals**. Dordrecht: Springer, 2002.

XU, S. et al. Reproductive organography of *Bougainvillea spectabilis* Willd. **Scientia horticulturae**, v. 120, p. 399-405, 2009.

CAPÍTULO 2. Estaquia caulinar e micropropagação de acessos de *Bougainvillea glabra* e *B. spectabilis*

Resumo

O cultivo de primaveras (*Bougainvillea* sp.) em recipientes pode ser uma alternativa de inovação na floricultura nacional. No entanto, para a produção em larga escala dessa espécie, é necessário o estabelecimento de protocolos eficientes para a propagação clonal, como a estaquia e a micropropagação. O sucesso na aplicação da micropropagação depende de uma série de fatores que justifiquem seu uso, estando entre eles a maior eficiência em relação a outras técnicas de menor custo de produção mudas, como a estaquia. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo realizar a propagação clonal, utilizando o cultivo *in vitro* e a estaquia caulinar de primaveras. A estaquia foi realizada testando diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) a 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg.L⁻¹, visando a indução de raízes adventícias em estacas de *B. glabra* e *B. spectabilis*. Para a micropropagação, foram testados o tipo e a desinfestação de explantes e diferentes meios de cultura (MS e WPM).. Para a estaquia caulinar os melhores resultados foram obtidos na concentração de 1000 mg.L⁻¹ para *B. spectabilis* e sem adição de auxina para *B.glabra*. Já no experimento *in vitro*, obteve-se melhores resultados com assepsia de 60% de hipoclorito de sódio por 20 minutos e meio de cultivo WPM com adição de BAP, utilizando-se como explante ápices caulinares de *B. glabra*.

Palavras-chave: Estaquia caulinar; enraizamento; micropropagação; primavera.

CHAPTER 2. Stem cutting and micropropagation of *Bougainvillea glabra* and *B. spectabilis*

Abstract

The cultivation of 'primaveras' (*Bougainvillea* sp.) as pot culture it can be an innovation alternative in the Brazilian floriculture. However, for the large-scale production of this species, it is required the establishment of efficient protocols for the clonal propagation, as the stem cutting propagation and the micropropagation. The success in the application of the micropropagation depends on a series of factors which it use depends of the efficiency in relation to other low cost techniques of plantlets production, as the stem-cutting propagation. This work had as objective to do the clonal propagation, using micropropagation and stem cutting of 'primaveras'. For the stem cutting propagation there were tested different concentrations Indolbutyric acid (IBA) at 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg.L⁻¹ aiming the induction of adventitious roots. Better rooting percentage was obtained without auxins for *B. glabra* and using 1000 mg.L⁻¹ for *B. spectabilis* stem cuttings. For the micropropagation works there were tested the type and the explants disinfestations, and also different culture media. The data were submitted to the variance analysis, and the averages were compared using Tukey test at 5% probability. Better results were obtained using asepsis of 60% of sodium hypochlorite for 20 minutes and establishment of explants in WPM with addition of BAP, for explants of *B. glabra*.

Keywords: stem cutting; rooting; micropropagation; primavera.

1 Introdução

1.1 Micropropagação

A micropropagação vem sendo desenvolvida e aperfeiçoada, com o objetivo de elevar a taxa de multiplicação em curto espaço de tempo e melhorar a qualidade da produção de mudas, sem a necessidade de um grande número de plantas matrizes (PEREIRA, 2012; DINIZ et al., 2008). Contudo, a contaminação microbiana é um dos maiores problemas desta técnica (DINIZ et al., 2008). De acordo com Diniz et al. (2008), a maior dificuldade para o estabelecimento *in vitro* está em se obter material livre de agentes contaminantes, sem causar danos aos tecidos, sendo essencial que se encontre um protocolo eficiente para assepsia do explante utilizado.

Desse modo, o princípio básico para o sucesso da cultura de tecidos é, em parte, adotar medidas de prevenção e controle da contaminação microbiana (DINIZ et al., 2008; SILVA et al., 2003; LEIFERT et al., 1994). Isto, em função da técnica proporcionar um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (DANTAS et al., 2002). Os microrganismos contaminantes competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura, liberando metabólitos tóxicos neste meio, podendo ocasionar a morte da plântula (PEREIRA et al., 2003).

O sucesso da micropropagação depende da sequência de fases ou etapas, em que o êxito de cada uma é necessário para o êxito da próxima (PEREIRA et al., 2003). Para cada caso, o tipo de substância utilizada na desinfestação bem como a

concentração e o tempo de exposição ao agente desinfestante devem ser previamente testados, de forma a melhor adequá-los à espécie em estudo e a sensibilidade do tecido a ser desinfestado (DINIZ et al., 2008).

Na fase de estabelecimento *in vitro*, dependendo da origem do material a contaminação pode comprometer o trabalho de micropropagação. As porcentagens de contaminações podem variar entre as espécies e até mesmo as variedades de uma mesma espécie. Quando é exógena o controle dos principais agentes contaminantes (fungos e bactérias) é consideravelmente mais fácil de controlar. Quando a contaminação é endógena as consequências podem ser mais limitantes ao cultivo (SOUZA et al., 2006).

No processo de desinfestação que é a eliminação de microrganismos superficiais de explantes, várias substâncias podem ser utilizadas, sendo que as mais comuns são as soluções de etanol e os compostos à base de cloro, tais como hipoclorito de sódio e de cálcio, além de outras substâncias ácidas ou básicas, adicionadas de algumas gotas de detergente. A concentração da substância utilizada e o tempo de exposição do tecido a estas substâncias são bastante variáveis, principalmente em função do tipo e origem do explante, da época do ano e ambiente onde são coletados (DUTRA et al., 2009).

Para o estabelecimento do cultivo *in vitro* de primaveras (*Bougainvillea*), é necessário desenvolver um protocolo de desinfestação adequado para minimizar a contaminação do material, para que em seguida, o material possa ser introduzidas no meio de cultura. Mosleh et al., (2014) ressaltam a falta de estudos relacionados ao cultivo *in vitro* de primaveras e a necessidade de desenvolver técnicas que viabilizem sua propagação e conservação da espécie.

Após o estabelecimento do processo de escolha do explante e desinfestação, a seleção do meio de cultura mais adequado é uma etapa importante para o estabelecimento do cultivo *in vitro* uma vez que pode ser um fator limitante para o crescimento e desenvolvimento das plantas cultivadas *in vitro*. O sucesso no estabelecimento, indução e multiplicação de brotações, pode ser difícil para algumas espécies. Diversas plantas têm necessidades específicas para a propagação *in vitro*. Portanto, variações substanciais existem nas formulações do meio de cultura na tentativa de atender demandas específicas. Em geral, requerimentos de sais minerais variam de um grupo de planta a outro, bem como fitorreguladores

específicos ou suplementos orgânicos aumentam bastante a regeneração e crescimento em muitos casos (SARASAN et al. 2006).

Entre os reguladores vegetais empregados, as auxinas e citocininas são as mais utilizadas no cultivo *in vitro* (VILLA et al., 2005; ERIG; ROSSI; FORTES, 2002; CALDAS; HARIDASAN; FERREIRA, 1998). As citocininas são usadas, para quebrar a dominância apical dos brotos, e aumentar a taxa de multiplicação (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Dessa forma, ocorre um grande número de brotações por meio da brotação e desenvolvimento de meristemas laterais (ERIG; ROSSI; FORTES, 2002). Entre as citocininas comercialmente disponíveis, a 6-benzilaminopurina (BAP) é a que, em geral, apresenta melhores resultados, em concentrações que variam em função da espécie e do tipo de explante utilizado (VILLA et al., 2005; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Em qualquer sistema de micropropagação, os componentes do meio nutritivo são fundamentais para o estabelecimento de um protocolo eficiente (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). A falta de informações relacionadas à nutrição de primaveras (SHAH et al. 2006) tem sido uma dificuldade tanto para o cultivo *in vitro* com *ex vitro* desse grupo de plantas.

Em vista dos aspectos abordados, este estudo teve por objetivo em primeiro momento comparar dois métodos de propagação clonal, a estaquia caulinar e a micropropagação. Nesse último caso, torna-se necessário estabelecer um protocolo eficiente para desinfestação de explantes de primavera *Bougainvillea glabra*, utilizando diferentes concentrações de hipoclorito e submetidas a diferentes tempos de exposição durante a fase de estabelecimento *in vitro* da cultura, assim como avaliar o meio de cultivo que proporcione melhor desenvolvimento dos ápices caulinares, possibilitando assim o cultivo *in vitro* e propagação de mudas de primavera.

1.2 Propagação vegetativa por estaquia

De acordo com Sexto (2005), o método de estaquia trata de um procedimento no qual um segmento da planta matriz, denominado estaca, é retirado, e cultivado em condições ambientais favoráveis e induzido à formação de brotos e raízes com o objetivo de obter uma nova planta. As estacas podem ser de ramos, raízes ou

folhas, desde que tenha pelo menos uma gema vegetativa e capacidade de originar uma nova planta (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 1995).

Entre as vantagens da propagação vegetativa pelo método de estaquia, pode-se destacar a capacidade de uma planta matriz originar inúmeras estacas, a possibilidade de se obter uma grande quantidade de plantas em pouco espaço, além de ser uma técnica simples e com baixo custo. Alguns autores como Sexto (2005) e Costa et al. (2015) afirmam que quando existe facilidade de enraizamento da espécie, a estaquia pode ser o método com maior viabilidade econômica para obtenção de mudas, sendo uma alternativa para a propagação de espécies florestais e ornamentais.

1.3 Fatores que afetam o enraizamento das estacas

A capacidade de uma estaca em formar raízes pode ser diretamente afetada por um grande número de fatores, que atuam em conjunto ou isoladamente, sendo estes fatores endógenos e exógenos. O conhecimento desses fatores torna-se de grande importância para que se entenda a facilidade ou dificuldade de enraizamento de cada espécie, possibilitando assim, um manejo adequado e maior possibilidade de sucesso na produção de mudas (COSTA et al., 2015; SCUTTI, 2000; SEXTO, 2005).

Conforme Sexto (2005) algumas substâncias endógenas produzidas em diferentes partes da planta, tais como auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno, podem prejudicar o processo de formação de raízes. Outras substâncias, como inibidores e estimuladores do crescimento, também podem afetar a formação de raízes, porém de maneira mais indireta. As auxinas, como o ácido indolbutírico (AIB), quando aplicadas em estacas de caule, acumulam-se na base e promovem a formação de meristemas e, em seguida, de raízes adventícias. A utilização de auxinas sintéticas no processo da estaquia pode auxiliar no aumento da porcentagem de enraizamento de estacas, assim como agilizar o processo de rizogênese, uniformizar o enraizamento e melhorar a qualidade das raízes formadas (SARZI et al., 2005).

Os principais fatores ambientais relacionados ao enraizamento de estacas são umidade, luz, temperatura e substrato utilizado. Sexto (2005) ressalta que para maioria das espécies, temperaturas entre 21 e 27°C são ideais para o enraizamento

de estacas, sendo que mudanças bruscas podem ser prejudiciais ao enraizamento e sobrevivência das mesmas. Temperaturas altas podem aumentar a taxa respiratória das estacas, ocasionando a desidratação destas, sendo esta, uma das principais causas de mortalidade de estacas. Além disso, o excesso de calor pode estimular o desenvolvimento das brotações antes do desenvolvimento radicular.

Já a influência da luminosidade no enraizamento de estacas, quanto à intensidade, qualidade e fotoperíodo, está especialmente relacionada à planta matriz, sendo importante fornecedora de energia para a fotossíntese. Vale ressaltar que nesse período a intensidade luminosa deve ser controlada para evitar a insolação excessiva das estacas (SEXTO, 2005).

Outro fator de grande que tem grande influência no enraizamento de estacas, afetando diretamente na porcentagem de estacas enraizadas e a formação do sistema radicular é o tipo e qualidade do substrato utilizado. A qualidade de um substrato depende de suas propriedades físicas e químicas que devem ser previamente analisadas em laboratório (SEXTO, 2005).

1.4 Enraizamento do acesso selecionado visando formação de mudas e melhorias no cultivo

A propagação vegetativa por meio de estaquia apresenta algumas vantagens, pois é uma técnica simples e com custo baixo (HARTMANN et al., 2002). Porém essa técnica apresenta algumas desvantagens quando se trata da obtenção de material de propagação viável, no que se diz respeito à boa capacidade de enraizamento e posterior adaptação a campo (FERRARI; GROSSI; WENDLING, 2004). Algumas cultivares de primavera são mais difíceis de enraizar e nesses casos as estacas de caule, precisam ser submetidas a tratamentos com reguladores vegetais para induzir a formação raízes (SHAH et al., 2006) e dessa forma obter mudas de qualidade em curto período de tempo. Por isso a grande importância do estudo de diferentes reguladores e em diferentes concentrações para determinar o melhor protocolo para o enraizamento e que garanta maior desempenho do cultivo (COSTA et al., 2015).

Entre as várias estratégias adotadas para o método da estaquia, destacam-se aquelas relacionadas às práticas culturais da planta-matriz, como controle fitossanitário e adubação, e a aplicação de reguladores vegetais, que são

estimulantes para o sucesso do enraizamento adventício de estacas (GOULART; XAVIER, 2008). Os reguladores vegetais mais utilizados para este fim pertencem ao grupo das auxinas, sendo eles o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA). De acordo com Moura, Salla e Lima (2015), as auxinas podem ser utilizadas no enraizamento de diversas espécies de interesse comercial, sendo responsáveis por proporcionar melhor enraizamento, aumentar a formação, velocidade e uniformidade do sistema radicular. Todavia, o aumento conferido por esses reguladores vegetais, podem variar de acordo com a forma, a concentração, o método de aplicação, o tipo de estaca e a espécie utilizada, bem como as condições fisiológicas e sanitárias das plantas matrizes.

A formação de raízes em estacas ocorre a partir de modificações morfológicas e fisiológicas dos tecidos (HARTMANN et al., 2002). O início do processo ocorre pela desdiferenciação de algumas células adultas que retornam à atividade meristemática e originam um novo ponto de crescimento que pode diferenciar células em primórdios de raízes que crescem conectados com um novo sistema vascular e rompem o córtex e a epiderme da estaca (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). Assim, o sucesso do enraizamento depende da temperatura, do controle de agentes patogênicos, da umidade relativa, do genótipo e das condições de crescimento da planta-matriz, bem como a concentração correta do regulador vegetal utilizado (MOURA; SALLA; LIMA, 2015; GOULART; XAVIER, 2008; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005; HARTMANN et al., 2002). Por isso a grande importância em se conhecer o acesso utilizado e as diferentes necessidades de cada um.

Diante do exposto, essa pesquisa teve como objetivo disponibilizar informações sobre a espécie e conservar parte da variabilidade genética da cultura, em especial aquelas espécies e genótipos com interesse comercial para a produção de flores, assim como classificar e selecionar genótipos considerados superiores para produção comercial de flores, incluindo seu posterior uso em processos de propagação em larga escala, utilizando técnicas vegetativas para obtenção de populações clonais de interesse comercial. Para tanto foi criado no início do ano de 2015 um banco ativo de germoplasma de primavera. Com a crescente expansão do setor de flores e a demanda cada vez maior por cultivares mais produtivas, com uniformidade e qualidade, que possibilitem maior exploração comercial, acredita-se

que a criação desse banco será de grande importância para dar suporte de cunho acadêmico e tecnológico ao desenvolvimento da cultura.

2 Material e métodos

Os estudos de propagação vegetativa de primaveras foram realizados em dois grupos principais de experimentos, um envolvendo a estaquia caulinar e outro com o estabelecimento de protocolos de micropropagação de primaveras. Os trabalhos com estaquia caulinar foram conduzidos na empresa Van Vliet, localizada no município de Holambra, Estado de São Paulo e os relacionados à micropropagação, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (CCA/UFSCar), localizado em Araras, São Paulo.

Os experimentos de micropropagação constituíram-se de duas etapas: (1) escolha e assepsia dos explantes para o cultivo *in vitro*; (2) meio de cultivo para o estabelecimento *in vitro*.

2.1 Experimento I: Estaquia caulinar de primaveras

Os acessos utilizados para o enraizamento de estacas foram o A1 (*Bougainvillea glabra*) e o A5 (*Bougainvillea spectabilis*), descritos no capítulo 1 deste estudo. Dessa forma, foi possível avaliar a capacidade de enraizamento desses dois acessos com a aplicação de diferentes concentrações de Ácido indolbutírico (AIB).

O material de propagação utilizado foi procedente das plantas propagadas por estaquia caulinar provenientes de plantas matrizes previamente selecionadas de acordo com características de interesse como boa resistência a pragas e doenças, boa durabilidade das brácteas e resposta aos tratamentos culturais.

Para a estaquia foram utilizados ramos herbáceos coletados no período da manhã. As estacas com aproximadamente 8 cm de comprimento e contendo duas gemas foram cortadas em bisel na base e transversalmente logo acima da gema axilar, conforme realizado por COSTA et al. (2015). As bases das estacas foram tratadas com soluções contendo 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg.L⁻¹ de AIB.

O plantio foi realizado em bandejas plásticas de 54 células, sendo que cada célula com 4,5 cm x 4,5 cm (largura x altura) e volume de 50 ml, sendo a dimensão

total da bandeja de 32 cm x 52 cm (comprimento x largura), contendo como substrato a fibra de coco de granulometria fina tipo 'paper pots' (Lupa substratos, Mogi Mirim, SP). As bandejas foram mantidas em casa de vegetação, em túnel fechado coberto com plástico leitoso por 28 dias, sendo fertirrigadas duas vezes a três vezes por semana. A irrigação foi efetuada utilizando-se sistema de microaspersão.

Utilizou-se para fertirrigação 13 litros do fertilizante concentrado, descrito no capítulo 1, para cada 1000 litros de água, com valores de condutividade elétrica de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$ e pH ajustado em 5,5, de acordo com recomendações técnicas para a cultura. A temperatura foi controlada por sistema de aquecimento e resfriamento, sendo a temperatura mínima de 16° C e máxima de 28° C durante o período de cultivo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em um arranjo fatorial sendo 2 genótipos e 5 concentrações de auxina (AIB) com 3 repetições formadas por 10 estacas cada. Aos 28 dias após o plantio foram avaliadas as características: porcentagem de estacas enraizadas, vivas e não enraizadas, estacas com brotações e comprimento das brotações.

Para a comparação de médias, os dados foram submetidos ao teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ASSISTAT 7.6 beta, licenciado pelo Professor Doutor Francisco de Assis Santos e Silva, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil.

2.2 Experimentos sobre micropropagação de primaveras

Esse experimento foi dividido em duas etapas onde foram testados o (1) tipo e a assepsia dos explantes (ápice caulinar); (2) o meio de cultivo apropriado e aplicação de reguladores vegetais na micropropagação de primaveras. Para esses experimentos utilizou-se o acesso A1 de *Bougainvillea glabra*. A escolha desse acesso se deu pela maior resposta deste a inoculação *in vitro*, observada em experimentos prévios.

2.2.1 Efeitos das concentrações e tempo de exposição ao hipoclorito de sódio no estabelecimento *in vitro* de explantes de primaveras

Para a confecção dos explantes nos dois experimentos de micropropagação, foram coletadas hastes vegetativas jovens com aproximadamente 20 centímetros de comprimento do acesso A1 de *Bougainvillea glabra*, cultivadas em casa de vegetação do tipo telada, localizada no município de Holambra, no estado de São Paulo. Os explantes foram retirados no período de janeiro a agosto de 2016. As coletas ocorreram no período da manhã, entre 6:00 e 7:00h, com temperatura média para esse horário de 23,37°C e umidade relativa do ar (UR) média de 74,52%. Os dados diários de temperatura e UR foram coletados por meio de uma estação meteorológica instalada no interior da casa de vegetação.

Após a coleta das hastes, essas foram umedecidas com borrifador de água e envolvidas em jornal úmido e armazenadas em caixa de isopor para serem transportadas ao Laboratório de Horticultura e Nutrição de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias - UFSCar, onde passaram por uma desinfestação prévia, tendo seu tamanho reduzido com o auxílio de pinça e bisturi esterilizado. Para isso, realizou-se a retirada das folhas maiores e em seguida o material foi lavado em água corrente e acondicionado em béquer com água e detergente comercial (2 gotas/100 ml) (MALDANER et al., 2014; SHAH et al., 2006). Posteriormente em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, as mesmas foram novamente reduzidas de tamanho permanecendo com aproximadamente 2 cm de comprimento para serem utilizadas nos estudos de escolha do explante, assepsia e meio de cultivo.

Em todas as etapas do experimento os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico ASSISTAT, sendo as médias comparadas pelo Teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade.

2.2.1.1 Assepsia dos explantes

Para esta etapa do estudo utilizou-se como a metodologia descrita no item 2.2.1 usando como explantes ápices caulinares do acesso A1 de *Bougainvillea glabra*, coletados de plantas matrizes cultivadas em casa de vegetação no município de Holambra/SP.

Posteriormente em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, as mesmas foram novamente reduzidas de tamanho deixando apenas o ápice com

aproximadamente 1,0 cm, após isso foram imersos em álcool 70% por 30 segundos (SHAH et al., 2006) e submetidos a assepsia com hipoclorito, testando as as concentrações descritas na Tabela 1. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em um arranjo fatorial com 4 (concentrações de hipoclorito) x 2 (tempos de exposição) com 3 repetições cada, totalizando oito tratamentos, no qual cada repetição constituiu-se de três explantes por frasco. Sendo as concentrações de hipoclorito (1) 40 %; (2) 50 %; (3) 60 %; (4) 70 %, e o tempo (1) 15 minutos e (2) 20 minutos. O experimento foi repetido por duas vezes.

Tabela 1. Combinações de concentrações de hipoclorito e tempo de exposição para assepsia de explantes de ápices caulinares de *Bougainvillea glabra* (acesso A1) cultivados em meio WPM com adição de 0,5 mg. L⁻¹ de BAP. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.

Assepsia dos explantes		
Meio de cultivo	Ápices caulinares	
	Concentração de hipoclorito	Tempo (minutos)
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	40%	15
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	40%	20
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	50%	15
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	50%	20
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	60%	15
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	60%	20
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	70%	15
WPM + BAP (0,5 mg. L ⁻¹)	70%	20

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Após a diluição do hipoclorito em água, e imersão dos explantes nos tratamentos, sob agitação, estes foram lavados por três vezes consecutivas em água destilada e autoclavada (SHAH et al., 2006). Os ápices foram reduzidos de tamanho e inoculados em meio WPM (LLOYD; MCCOW, 1980), suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, acrescidos de 6-benziloaminopurina – BAP (0,5 mg.L⁻¹), com pH ajustado em 5,8, solidificado com ágar (6,4 g/l) e autoclavado. O material foi mantido em sala de crescimento, sob temperatura de 25°C, UR de 30 a 60%, fotoperíodo de 14 horas e irradiância de 2500 lux, fornecida por meio de lâmpadas fluorescentes brancas.

Após 30 dias, foram avaliadas a porcentagem de explantes vivos (EV), mortos (EM), a contaminação por fungos e/ou bactérias (EC) e a porcentagem de explantes verdes (EV), formação de calos (FC), calos+folhas (CF), regeneração direta (RD), comprimento de brotações (CB).

2.3 Meios de cultivo para o estabelecimento *in vitro*

Nessa etapa foram estudados os diferentes meios de cultivo para a introdução *in vitro* dos explantes do acesso A1 de *Bougainvillea glabra*, sendo utilizados como tratamentos o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), MS reduzido a 50 % da concentração de macronutrientes, ambos com e sem adição da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) na concentração de 0,5 mg L⁻¹. Também se utilizou o meio WPM (Wood Plant Medium, elaborados Lloyd e McCow, 1980) com e sem adição de BAP (0,5 mg L⁻¹), todos com a adição de 30 g L⁻¹ de sacarose, ajustando-se o pH para 5,8, em seguida solidificado com 6 g.L⁻¹ de ágar. Os meios de cultura foram posteriormente autoclavados, por 20 minutos, a 120°C.

Foram utilizados frascos de vidro transparente com capacidade de 250 mL, cada um com 30 ml de meio de cultura. Uma vez introduzido, de forma similar ao utilizado no experimento 2.1.1, o material foi mantido em sala de crescimento, sob temperatura de 25°C, UR de 30 a 60%, fotoperíodo de 14 horas e irradiância de 2500 lux, fornecida por meio de lâmpadas fluorescentes brancas. A assepsia consistiu de imersão dos ápices caulinares de primavera (1 cm de comprimento) em álcool 70% por 30 segundos, seguido de hipoclorito de sódio 60% por 20 minutos. Os explantes utilizados foram ápices caulinares com aproximadamente 2-3 mm de comprimento, conforme resultados obtidos no item 2.1.1.

O experimento foi instalado no delineamento experimental inteiramente casualizado totalizando seis tratamentos e quatro repetições (frascos), contendo três explantes cada. Após 60 dias de cultivo *in vitro*, foram avaliadas as variáveis altura da parte aérea (ALT), o número de folhas (NF), plantas verdes (PV), vitrificadas (VT), formação de calos (FC), regeneração direta (RD), calos+folhas (CF).

3 Resultados e discussão

3.1 Estaquia caulinar de primaveras *B. glabra* e *B. spectabilis*

Foi possível induzir o enraizamento adventício em ambos acessos de primavera testados.

Em relação à porcentagem de estacas enraizadas foi constatada diferença significativa entre as concentrações de AIB estudadas, sendo que para o acesso A1 de *Bougainvillea glabra*, obteve-se um melhor enraizamento (59,89%) sem adição da auxina, e para o acesso A5 de *Bougainvillea spectabilis*, o melhor enraizamento (80,35%) foi obtido no tratamento das estacas com 1000 mg.L⁻¹ (tabela 4). A aplicação de auxinas exógenas em estacas caulinares provoca efeito estimulador de enraizamento adventício em concentrações delimitadas, a partir do qual, qualquer acréscimo no teor deste regulador tem efeito inibitório. Os resultados obtidos nesse estudo condizem com os encontrados por Costa et al. (2015), que obtiveram diferenças significativas entre as dosagens de AIB (1000 e 2000 mg.L⁻¹) no enraizamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis*, com melhores resultados para porcentagem de estacas vivas e enraizadas obtidos na concentração de 1000 mg.L⁻¹ de AIB.

Estes resultados indicam que a utilização de AIB no tratamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis* favorece o enraizamento destas, o que conforme Paula et al. (2007), possivelmente acarreta em maior capacidade de estabelecimento e sobrevivência das plantas. A utilização de concentrações maiores não apresentaram benefícios para o enraizamento das estacas, ocorrendo a formação de calos, com menor porcentagem de enraizamento. Segundo Rodrigues et al (2017) geralmente há ocorrência formação de calos previamente a formação de raízes em plantas que apresentam dificuldade de enraizamento, como parece ter sido o caso do acesso A1 de *Bougainvillea glabra*.

De acordo com Meneguzzi et al. (2015), as concentrações de auxinas a serem aplicadas são variáveis em função não apenas da espécie, mas também da variedade ou clone da planta matriz e do seu estágio de maturação, além das condições ambientais.

Resultados semelhantes foram observados por Oliveira et al. (2010) em estudo com o uso de AIB em estacas de *B. spectabilis*, onde as estacas lenhosas

tratadas com 2000 mg.L⁻¹ de AIB apresentaram melhores resultados em relação ao enraizamento quando comparadas aos demais tratamentos, sem adição de auxina. Costa et al. (2015), também obtiveram as maiores porcentagens de enraizamento em estacas de *Bougainvillea spectabilis* tratadas com AIB nas doses 1000 e 2000 mg.L⁻¹, comparadas com estacas sem adição da auxina.

Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações de Ácido Indolbutírico (AIB) na porcentagem de estacas enraizadas (EE), número de brotações (BR), e altura das brotações (ALT) de *Bougainvillea glabra* e *Bougainvillea spectabilis*. CCA/UFSCAR, Araras –SP, 2017.

Acessos	BR	EE	ALT
<i>Bougainvillea glabra</i> (A1)	Ver Tabela 3	Ver Tabela 4	2,82 b
<i>Bougainvillea spectabilis</i> (A5)			5,47 a
Concentrações de AIB			
0 mg.L ⁻¹			5,30 a
1000 mg.L ⁻¹	Ver Tabela 3	Ver Tabela 4	5,00 a
2000 mg.L ⁻¹			4,04 ab
3000 mg.L ⁻¹			3,42 ab
4000 mg.L ⁻¹			2,96 b
F Fator 1	5,71 *	49,24 **	44,71 **
F Fator 2	4,05 *	9,80 **	5,08 **
Interação F1 x F2	3,42 *	10,60 **	1,96 ns
Tratamento	3,96 **	14,54 **	8,10 **
CV %	24,38	12,54	26,14

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Tabela 3. Médias de interação para número de brotações em estacas de *Bougainvillea glabra* e *Bougainvillea spectabilis* tratadas com diferentes doses de AIB.

Genótipo	Concentrações de AIB				
	0 mg.L ⁻¹	1000 mg.L ⁻¹	2000 mg.L ⁻¹	3000 mg.L ⁻¹	4000 mg.L ⁻¹
<i>B. glabra</i>	0,80 aA	0,63 aAB	0,46 bAB	0,60 aAB	0,30 aB
<i>B. spectabilis</i>	0,56 aA	0,86 aA	0,83 aA	0,66 aA	0,53 aA

Letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Tabela 4. Médias de interação para porcentagem de estacas enraizadas de *Bougainvillea glabra* e *Bougainvillea spectabilis* tratadas com diferentes doses de AIB.

Genótipo	Concentrações de AIB				
	0 mg.L ⁻¹	1000 mg.L ⁻¹	2000 mg.L ⁻¹	3000 mg.L ⁻¹	4000 mg.L ⁻¹
<i>B. glabra</i>	59,89 aA	45,58 bAB	45,58 bAB	39,74 bBC	29,46 bC
<i>B. spectabilis</i>	47,50 bC	80,35 aA	66,95 aAB	58,41 aBC	51,35 aBC

Letras minúsculas iguais na coluna e maiúsculas iguais na linha não diferem estatisticamente entre si.
Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Em relação ao número médio de brotações, houve diferença significativa para as diferentes concentrações de AIB nas estacas do acesso A1 (*Bougainvillea glabra*), sendo o maior número de brotações com ausência da auxina (0,80). Já para o acesso A5 (*Bougainvillea spectabilis*), não houve diferença significativa para essa variável (Tabela 3).

Salla et al. (2013) relataram maior número de formação de brotos em estacas de *Bougainvillea spectabilis* tratadas com AIB, obtendo quase o dobro de brotações, quando comparado a não aplicação do regulador. Numericamente, também foi observado em nosso experimento (acesso A5) uma diferença na emissão de brotações/planta com o uso do AIB a 1000 mg.L⁻¹ (0,86) em relação ao controle (0,56), porém sem diferença estatística entre as médias.

Para a variável altura de brotações houve diferença significativa entre as concentrações do fitorregulador, sendo que a altura de brotações reduz de acordo com o aumento das concentrações de AIB aplicadas. Também, para a espécie *B. spectabilis*, o comprimento das brotações foi maior que *B. glabra* (Tabela 2). Esses processos tem uma correlação direta com a porcentagem de enraizamento das estacas, pois quanto maior a porcentagem de estacas enraizadas, maior o número de brotações e também, por consequência, a altura média das brotações.

Testes pré-realizados com ácido naftalenoacético (ANA) descartaram as hipóteses de utilização dessa auxina nesse estudo, em conformidade com estudos realizados por Moura, Salla e Lima (2015), que demonstraram baixas porcentagens de enraizamento de estacas de primaveras (*Bougainvillea spectabilis*) submetidas a diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA), não indicando o uso dessa auxina para o enraizamento dessa cultura. Entretanto, esses resultados podem ser atribuídos à espécie em questão, uma vez que Carvalho *et al.* (2002), obtiveram altos índices de enraizamento com a espécie azaleia (*Rhododendron*

simsii) em todos os tratamentos com ANA, sendo os melhores resultados obtidos com as concentrações de 2.500 e 5.000 mg.L⁻¹.

Comparando-se os resultados encontrados no estudo de Silva *et al.* (2004) com os resultados encontrados neste estudo, verifica-se que também há um incremento do enraizamento nas estacas de *B. spectabilis* que foram tratadas com AIB.



Figura 1. Confeção das estacas de *Bougainvillea spectabilis* e plantio em 'paper pots' em casa de vegetação no município de Holambra, São Paulo.
Fonte: Arquivo pessoal (2017).



Figura 2. Estacas enraizadas do acesso A5 de *Bougainvillea spectabilis* após 28 dias do plantio.
Fonte: Arquivo pessoal (2017).

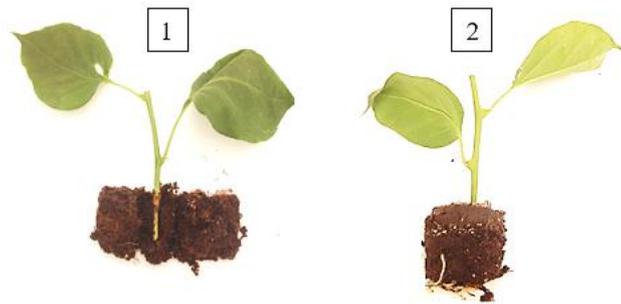


Figura 3. Estacas do acesso A5 de *Bougainvillea spectabilis* (1) Estacas vivas e não enraizadas; (2) Estacas vivas enraizadas.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3.2 Micropropagação de primavera

3.2.1 Assepsia no estabelecimento *in vitro* de primaveras

No início dos experimentos com o cultivo *in vitro* de primaveras, foram observados por meio de testes realizados pela autora, altos índices de contaminação de explantes de primaveras provenientes de segmentos nodais e internodais, que poderiam servir como explantes iniciais no estabelecimento *in vitro* da espécie. Associado a isso, foi possível estabelecer com sucesso explantes provenientes de ápices caulinares. Por esse motivo, a utilização de segmentos nodais e internodais como explantes foram descartados para os experimentos realizados.

Mesmo tendo sido realizado uma pré-desinfestação seguida de assepsia em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, que chegaram a até 70% de hipoclorito de sódio por 20 minutos, esses tratamentos não foram suficientes e efetivos para o controle da contaminação dos explantes de segmentos nodais e internodais. Utilizando os mesmos tratamentos, porém utilizando ápices caulinares com 2-3 mm de comprimento como explantes para inoculação, foi possível reduzir o número de explantes contaminados, permitindo portanto o estabelecimento *in vitro* da cultura.

De acordo com Sexto (2005), entre os inúmeros fatores que afetam a obtenção de plantas micropropagadas destaca-se a contaminação do material vindo do campo ou de ambientes protegidos, sendo que em condições de campo estes fatores se tornam mais críticos. Sexto (2005) ressalta que a condição fitossanitária da planta doadora influencia no processo de desinfestação, sendo que gemas

apicais e axilares do caule, que constituíram os explantes utilizados nesse estudo, podem abrigar uma grande variedade de microflora endógena - fungos e bactérias que persistem mesmo após a desinfestação dos materiais em laboratório.

A definição da assepsia dos explantes de ápices caulinares foi fator fundamental para o estabelecimento *in vitro* da cultura (Tabela 5 e Figura 4). De acordo com a análise de variância, pode-se observar que houve diferença significativa entre as concentrações de hipoclorito de sódio para a variável porcentagem de contaminação, que variaram de 0 a 55,6% utilizando ápices caulinares de primavera (*Bougainvillea glabra*).

O aumento do período de exposição de 15 para 20 minutos ao hipoclorito de sódio a 60% de concentração reduziu de 22,2% para 0% a contaminação. Portanto, a concentração de 60% de hipoclorito de sódio a 20 minutos de exposição proporcionou a eliminação de agentes contaminantes (0%), tornando viável a assepsia do material, sem mortalidade do tecido vegetal.

Embora a imersão dos explantes em hipoclorito de sódio (70%) por 15 e 20 minutos tenham também proporcionado as menores taxas de contaminação, essa concentração danificou os tecidos, provocando necrose, resultando na inibição do desenvolvimento e morte dos explantes sem a regeneração esperada.

Resultados semelhantes foram obtidos por Fermino et al. (2009), que ao aumentar o período de exposição e a concentração de hipoclorito de sódio, observou menor contaminação dos explantes de *Tectona grandis* L, porém em concentrações acima de 70% de hipoclorito de sódio, os explantes não sobreviveram, assim como no trabalho realizado por Diniz et al. (2008), que do mesmo modo relataram maiores taxas de mortalidade dos explantes de lírio-da-paz (*Spathiphyllum wallisi*) ao aumentar a concentração de hipoclorito de sódio. As contaminações ocorrentes nesse estudo foram causadas quase que exclusivamente (em mais de 70% dos casos) por bactérias de coloração branca (Figura 4-1; Figura 4-2). As contaminações fúngicas (Figuras 4-3 e 4-4) foram ocasionadas apenas por manipulação inadequada em condições de fluxo laminar, sendo causadas basicamente por contaminação acidental.

A partir dos resultados obtidos nesse experimento, definiu-se para a próxima etapa do trabalho a utilização apenas de ápices caulinares como explantes, sendo que a assepsia adotada foi a de imersão em álcool 70% por 30 segundos, seguido de hipoclorito de sódio 60% por 20 minutos, pois essa permitiu a obtenção de

explantes livres de contaminação com regeneração e emissão de novas folhas nos explantes obtidos de ápices caulinares cultivados *in vitro*.



Figura 4. Coleta de ápices de plantas do acesso A1 de *Bougainvillea glabra* presentes no matrizeiro, no município de Holambra, SP.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

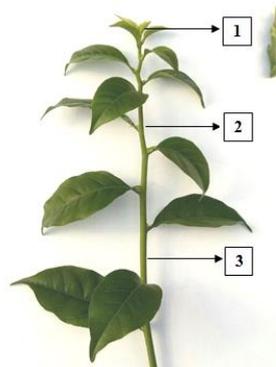


Figura 5. Fonte de explantes e tipo de explantes de *Bougainvillea glabra* utilizados no experimento de micropropagação, sendo (1) ápice caulinar, (2) segmento nodal e (3) segmento internodal.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).



Figura 6. Etapas para introdução dos explantes do acesso A1 de *Bougainvillea glabra*.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

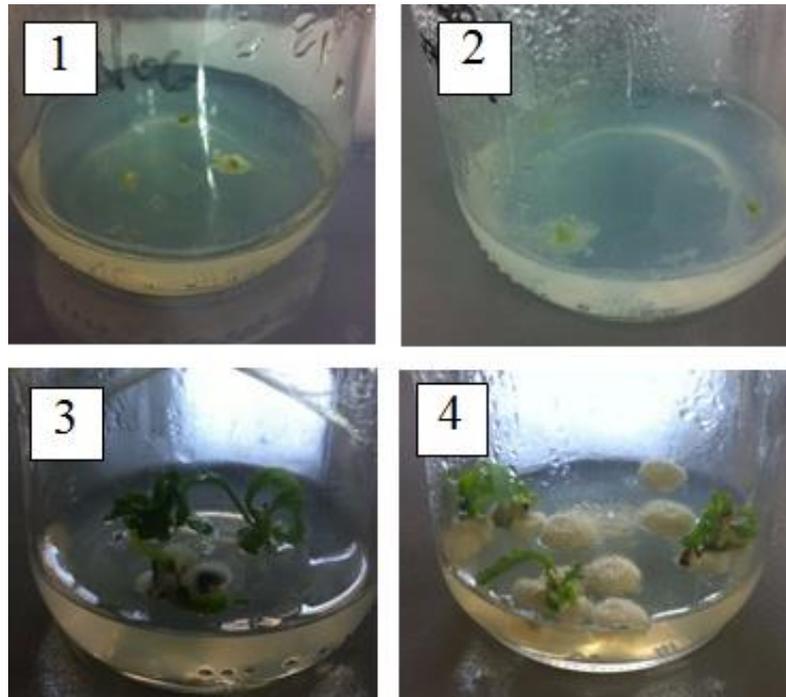


Figura 7. Contaminações nos explantes do acesso A1 de *Bougainvillea glabra* (1) e (2) Contaminações por bactérias provenientes dos explantes; (3) e (4) Contaminações fúngicas ocasionadas por manipulação inadequada.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

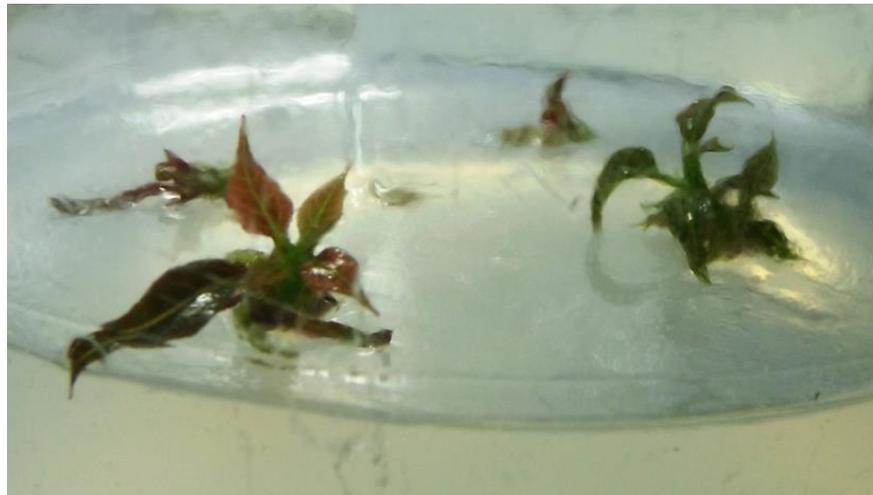


Figura 8. Regeneração de ápices caulinares de primavera submetidas a assepsia com hipoclorito de sódio a 60% durante 20 minutos.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Tabela 5. Ápices caulinares do acesso A1 de *Bougainvillea glabra* submetidos a diferentes concentrações de hipoclorito de sódio em 15 e 20 minutos de exposição. CCA/ UFSCAR, Araras – SP, 2017.

Tratamentos	Explantos Contaminados (%)	Formação de calos (%)	Calos + folhas (%)	Regeneração Direta (%)	Número de folhas	Comprimento das brotações (cm)
40% 15 min	44,40 a	66,70 b	66,70 b	33,30 a	2,60 b	0,40 b
40% 20 min	55,60 a	55,60 c	44,40 c	44,40 a	2,20 b	0,77 a
50% 15 min	33,30 a	66,70 b	44,40 c	33,30 a	2,30 b	0,65 a
50% 20 min	11,10 b	100,00 a	88,90 a	0,00 b	2,30 b	0,94 a
60% 15 min	22,20 b	100,00 a	100,00 a	0,00 b	4,00 a	0,94 a
60% 20 min	0,00 b	100,00 a	100,00 a	0,00 b	3,80 a	0,83 a
70% 15 min	0,00 b	0,00 d	0,00 d	0,00 b	0,00 c	0 b
70% 20 min	0,00 b	0,00 d	0,00 d	0,00 b	0,00 c	0 b
F	3,07 14*	28,2207**	35,8481**	6,1429**	30,7739**	3,3764*
CV %	98,55	23,79	20,67	91,40	14,74	23,49

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

3.2.2 Efeitos de diferentes meios de cultivo no estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares de *Bougainvillea glabra*

Foi possível o estabelecimento de ápices caulinares de primaveras *in vitro*, com uma porcentagem de contaminação que variou de 8 a 33%. É importante ressaltar que embora no experimento anterior tenham sido relatado 100% de explantes livres de contaminação, outros fatores como idade dos explantes e época do ano podem influenciar nas taxas de contaminação de explantes inoculados *in vitro*.

O meio de cultura é outro fator preponderante para o sucesso no estabelecimento *in vitro* de espécies vegetais visando trabalhos de propagação. O meio MS é o meio de cultura mais utilizado na micropropagação de plantas, incluindo no cultivo *in vitro* de primaveras atendendo as exigências nutricionais para uma grande quantidade de espécies vegetais. No entanto, em espécies lenhosas, o meio MS pode apresentar algumas dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, sendo o meio WPM uma alternativa de meio de cultura na micropropagação dessas espécies. MOSLEH et al (2014), ao estudar a resposta de três genótipos de *Bougainvillea* (*B. buttiana*, *B. spectabilis* e *B. glabra*) submetidos a diferentes meios de cultivo (MS e WPM), obteve os melhores resultados em explantes cultivados em meio WPM.

No experimento atual, observou-se que para as variáveis número de folhas e número de brotações, os melhores resultados obtidos também foram obtidos utilizando o tratamento com meio WPM com e sem suplementação da citocinina 6-Benzilaminopurina (BAP) a 0,5 mg L⁻¹. A utilização desse meio de cultura mostrou melhores resultados quando comparados aos meios MS e ½ MS com e sem adição do BAP. Resultados semelhantes foram obtidos por Javed et al. (1996), que não obtiveram diferença significativa para número de brotos em explantes de *Bougainvillea spectabilis* cultivadas em diferentes meios acrescidos de três concentrações de BAP (0,25, 0,5 e 1 mg.L⁻¹). Contudo, melhores resultados foram conferidos pela introdução de ápices caulinares em meio de cultivo WPM, demonstrando ser o meio de cultivo mais apropriado para estudos *in vitro* de primaveras (MOSLEH et al. 2014; Tabela 6).

Pode-se observar que explantes cultivados em meio MS apresentaram brotações pouco desenvolvidas, enquanto no meio WPM, tanto para comprimento

das brotações, quanto para número de folhas apresentaram melhores resultados. Estes resultados corroboram com os obtidos por Mosleh et al. (2014), que obteve maior porcentagem de organogênese (85,71%) em *B. glabra* cultivada em meio WPM, comparada a 64,2% de organogênese para o mesmo genótipo cultivado em meio MS.

Também foi observado nesse experimento, que a utilização do meio WPM e WPM+BAP aumentou significativamente a porcentagem de explantes com regeneração direta, sem a prévia formação de calos. Isso é extremamente interessante do ponto de vista da propagação clonal, pois a regeneração indireta, pela formação prévia de calos pode resultar em mutações não desejáveis na micropropagação de espécies comerciais, como é o caso da primavera. Um ponto observado é que a utilização do meio ½ MS também proporcionou um salto considerável no aumento de explantes com regeneração direta. Isso demonstra que possivelmente as concentrações altas de nutrientes contidas no meio MS são exageradas para as espécies de *Bougainvillea*, causando a formação de calos na base dos explantes, sendo essa uma resposta ao estresse pelo excesso de nutrientes e alta salinidade do meio de cultura. Tanto a utilização do meio ½ MS quanto do meio WPM, meios de cultura com quantidades reduzidas de nutrientes e sais, em especial sais ricos em nitrogênio, resultaram em aumento da regeneração direta dos explantes de primaveras.

Nesse sentido, é também importante salientar que a regeneração direta permite a obtenção de brotações mais rapidamente que os sistemas de regeneração indireta com prévia formação de calos.

Tabela 6. Porcentagem de explantes contaminados (CNT), explantes verdes (EV) formação de calos (FC), calos + folhas (CF), regeneração direta (RD), número de folhas (NF), comprimento das brotações (cm) (CB) e número de brotações (NB) em função de diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.

Meio de cultivo	CNT %	EV %	FC %	CF %	RD	NF	CB (cm)	NB
MS	25,00 a	50,00 a	8,33 a	8,33 a	1,00 c	1,49 b	0,31 c	1,25 b
MS +BAP	8,30 a	74,55 a	24,99 a	25,99 a	16,66 c	2,83 b	0,95 b	1,50 b
MS 1/2	33,30 a	50,00 a	8,33 a	8,33 a	16,66 c	2,49 b	0,47 c	0,50 b
MS 1/2 + BAP	8,30 a	74,55 a	16,66 a	16,50 a	41,66 b	3,08 b	0,80 b	1,25 b
WPM	25,00 a	50,00 a	24,99 a	16,50 a	57,83 b	3,74 a	1,00 b	2,75 a
WPM + BAP	33,30 a	74,55a	33,33 a	41,25 a	82,33 a	4,79 a	1,58 a	3,25 a
F	0,4381 ns	0,2571 ns	0,825 ns	1,1259 ns	9,7645**	5,9606 **	18,825**	5,9538**
CV %	146,68	85,02	108,7	115,37	53,23	29,86	11,08	30,90

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Os meios MS, ½MS e WPM, com e sem adição de BAP, não diferiram significativamente quanto à porcentagem de contaminação (CNT), explantes verdes (EV) e formação de calos (FM).

Para a variável número de brotações (NB), observou-se maior média nos meios cultivados em meio WPM, o que demonstra que este meio de cultivo foi o diferencial para obtenção de melhores resultados para o estabelecimento *in vitro* de *B. glabra*. Os explantes cultivados em meio WPM com BAP apresentaram a maior média para essa variável (3,25), sendo a combinação que proporcionou o maior estímulo ao número de brotações formadas. O mesmo resultado foi alcançado por Villa et al. (2006), no cultivo *in vitro* de amoreira preta, o qual conferiu melhores resultados para formação de brotos com o meio de cultura WPM suplementado com BAP, quando comparado ao mesmo meio sem adição da citocinina.

Para comprimento de brotações (CB), o meio WPM suplementado com BAP, mostrou-se mais eficiente com a maior média entre os tratamentos (1,58 cm). Villa et al. (2005b) citam que no cultivo *in vitro* de amoreira preta o maior comprimento de brotos (2,83 cm) também foi observado em meio WPM suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de BAP.

Também o número de folhas (NF) foi elevado pelo cultivo em meio WPM, sendo que o maior número de folhas (4,79) foi observado em WPM com adição de BAP. De forma semelhante Villa et al. (2005b), verificaram maior número de folhas no cultivo *in vitro* de amoreira preta da cultivar Ébano em meios de cultivo acrescidos de BAP. O mesmo resultado foi constatado por Leitzke, Damiani e Schuch (2009) tendo um número maior de folhas para meios suplementados com BAP, no cultivo *in vitro* de amora cv. Xavante, comprovando que esse regulador vegetal incorporado ao meio de cultura tem efeito sobre a maior produção de folhas no cultivo *in vitro*.

Observaram-se maiores taxas de regeneração direta (RD) com a adição da citocinina BAP, sendo que a maior porcentagem (82,33%) foi observada no meio WPM com BAP.

Por apresentar bons desempenhos em relação a todos os caracteres avaliados a combinação de WPM com adição de BAP (0,5 mg.L⁻¹) foi considerada a melhor dentre as avaliadas, para indução *in vitro* de brotações do acesso A1 de *Bougainvillea glabra*.

É importante ressaltar que em todos os meios testados pode ser observada a formação de calos de coloração bege ou esverdeada e de consistência rígida. Calos de coloração esbranquiçada foram encontrados somente nos meios acrescidos de BAP.

Apesar do meio WPM acrescido de BAP demonstrar os melhores resultados nessa etapa do estudo, os explantes repicados para outras fases em condições *in vitro*, como multiplicação e enraizamento não se desenvolveram adequadamente, sendo os principais problemas verificados a ocorrência da formação de calos na base dos explantes, não multiplicação das brotações inoculadas e a senescência das plantas cultivadas *in vitro*, sintomas esses muito similares aqueles causados pela ação do hormônio Etileno.

De acordo com Candido (2013) a senescência foliar caracterizada pela perda de proteínas e clorofila é de certa forma um fenômeno complexo do ponto de vista fisiológico, bioquímico e genético-molecular (genes e promotores envolvidos), sendo um fator limitante no cultivo *in vitro* de muitas espécies vegetais. Fatores ambientais como nutrição das plantas, horas de luz, estresse térmico ou hídrico, podem estimular a ocorrência da senescência, dificultando ou impedindo a ação dos fatores que preservam a planta. O uso de citocininas com o objetivo de retardar ou impedir a senescência foliar pode aumentar a tolerância ao estresse (LIM; KIM, H.; NAM, 2007), agindo de maneira antagônica a liberação de etileno. No entanto, no experimento realizado com o cultivo *in vitro* de primaveras, mesmo a adição do BAP no meio de cultura não impediu o surgimento desses sintomas. A adição de doses mais elevadas também ocasionou o excesso de formação de calos, o que pode representar outro sintoma de estresse causado pela interação entre diferentes hormônios vegetais internos a planta.

São escassos os estudos referentes ao processo de senescência foliar, principalmente no que diz respeito a espécies lenhosas e semi-lenhosas. Também não foram encontrados registros na literatura a respeito da influência de fitorreguladores na senescência em primaveras cultivadas *in vitro*, justificando assim a necessidade de estudos relacionados à senescência foliar nesta espécie, sendo este um dos fatores de maior limitação para a micropropagação dessa espécie, e que provavelmente esteja correlacionado também a alta porcentagem de explantes com formação de calos na base e baixa taxa de multiplicação.



Figura 9. Aspecto da multiplicação *in vitro* de primavera (*Bougainvillea glabra*) após sucessivos subcultivos em meio nutritivo com WPM, acrescido de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e posterior troca para MS $\frac{1}{2}$. CCA/UFSCAR, Araras - SP, 2017.
Fonte: Arquivo pessoal (2017).

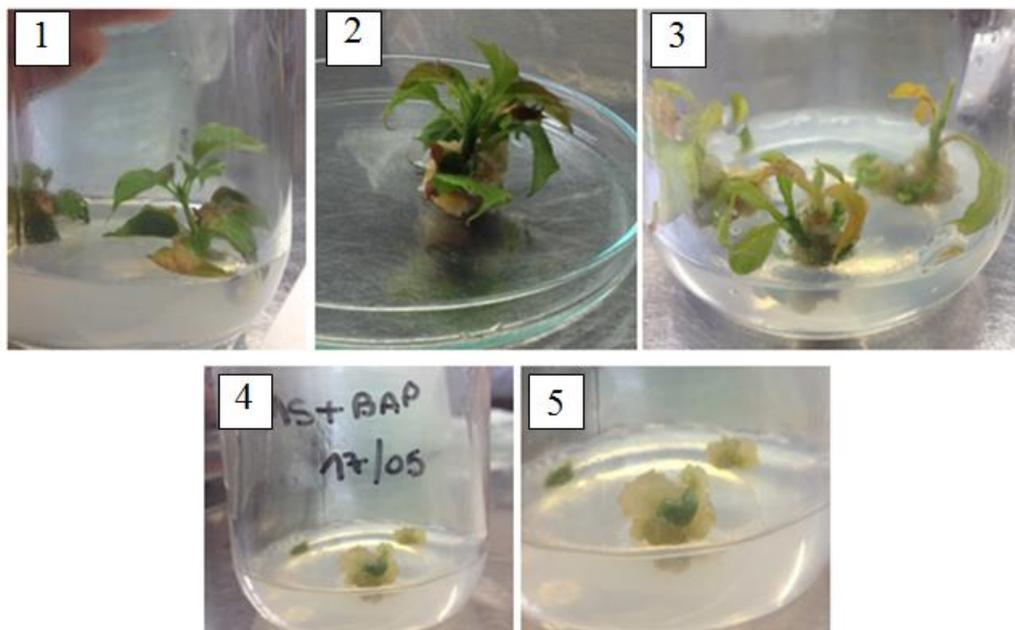


Figura 10. (1) Regeneração direta; (2) e (3) calos+folhas; (4) e (5) formação de calos. CCA/UFSCAR, Araras – SP, 2017.
Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Experimentos realizados com a adição de substâncias inibidoras da ação do etileno, como a adição de carvão ativado, nitrato de prata, ácido cítrico e polivinilpirrolidona (PVP) ao meio de cultura, também não resultaram em solução para os sintomas observados *in vitro*.

4 Conclusões

Para experimentos realizados com a técnica de estaquia caulinar, os resultados mostram que esse é um método viável para obtenção de mudas de primaveras em quantidade e padrão desejáveis a produção comercial, porém as porcentagens de enraizamento de estacas ainda podem ser melhoradas como forma de aumentar a eficiência do processo. Para a obtenção de mudas de *Bougainvillea glabra* foi observado que não há necessidade de adição de AIB na base das estacas, contudo para produção de mudas de *Bougainvillea spectabilis* melhores resultados foram obtidos com a adição de AIB a 1000 mg.L^{-1} , no qual pode-se verificar um aumento do enraizamento das estacas.

Para os estudos em cultivo *in vitro* de *Bougainvillea glabra*, os resultados obtidos indicam a viabilidade da técnica com assepsia obtida pela desinfestação dos explantes em solução de hipoclorito de sódio a 60% por 20 minutos, sendo o meio WPM acrescido de $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ de BAP, o meio com o qual se obteve melhores resultados para o desenvolvimento dos explantes em condições *in vitro*, portando recomendado para essa etapa de cultivo. A partir desses resultados, pode-se utilizar a mesma metodologia para se estudar o desenvolvimento e propagação *in vitro* de *Bougainvillea glabra*, uma vez que o sucesso da técnica de micropropagação tem como ponto de partida a recomendação de um protocolo eficiente de assepsia e estabelecimento *in vitro*. Cabe ressaltar que há necessidade de estudos em relação a multiplicação, enraizamento e aclimatização, principalmente na fase de aclimação, pois trata-se de uma etapa de alto nível de estresse causado pela diferença entre o ambiente *in vitro* e *ex vitro*, ocorrendo em muitas espécies um alto índice de mortalidade de explantes.

5 Literatura citada

- BIZARI, R. D.; GRECCO, L. K.; SOUZA, F. C. Bulbo molhado estimado pela técnica da TDR na irrigação por gotejamento subsuperficial. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 10, n. 2, p. 477-485, 2016.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 87-132.
- CAMPOS, A. D. et al. **Enraizamento de estacas de mirtilo provenientes de ramos lenhosos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Comunicado técnico, 133).
- COSTA, M. E. et al. Enraizamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis* Willd. com o uso de ácido indolbutírico. **Acta Agronômica**, v. 64, n. 3, p. 221-226, 2015.
- COSTA, A. S. et al. Estabelecimento de alecrim-pimenta *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 68-72, 2007.
- COSTA, M. G.; NEPOMUCEMO, F. C.; SANTANA, F. R. J. Propagação *in vitro* de *Erythrina velutin*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, 2010.
- DINIZ, J. D. N. et al. Protocolo para desinfestação, multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Spathiphyllum wallisi*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 01, p. 107-113, jan./mar. 2008.
- DINIZ, J. D. N. et al. Multiplicação e enraizamento *in vitro* do guaco. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 1, p. 59-64, 2006.
- ERIG, C. A.; ROSSI, D. A.; FORTES, L. R. G. 6-Benzilaminopurina e ácido indolbutírico na multiplicação *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus idaeus* L.), cv. Tupy. **Ciência Rural**, v. 32, n. 5, 2002.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005.
- FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. (Embrapa Florestas, Documentos n. 94).
- FERMINO, P. C. P. J.; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 427-435, dez. 2009.
- GRATTAPLAGIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v.1.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 7th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 2002.

PIVETTA, L. F. K. et al. Efeito do armazenamento de estacas no enraizamento de roseiras para corte nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 25-30, 2003.

MOUSAVI, M. *Improve Bougainvillea shoot growth in vitro a modified temporary immersion system (TIS)*. **International Journal of Review in Life Sciences**, v. 5, n. 11, p. 325-330, 2015.

JAVED, A. M.; HASSAN, S.; NAZIR, S. *In vitro propagation of Bougainvillea spectabilis through shoot apex cultura*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 28, n. 2, p. 207-211, 1996.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. *Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel Kalmia latifolia by use of shoot-tip culture*. **International Plant Propagation Society Proceedings**, USA, v. 30, p. 421-427, 1980.

LEITZKE, N. L.; DAMIANI, R. C.; SCHUCH, W. M. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amoreira-preta e framboesa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 582-587, jun. 2009.

LIM, P. O.; KIM, H. J.; NAM, H. G. *Leaf senescence*. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p.115-136, 2007.

LIMA, D. M. et al. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indolbutírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LONE, B. A. et al. Enraizamento de estacas de azaleia (*Rhododendron simsii* Planch.) no outono em AIB e diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1720-1725, ago. 2010.

MANTOVANI, C. N.; FRANCO, H. T. E.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, v. 11, n. 2, 2001.

MANTOVANI, C. N. et al. Micropropagação de caixeta (*Didymopanax morotoni* (Aubl.) Dene. et Planch). **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, 1999.

MENEGUZZI, A. et al. Ácido indolacético influencia no enraizamento de estacas de *Pittosporum tobira*. **4 Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 14, n. 1, p. 24-28, 2015.

MOSLEH, M. S.; DUHOK, S.; LAYLA, S. *In vitro* micropropagation of selected *Bougainvillea* sp. through callus induction. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 6, n. 6, p. 01-06, 2014.

MOURA, A. P. C.; SALLA, V. P.; LIMA, D. M. Enraizamento de estacas de *Bougainvillea* com concentrações de ácido naftalenoacético. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 16, n. 2, p. 57-61, mar./abr. 2015.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NASCIMENTO, C. A. et al. BAP e AIB no cultivo *in vitro* de *Eugenia pyriformis* Cambess. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 223-228, abr./jun. 2008.

PAULA, L. A.; BOLIANI, A. C.; CORRÊA, L. S.; E CELOTO, M. I. Efeito do ácido indolbutírico e raizon no enraizamento de estacas herbáceas e lenhosas de umbuzeiro. **Acta Scientiarum. Agronomy** 29(3): 411 – 414, 2007.

SARZI, I.; PIVETTA, K. F. L. Efeito das estações do ano e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de miniroseira (*Rosa* spp.). **Científica**, Jaboticabal, v. 332, n. 1, p. 62-68, 2005.

SCUTTI, M. B. Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* berg.) *in vitro* e por estaquia. **Scientia Agraria**, v.1, n. 1-2, p. 75-82, 2000.

SEXTO, P. A. S. **Cultivo *in vitro* e estaquia de *Ginkgo biloba* L.** 2005. 215f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS.

SHAH, T. S. et al. Mass propagation of *Bougainvillea spectabilis* through shoot tip culture. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 953-959, 2006.

SOARES, P. F. et al. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1048-1053, jul./ago., 2007.

VILLA, F. et al. *In vitro* multiplication of blackberry CV. Brazos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 582-589, 2005a.

VILLA, F. et al. Mutliplicação *in vitro* da amoreira preta 'ébano em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 582-589, mai./jun., 2005b.

WEI, G.; XIONG, Q.; WANG, J. Callus Induction and Plant Regeneration from Stem Segment of *Bougainvillea glabra* Choisy. *Acta Horticulturae Sinica*, CNKI, Sichuan Provincial, Ya'an, China, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em função dos resultados obtidos nesse estudo pode-se concluir que, foi fundamental para o estabelecimento de protocolos iniciais para propagação vegetativa de primaveras, podendo ser observados o comportamento *in vitro* e estaquia caulinar. Além de fomentar pesquisas sobre a espécie que apesar de muito difundida no mundo, ainda são poucos os relatos científicos encontrados referentes à sua propagação.

O cultivo *in vitro* de primaveras poderá vir a ser uma estratégia para superar as barreiras naturais da produção de mudas, permitindo a obtenção de materiais com qualidade fitossanitária. No entanto, os protocolos de desinfestação e meio de cultivo estabelecidos, ainda não permitem a produção de mudas *in vitro*, havendo necessidade de mais pesquisas sobre o desenvolvimento de explantes.

A técnica de propagação *in vitro* pode apresentar algumas desvantagens quando comparadas a técnica de propagação por estaquia como custo de instalação de laboratório, necessidade de mão-de-obra qualificada e maior tempo para o estabelecimento da cultura. Portanto a propagação *in vitro* para o cultivo em grandes quantidades ainda não se justifica técnica e economicamente, sendo a propagação pelo método de estaquia, mais viável para este fim.

Partindo dos resultados obtidos no estudo propagação por meio de estaquia caulinar, pode se dizer que é uma técnica viável a obtenção de mudas de *Bougainvillea spectabilis*, podendo ser utilizado em adição de AIB para melhor viabilizar o sistema de cultivo.