SECRETARIA
DE
PÓS GRADUAÇÃO

SIMONE MONTEDIOCA

BROTAÇÃO DE GEMAS EPÍFILAS EM *Bryophyllum calycinum* Salisb.

Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida pela candidata Simone Montedioca e aprovada pela Comissão Julgadora.
18/02/92

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas na área de Biologia Vegetal.

ORIENTADOR: Prof. Dr. I F M VÁLIO

CAMPINAS

1992

M765b
16160/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

"Os barcos estão mais seguros quando estão no porto; não foi para isso que foram construídos os barcos."

P. Coelho

À minha família

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ivany Ferraz Marques Válio, pela amizade e por ter me dado o previlégio de sua orientação científica neste trabalho.

À CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo auxílio financeiro.

À Profa. Dra. Rosely Rocha Sharif, pela orientação de programa durante o primeiro ano de curso.

Ao Prof. Dr. Ladaslav SodeK, à Profa. Dra. Maria de Fátima D. A. Pereira e à Profa. Dra. Simone L. K. Shepherd, membros da pré-banca, pela revisão e sugestões.

Aos amigos e colegas do Departamento de Fisiologia Vegetal, pela convivência e apoio, e com os quais aprendi o valor da amizade.

Aos professores e funcionários de Departamento de Fisiologia Vegetal.

Aos amigos, que seguem ao meu lado em todos os momentos, me apoiando e me incentivando.

Aos meus pais, Luiz e Anna e à minha irmã Silvana, pelo apoio e oportunidades concedidas, e pelo carinho que me deram durante todos esses anos.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO 1

II. MATERIAL E MÉTODOS 8

1. Material Vegetal 8

2. Método Geral de Brotação 8

2.1. Condições Controladas 8

2.2. Avaliação da Brotação 9

2.3. índice de Brotação 9

3. Influência do Caule sobre a Brotação 10

4. Relação entre o Par de Folha e a Brotação 13

5. Remoção das Gemas Laterais do Caule 13

6. Anelamento do Caule 15

7. Tratamentos com Reguladores de Crescimento 15

7.1. Aplicação em Discos Foliares 15

7.2. Aplicação em Estacas 18

8. Análise Estatística 18

III. RESULTADOS 19

1. Influência do Caule sobre a Brotação 19

2. Influência do Par de Folhas sobre a Brotação 22

3. Efeito da Remoção das Gemas Laterais do Caule 24

4. Anelamento do Caule 24

5. Regulador de Crescimento 24

5.1. Efeito sobre Discos Foliares 24

5.2. Efeito sobre Estacas 31

IV. DISCUSSÃO 33

V. RESUMO 39

VI. BIBLIOGRAFIA 40

I. INTRODUÇÃO

É comum na família Crassulaceae a presença, em suas folhas, de regiões com células meristemáticas capazes de se desenvolverem formando uma nova planta, por reprodução vegetativa. Denomina-se gema epífila a cada um desses grupos de células. Em cada folha existem várias gemas epífilas que, dependendo de certos fatores, se desenvolvem ou permanecem no estado dormente.

A família Crassulaceae se caracteriza por apresentar espécies com folhas suculentas, podendo resistir a prolongados períodos de seca, vegetando inclusive sobre pedras.

Nesta família estão incluídas cerca de 1300 espécies disseminadas por todo o globo terrestre, especialmente nas regiões temperadas e quentes (MINA et al., 1983). Dentre os gêneros mais estudados estão: Kalanchoe, Bryophyllum, Sedum, Echeverie e Crassula.

Esta família também se caracteriza por apresentar um sistema metabólico bastante estudado, conhecido como CAM (Metabolismo Ácido das Crasssuláceas), que se caracteriza por manter um balanço positivo de carbono nos tecidos e ao mesmo tempo desenvolverem um eficiente mecanismo de economia de água (MAGALHÃES, 1985).

Este trabalho foi direcionado para o estudo da reprodução vegetativa a qual é bastante característica nesta família. A espécie estudada foi Bryophyllum calycinum Salisb., herbácea perene que alcança até 1,5m de altura. Suas folhas suculentas são simples na porção inferior do eixo caulinar e trifolioladas na porção superior, a borda é crenada, apresentando em cada reentrância, uma gema epífila.

A origem da espécie B. calycinum é incerta, sendo que alguns autores acreditam ser procedente do continente africano. No entanto, encontra-se aclimatada espontaneamente nas regiões tropicais, sendo comum em todo o Brasil (PIO CORRÊA, 1931 ; BAILEY, 1942 , 1960 apud MINA et al., 1983).

Vários estudos indicam que B. calycinum possui propriedades terapêuticas como: cicatrizante, anti-inflamatória e diurética (PIO CORRÊA, 1931 ; BAILEY, 1942, 1960 apud MINA et al., 1983 ; GUIA RURAL, 1991). Além disso, é usada como planta ornamental.

Bryophyllum calycinum Salisb. tem como sinonímia científica as denominações: Kalanchoe pinnata Pers., Bryophyllum pinnatum (Lam.) Skurz., Cotyledon pinnata (Lam.) Pers., e sinônimos vulgares: Folha-da-fortuna, Folha-da-vida, Folha-da-costa, entre outros (EICHLER, 1872; PIO CORRÊA, 1931).

Como ocorre comumente nas espécies da família Crassulaceae, a espécie B. calycinum também apresenta uma intensa capacidade de se reproduzir vegetativamente através do desenvolvimento das gemas epífilas, formando plântulas idênticas à planta-mãe.

Em algumas espécies do gênero Kalanchoe, o controle da brotação das gemas está relacionado ao fotoperíodo a que estão sujeitas. Nas espécies Kalanchoe daigremontianum e Kalanchoe tubiflorum, por exemplo, o desenvolvimento das gemas epífilas ocorre quando as plantas estão sob dias longos (fotoperíodo de 14 horas) ou quando as folhas são destacadas da planta-mãe, independentemente do fotoperíodo (KRONER, 1955 apud HENSON & WAREING, 1977). Na espécie B. calycinum porém, a brotação das gemas ocorre somente quando a folha é

destacada da planta-mãe (LOEB, 1915). Em contraste com outras espécies desta família, o fotoperíodo não interfere de forma alguma na brotação das gemas.

As gemas epífilas localizadas em cada reentrância da borda da folha, possuem um grupo de células meristemáticas que se distinguem das células do parênquima foliar principalmente por serem bem menores (YARBROUGH, 1932). Ao se desenvolverem, as gemas epífilas exibem uma polaridade dorsiventral, em que as raízes emergem abaxialmente e o caule e as folhas adaxialmente em relação à folha (MEHRLICH, 1931).

Desde o início do século, houve um grande interesse dos fisiologistas vegetais em conhecer os mecanismos que controlam a brotação das gemas epífilas. LOEB, já em 1915, intrigava-se e levantava hipóteses para explicar o controle da brotação. Até a década de 30 a espécie foi bastante estudada. Nas décadas de 50 e 60, houve um interesse maior dos pesquisadores sobre seu característico sistema metabólico de fixação de CO_2, que foi exaustivamente estudado. Até o início da década de 70, trabalhos esporádicos foram feitos em relação à fisiologia do desenvolvimento em B. calycinum. Nos anos 70 e 80 pode-se observar, através da literatura, que houve uma retomada do interesse pelo estudo do desenvolvimento das gemas epífilas.

LOEB em 1915, discutia a possibilidade de que substâncias formadas em determinados órgãos seriam transportadas para outras partes da planta, onde controlariam a brotação das gemas epífilas. Assim sendo, a brotação seria influenciada pela planta como um todo.

A possibilidade de que a própria planta pudesse interferir no processo de brotação das gemas epífilas foi também discutida por REED (1923). Substâncias produzidas por determinados órgãos seriam os responsáveis pela permanência da gema no estado dormente ou determinariam o início da brotação, e isto se daria devido a condições metabólicas no qual o orgão se encontra.

Tais substâncias poderiam ser reguladores de crescimento que estariam atuando direta ou mesmo indiretamente sobre a brotação das gemas.

Quando auxina, na forma sintética de ANA (ácido-1-naftaleno-acético) foi testada, tanto na espécie fotoperiódica Bryophyllum daigremontianum quanto em B. calycinum, ocorreu a inibição da brotação, mesmo sob condições indutivas (HEIDE, 1965) Ao se verificar os níveis de AIA (ácido indolil-3-acético) endógeno em B. daigremontianum, constatou-se que eram bastante altos quando as plantas foram transferidas de dias curtos para dias longos (que são indutivos para a brotação das gemas), mas logo após havia uma queda bastante acentuada, antes do início da brotação (HENSON & WAREING, 1977).

YAZGAN & VARDAR (1977), trabalhando com B. daigremontianum e KARPOFF (1982) com B. calycinum, mostraram que AIA teve um efeito inibitório sobre a brotação quando aplicado em folhas cultivadas em meio estéril. Também em begônia, a brotação das gemas adventícias foi igualmente inibida na presença de auxina (HEIDE, 1965).

Apesar da auxina inibir o aparecimento das primeiras raízes nas gemas epífilas, ROBBINS & HERVEY (1969) verificaram que é

indispensável a presença deste regulador de crescimento para o crescimento de raízes isoladas de B. calycinum, quando cultivadas "in vitro". Isto sugere que a manutenção da dormência das gemas é devido a um alto nível de auxina endógena e que uma significante mudança metabólica deve ocorrer para liberar a gema da dormência. De acordo com HOUCK & RIESEBERG (1983), tal mudança poderia ser devido a um aumento da atividade da AIA-oxidase.

Apesar da maioria dos trabalhos mostrarem o efeito inibitório da auxina, AIA promove em Bryophyllum tubiflorum a produção de raízes nas gemas epífilas (NANDA & JAIN, 1972).

O ácido abscísico (ABA), um conhecido inibidor de crescimento, afeta um grande número de processos fisiológicos como, a abscisão foliar, a germinação de sementes e a floração. Pouco se sabe sobre sua influência sobre a dormência das gemas. Em begônia, a formação de gemas adventícias em folhas destacadas é bastante estimulada por fotoperíodos curtos (HEIDE, 1965) e pela aplicação de ABA em folhas (HEIDE, 1968).

Tratamentos com aplicação de giberelina mostraram que em B. tubiflorum ocorre a inibição da brotação sob condições indutivas, isto é, sob dias longos (MARCELLE, 1963). O mesmo ocorre com begônia, em que mesmo sob fotoperíodo indutivo (dias curtos), a aplicação de giberelina inibe a brotação (HEIDE, 1968). Também em B. tubiflorum, NANDA & JAIN (1972) observaram que o ácido giberélico inibia a produção de raízes das gemas epífilas. Em Phaseolus aureus, a giberelina endógena parece inibir o enraizamento de estacas, pois com a aplicação do antagonista de giberelina EL 531, observou-se

enraizamento (KEFFORD, 1973). Já em Bryophyllum crenatum, ocorre um aumento da brotação em folhas situadas na porção basal do caule onde, justamente, é encontrada uma maior concentração de giberelina (SEBÁNEK et al., 1978). O mesmo é confirmado por OBHLÍDALOVÁ et al. (1979).

Em discos de B. calycinum cultivados em meio estéril com ácido giberélico, verificou-se a inibição da brotação. Em baixas concentrações (10^{-5}M), não houve a inibição das gemas epífilas. No entanto, as plântulas desenvolvidas apresentaram folhas atípicas, sem a presença de gemas epífilas (KARPOFF, 1982). Essa habilidade do ácido giberélico em afetar a forma da folha, em cultura "in vitro", já foi descrito por FELDMAN & CUTTER (1970 a;b).

A aplicação de citocinina, em folhas de plantas intactas de B. calycinum, promoveu a brotação das gemas epífilas. O mesmo ocorreu com B. daigremontianum em condições não indutivas (CATARINO, 1965; HEIDE, 1965). Em Bryophyllum fedtschenkoi, que não é fotoperiódico, foi observado o mesmo comportamento que em B. calycinum, isto é, em folhas não destacadas da planta-mãe, a aplicação de 50ppm de cinetina nas folhas provocou a brotação das gemas (CATARINO, 1965). É importante notar nestes experimentos, que o crescimento das raízes foi inibido, desenvolvendo-se somente a parte aérea. O tratamento com citocinina provocou um efeito localizado na folha tratada.

Em plantas de B. daigremontianum, transferidas de dias curtos para dias longos, ocorre um aumento na concentração de citocininas endógenas, mas logo após esses níveis sofrem uma queda. Sabe-se também que plantas cultivadas continuamente em dias curtos possuem níveis de citocininas maiores do que plantas cultivadas em

dias longos (HENSON & WAREING, 1977).

Em cultura "in vitro" de folhas de B. calycinum, ocorre um aumento da brotação quando 6-benziladenina é adicionada ao meio, principalmente na concentração de 10^{-6}M (HOUCK & RIESEBERG, 1983). O mesmo não se observa em B. daigremontianum cultivado em meio estéril com cinetina, pois ocorre a inibição da brotação. Quando AIA em concentração estimulatória é adicionada ao meio, juntamente com cinetina, esta exerce um efeito inibitório dominante sobre a brotação das gemas. A cinetina faz com que haja uma diminuição dessa estimulação do AIA (YAZGAN & VARDAR, 1977).

O objetivo do presente trabalho foi o de verificar alguns fatores que controlam a brotação das gemas epífilas em B. calycinum, e investigar a relação existente entre as diversas partes da planta e sua influência sobre essas gemas epífilas. Além disso, observar o efeito de substâncias reguladoras de crescimento na quebra ou na manutenção da dormência das gemas epífilas.

I. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material Vegetal

As plantas de *Bryophyllum calycinum* Salisb. utilizadas neste trabalho foram coletadas de canteiros localizados no Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas (SP).

Em todos os experimentos foram utilizadas folhas simples com aproximadamente 8cm de comprimento e 5cm de largura em suas medidas maiores.

Após as coletas, o material vegetal foi imediatamente submetido aos tratamentos. Em nenhuma etapa do trabalho, houve armazenamento do material vegetal, pois acredita-se que o processo da brotação é desencadeado logo após o destacamento das folhas da planta-mãe.

2. Método Geral de Brotação

2.1 Condições Controladas

Os experimentos foram conduzidos em câmaras de germinação, marca FANEM 347 F, à temperatura de 25°C, sob luz branca fluorescente contínua com uma irradiância de 320 uW cm^{-2}.

2.2 Avaliação da Brotação

As gemas foram analisadas sob microscópio estereoscópico e consideradas brotadas quando possuíam raiz visível, com no mínimo 1mm de comprimento.

Devido a prévias observações, foi determinado que as avaliações fossem realizadas 5, 8 e 11 dias após o dia da coleta e estabelecimento do experimento.

2.3 índice de Brotação

As folhas de B. calycinum possuem um número variável de gemas epífilas, chegando a ter mais de 20 gemas por folha. Sendo assim, houve a necessidade de se fazer uma padronização dos dados para que se pudesse comparar os resultados obtidos dentre os vários tratamentos.

Nos experimentos onde foram analisadas folhas intactas, foi usada a seguinte relação:

$$I_1 \text{(índice de brotação por folha)} = \frac{\text{nº gemas brotadas por folha}}{\text{nº total de gemas por folha}}$$

Para cada tratamento, foram usadas 10 folhas, portanto, foram obtidos 10 índices por tratamento. Com estes índices, foram feitas médias aritméticas e estas transformadas em porcentagem.

Em experimentos, onde foram usadas placas de Petri com discos foliares de 1cm de diâmetro contendo apenas 1 gema epífila por disco, foi usada a seguinte relação:

$$I_p(\text{índice de brotação por placa}) = \frac{\text{nº discos brotados por placa}}{10\ (\text{nº total discos por placa})}$$

Em cada tratamento, foram usadas 5 placas com 10 discos em cada uma delas. Com os 5 índices obtidos foram feitas médias aritméticas, que posteriormente foram transformadas em porcentagens.

3. Influência do Caule sobre a Brotação

Para verificar a influência que o caule exerce sobre a brotação das gemas epífilas, foram feitas estacas com porções de caule de 1, 5 e 10cm de comprimento com 1 folha na parte superior da estaca (Figura 1).

Outro experimento similar foi feito mas a folha foi deixada na parte inferior da estaca (Figura 2).

Para os respectivos controles foram usadas folhas isoladas do caule (Figuras 1A;2A).

Em ambos os experimentos, as estacas foram dispostas em bandejas forradas com papel de filtro umedecido com água destilada e envoltas em sacos plásticos transparentes. As bandejas foram mantidas em câmara de germinação durante todo o experimento. Para cada tratamento foram utilizadas 10 estacas

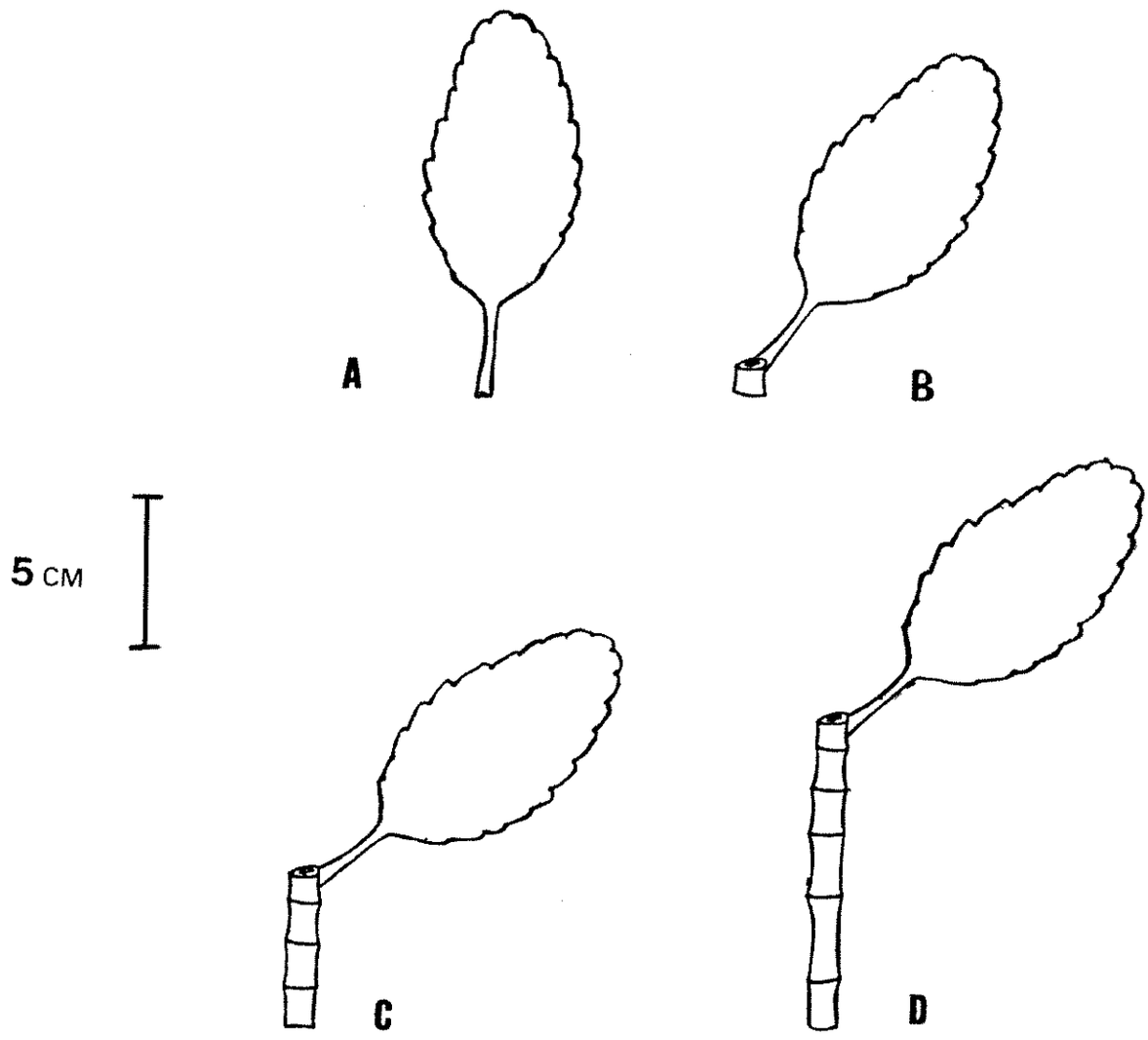

Figura 1 - Estacas nas quais o caule foi deixado abaixo da inserção do pecíolo da folha em Bryophyllum calycinum.

A - Controle (folha isolada do caule).

B - Folha com estaca de 1cm.

C - Folha com estaca de 5cm.

D _ Folha com estaca de 10cm.

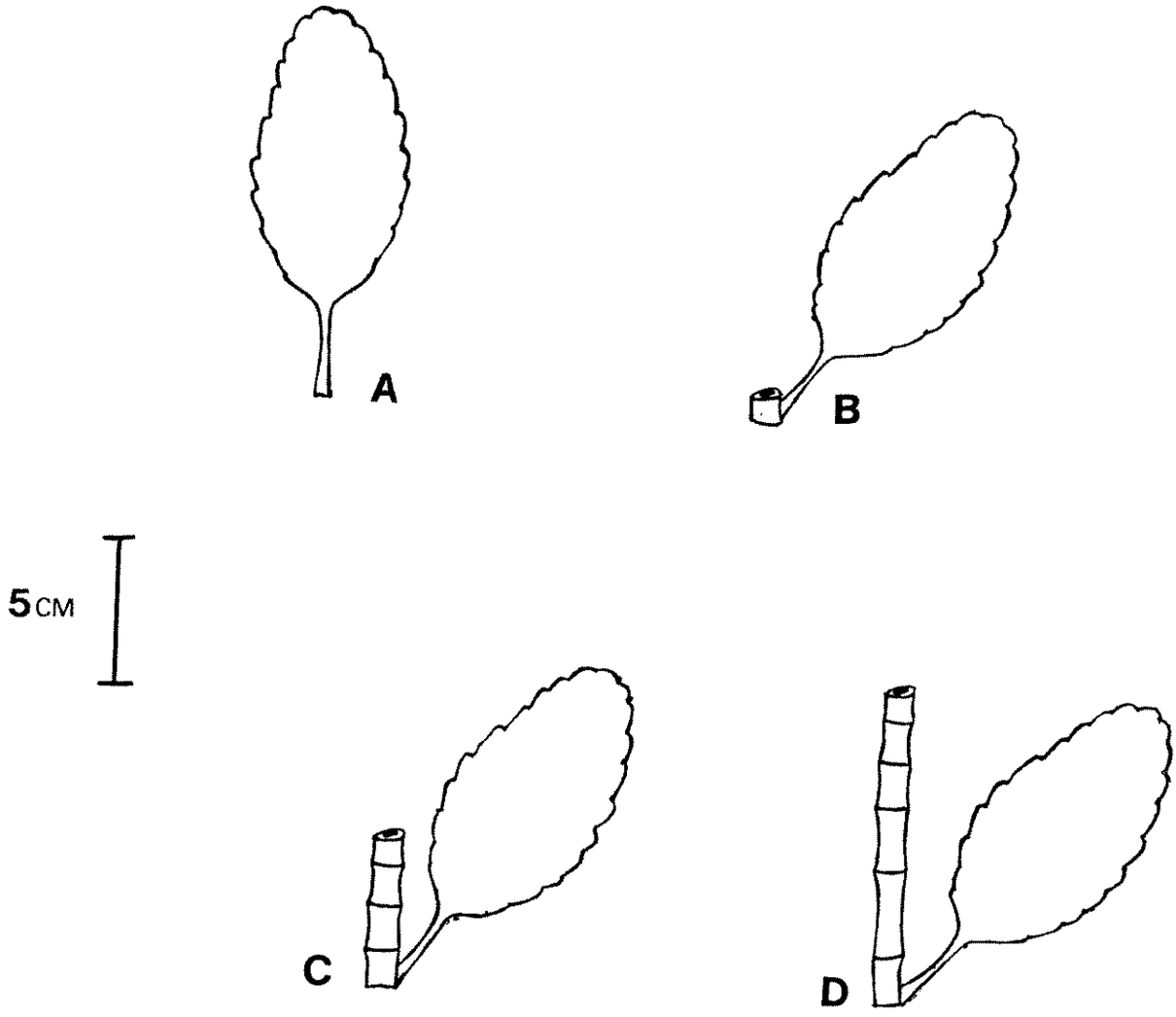

Figura 2 - Estacas nas quais o caule foi deixado acima da inserção do pecíolo da folha em Bryophyllum calycinum.

A - Controle (folha isolada do caule).

B - Folha com estaca de 1cm.

C - Folha com estaca de 5cm.

D - Folha com estaca de 10cm.

4. Relação entre o Par de Folhas e a Brotação das Gemas Epífilas

Em B. calycinum, as folhas se apresentam dispostas alternadamente ou opostas cruzadas ao longo do eixo principal do caule; portanto em cada entrenó do caule há a inserção de 2 folhas. Com o objetivo de verificar a existência de uma relação entre as folhas e a influência destas sobre a brotação das gemas epífilas, foram feitas estacas com 5 e 10cm de comprimento com 1 e 2 folhas por estaca (Figura 3).

As estacas foram dispostas em bandejas com papel de filtro umedecido em água destilada e mantidas em câmaras de germinação.

5. Remoção das Gemas Laterais do Caule

Foi observado que durante os experimentos, ocorria com bastante profusão o desenvolvimento das gemas laterais localizadas nos entrenós do caule. Sendo assim, para testar a influência dessas gemas laterais sobre a brotação das gemas epífilas, tais gemas foram removidas das estacas de 10cm, tão logo se desenvolviam. No controle, essas gemas laterais não foram removidas, deixando-as desenvolverem-se normalmente. As estacas foram mantidas em bandejas em câmaras de germinação.

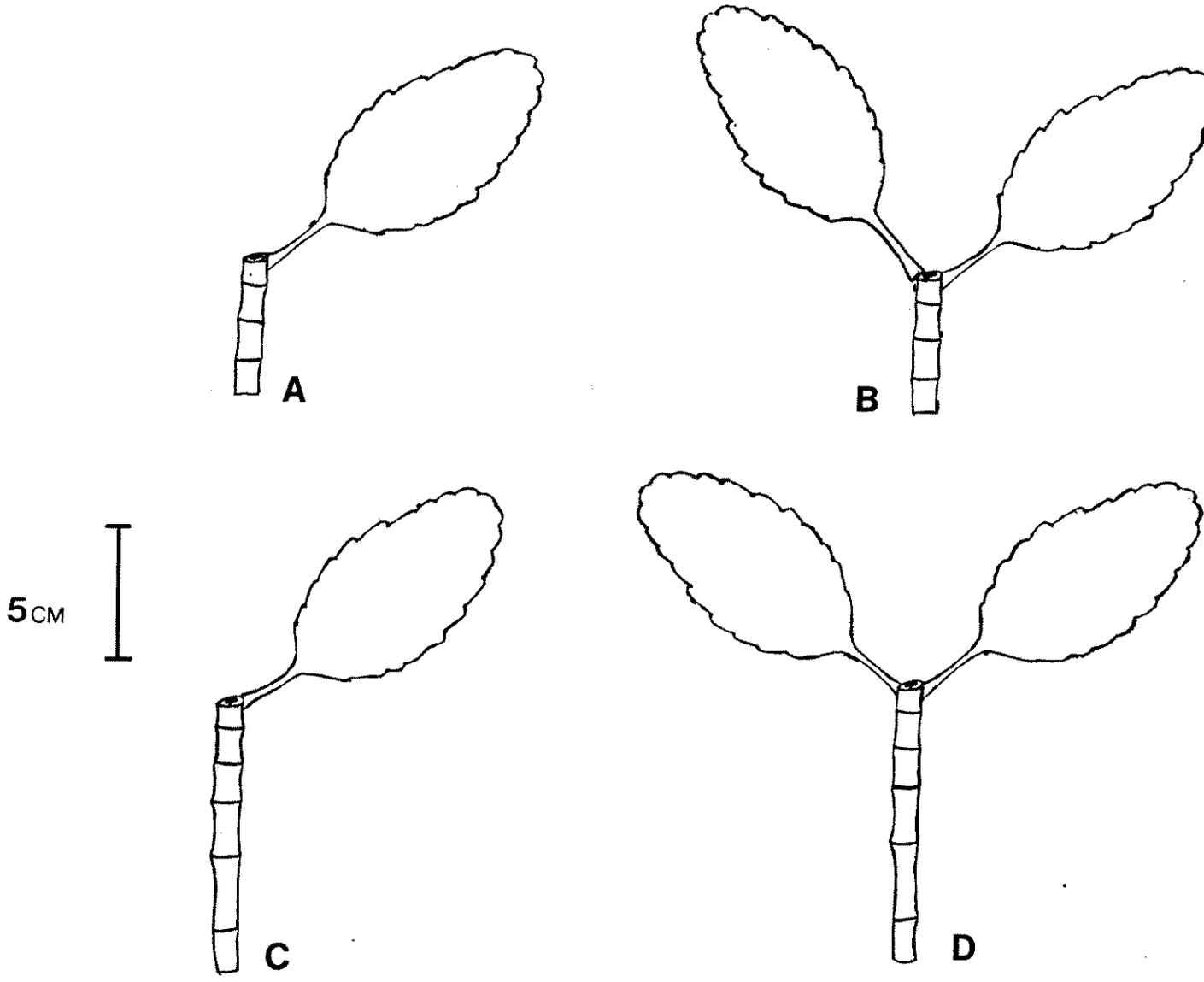

Figura 3 - Estacas de Bryophyllum calycinum com 1 par de folhas

A - Estaca com 5m e 1 folha

B - Estaca com 5cm e 2 folhas

C - Estaca com 10cm e 1 folha

D - Estaca com 10cm e 2 folhas

6. Anelamento do Caule

O anelamento do caule, conhecido como "Anel de Malpighi" (Castro, 1985), consistiu da retirada de um anel de floema do caule de 0.5cm de largura com o auxílio de um bisturi, logo abaixo da inserção do pecíolo na folha em estacas de 5 e 10cm de comprimento (Figura 4). Para fins de comparação, foram usadas folhas isoladas e estacas de 1cm de comprimento não aneladas. Em cada tratamento, foram feitas 10 estacas. As estacas foram colocadas em bandejas com papel de filtro umedecido em água destilada, envoltas em sacos plásticos transparentes e mantidas em câmara de germinação.

7. Tratamento com Reguladores de Crescimento

7.1 Aplicação em Discos Foliares

Para cada tratamento foram usados 50 discos foliares (Figura 5) que foram mergulhados em soluções de AIA (ácido indolil-3-acético), GA_3 (ácido giberélico), Etrel (ácido 2-cloroetil-fosfônico), 6-BA (6-benziladenina) e ABA (ácido abscísico), cada qual nas concentrações de $10^{-3}M$, $10^{-4}M$ e $10^{-5}M$.

Os discos foliares foram mergulhados nas soluções e submetidos a uma pressão de vácuo de 400 mm de Hg durante 5 minutos para que as soluções penetrassem no parênquima foliar dos discos. Em seguida, os discos foliares foram retirados das soluções, colocados em placa de Petri com papel umedecido em água destilada e mantidos em

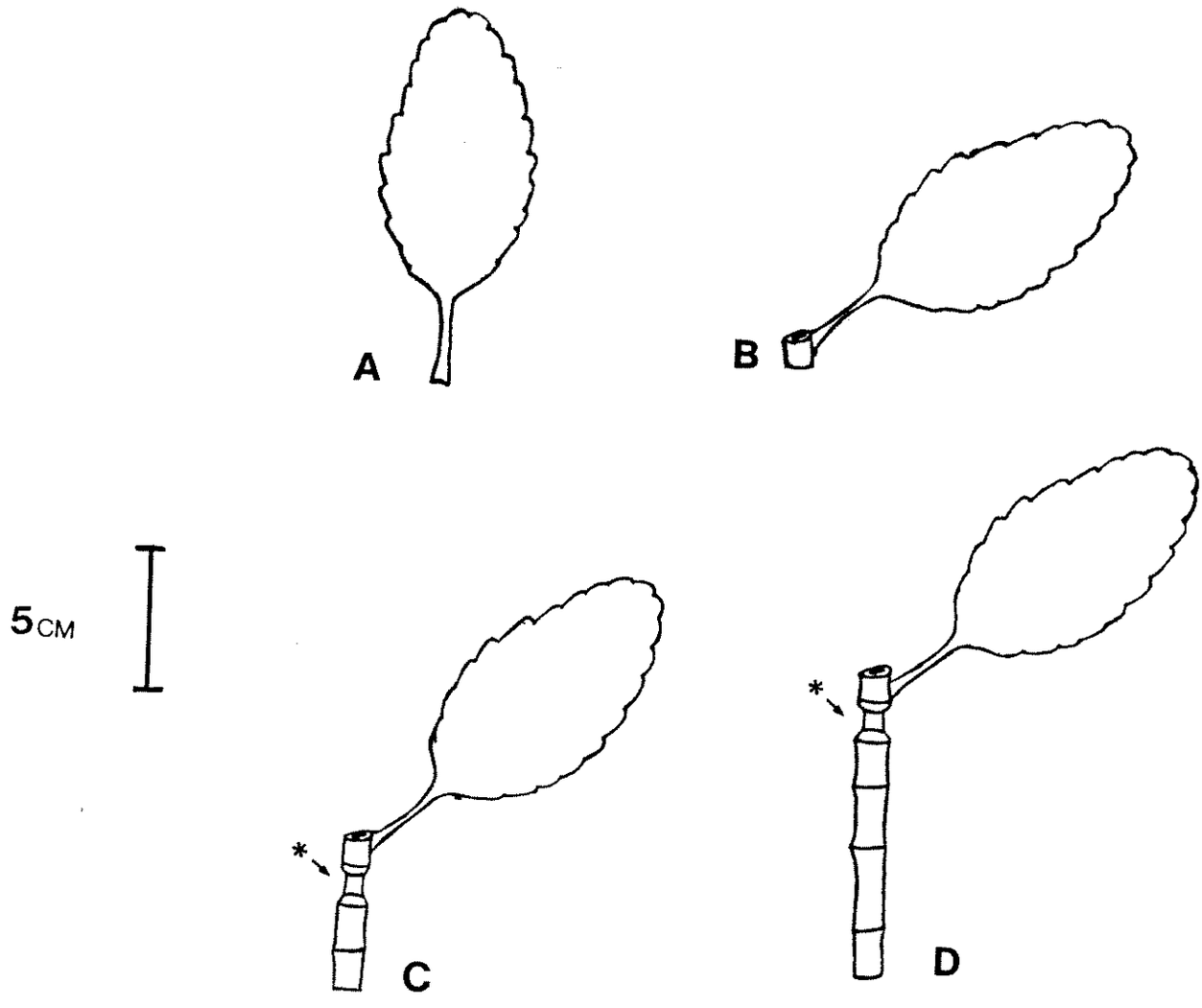

Figura 4 - Anelamento* logo abaixo da inserção do pecíolo da folha em estacas de Bryophyllum calycinum.

A - Controle (folha isolada).

B - Estaca de 1cm.

C - Estaca de 5cm.

D - Estaca de 10cm.

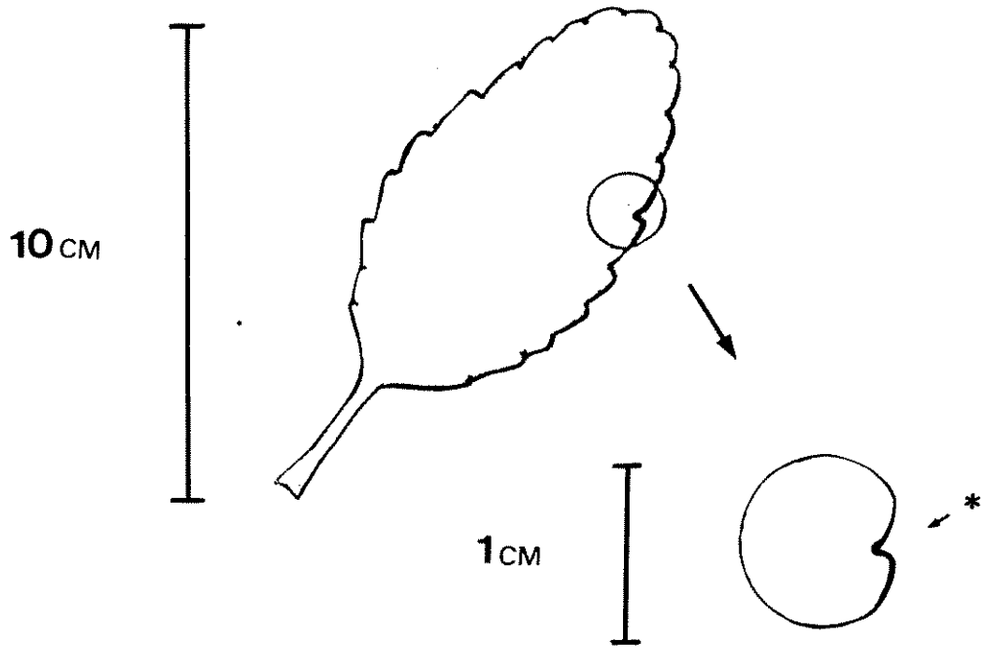

Figura 5 - Disco foliar de Bryophyllum calycinum contendo apenas 1 gema epífila* por disco.

câmara de germinação. Foram feitas 5 placas por tratamento, cada qual com 10 discos foliares. O controle foi feito apenas com água destilada.

7.2 Aplicação em estacas

Em frascos de 250ml, foram colocados 100ml de soluções de AIA 10^{-4}M, GA_3 10^{-4}M e 6-BA 10^{-5}M respectivamente, e GA_3 10^{-4}M + 6-BA 10^{-5}M (1:1;v:v). O controle foi feito apenas com água destilada. A base das estacas (semelhantes à Figura 1D) foram mergulhadas nas soluções. Os frascos foram mantidos em câmaras de germinação. Para cada tratamento foram usadas 10 estacas.

8. Análise Estatística

Para a comparação entre os vários tratamentos, utilizou-se análise de variância simples após a transformação dos dados em valor angular (=arco seno$\sqrt{p}$), sendo p a porcentagem de gemas epífilas brotadas. Determinou-se a diferença mínima significativa (DMS) pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade (Pimentel Gomes, 1976). As análises estatísticas foram feitas por colunas, sendo que as médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa ao nível de 5%.

III. RESULTADOS

1. Influência do Caule sobre Brotação

Através da Tabela 1 foi verificado que, nas folhas onde foram deixadas porções de caule abaixo da inserção do pecíolo da folha (Figura 1), houve uma significante inibição da brotação. Nos tratamentos com estacas de 5 e 10cm de comprimento, houve uma considerável diminuição da porcentagem de gemas brotadas quando comparadas com o controle (folha isolada). Assim sendo, observou-se que existe uma relação inversa entre o tamanho do caule deixado e a brotação das gemas epífilas. Isto é, quanto maior a porção de caule deixada abaixo da inserção do pecíolo da folha menor é a brotação.

Esta tendência é observada durante toda a condução do experimento. Na 1ª avaliação do experimento, foi verificado que os tratamentos mostraram entre si diferenças estatísticas bastante significativas. Na 2ª avaliação, verificou-se uma ligeira promoção da brotação nas folhas das estacas de 10cm, mas estas mantiveram-se significantemente diferentes do controle e continuaram a exibir uma resposta inibitória à brotação, igual a das estacas de 5cm. Este padrão de brotação manteve-se até o final do experimento.

Na Tabela 2, foi observado que não há diferença estatitisticamente significativa entre os tratamentos, com diferentes tamanhos de estacas, ao final do experimento. Isto é, nas folhas onde foram deixadas porções de caule acima da inserção do pecíolo da folha (Figura 2) foi obtido um padrão de brotação semelhante ao controle

Tabela 1 - Efeito do caule, quando deixado abaixo da inserção do pecíolo da folha na estaca, sobre a brotação das gemas epífilas de Bryophyllum calycinum

Comprimento da estaca (cm)	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliações		
	5º	8º	11º
0 (Controle)	85a	91a	96a
1	59b	76b	79b
5	17c	29c	49c
10	07d	32c	47c

Tabela 2 - Efeito do caule, quando deixado acima da inserção do pecíolo da folha na estaca, sobre a brotação das gemas epífilas em Bryophyllum calycinum.

Comprimento da estaca (cm)	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliações		
	5º	8º	11º
0 (Controle)	87a	90	90
1	82ab	88	90
5	77ab	83	86
10	57b	73	85

Diferenças estatisticamente não significativa ao nível de 5% para avaliação dos 8º e 11º dias.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

(folhas isoladas). Na primeira avaliação, foi verificada uma ligeira inibição da brotação nas estacas de 10 cm, mas, nas avaliações posteriores, verificou-se que não mais existe diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos . Portanto, a porção de caule deixada acima da inserção do pecíolo parece não afetar a brotação das gemas epífilas.

2. Influência do Par de Folhas sobre a Brotação

Através da Tabela 3, observou-se que quanto à brotação, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos, isto é, quando foi deixado 1 par de folhas ou apenas 1 folha por estaca. Durante todo o experimento, verificou-se que a brotação das estacas de 10cm com 1 ou 2 folhas têm o mesmo comportamento; o mesmo ocorre com as estacas de 5cm com 1 ou 2 folhas. Assim sendo, o par de folha parece não influenciar a brotação.

No final do experimento, podemos constatar uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com estacas de 5 e 10cm de comprimento, independentemente do número de folhas. Em estacas com 10cm de comprimento, há um pequeno aumento da inibição da brotação das respectivas gemas epífilas em relação as estacas com 5cm de comprimento.

Tabela 3 - Efeito do par de folhas em estacas sobre a brotação das gemas epífilas em Bryophyllum calycinum.

Tratamentos		Porcentagem de Brotação		
Tamanho da estacas/nº folhas		Dias / Avaliação		
		5º	8º	11º
5cm	1 folha	31	44	85a
	2 folhas	26	44	83a
10cm	1 folha	21	33	59b
	2 folhas	21	29	63b

Diferenças estatisticamente não significativa ao nível de 5% para avaliação dos 5º e 8º dias.

3. Efeito da Remoção das Gemas Laterais do Caule

Os resultados apresentados na tabela 4 mostraram não haver correlação entre o desenvolvimento das gemas laterais dos entrenós do caule da estaca e a brotação das gemas epífilas. Observa-se que durante o experimento, os tratamentos mantiveram um padrão de brotação semelhante.

4. Anelamento do Caule

Na Tabela 5, foram apresentados os resultados observados decorrentes do anelamento do caule. Foi observado, que existe uma diferença estatística bastante significativa quando são comparadas as estacas com 5 e 10cm aneladas e não aneladas, pois verificou-se que há uma alta porcentagem de brotação das estacas aneladas em relação às não aneladas. As estacas aneladas mostraram o mesmo padrão de brotação das gemas do controle (folhas isoladas), ao final do experimento.

5. Reguladores de Crescimento

5.1 Efeito sobre Discos Foliares

De acordo com a Tabela 6, foi observado que, na concentração de 10^{-3}M dos reguladores de crescimento testados, somente giberelina e mais efetivamente citocinina mostraram efeito

Tabela 4 - Relação entre o desenvolvimento das gemas laterais dos entrenós do caule em estacas de 10cm e a brotação das gemas epífilas em *Bryophyllum calycinum*.

Tratamento	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliação		
	5º	8º	11º
Remoção das gemas laterais	32	59	80
Controle (com gemas laterais)	17	60	75

Diferenças não significativas ao nível de 5%.

Tabela 5 - Efeito do anelamento de estacas sobre a brotação de gemas epífilas em Bryophyllum calycinum.

Tratamento	Porcentagem de Brotação		
Tamanho da estaca / Anelamento	Dias / Avaliação		
	5º	8º	11º
0cm (Controle)	95a	96a	97a
1cm / não anelada	53c	83a	92a
5cm / não anelada	25d	42c	54c
10cm / não anelada	37cd	58bc	67bc
5cm / anelada	75b	78ab	86ab
10cm / anelada	80ab	86a	86a

Tabela 6 - Efeito de reguladores de crescimento, na concentração de 10^{-3}M, sobre a brotação de gemas epífilas em discos foliares de Bryophyllum calycinum.

Tratamento	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliação		
	5º	8º	11º
AIA	100a	100a	100a
GA_3	60c	64b	84b
ABA	80bc	100a	100a
6-BA	10d	24c	54c
Etrel	96ab	100a	100a
Controle	100a	100a	100a

inibitório significativo ao final do experimento, retardando a brotação das gemas epífilas em discos foliares.

Os demais reguladores de crescimento aplicados como AIA, ABA, e Etrel, não mostraram diferenças estatísticamente significativas quando comparados ao controle no final do experimento.

Verificou-se o mesmo padrão de brotação na concentração de 10^{-4}M, apesar de haver um ligeiro aumento da brotação nos discos foliares tratados com giberelinas e citocininas, pois estes ainda continuaram a inibir a brotação de maneira significativa (Tabela 7).

Em baixa concentração como 10^{-5}M, verificou-se que já não existem diferenças consistentes entre os tratamentos ao final do experimento, apenas giberelina parece inibir ainda a brotação (Tabela 8).

A diminuição na concentração de 10^{-3}M para 10^{-4}M e 10^{-5}M não afetou o padrão de brotação, nos tratamentos em que foram usados AIA, ABA e Etrel, quando comparados ao controle. Apesar de GA_3 continuar a apresentar inibição da brotação em baixas concentrações, 6-BA deixou de inibir a brotação à 10^{-5}M.

Tabela 7 - Efeito de reguladores de crescimento, na concentração de 10^{-4}M, sobre a brotação de gemas epífilas em discos foliares de Bryophyllum calycinum.

Tratamento	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliação		
	5º	8º	11º
AIA	100a	100a	100a
GA_3	55c	74b	88b
ABA	92b	100a	100a
6-BA	16d	46c	74c
Etrel	96b	100a	100a
Controle	100a	100a	100a

Tabela 8 - Efeito de reguladores de crescimento, na concentração de 10^{-5}M, sobre a brotação de gemas epífilas em discos foliares de Bryophyllum calycinum.

Tratamento	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliação		
	5º	8º	11º
AIA	92b	100a	100a
GA_3	82b	92bc	96b
ABA	94b	100a	100a
6-BA	60c	82c	100a
Etrel	96b	98b	100a
Controle	100a	100a	100a

5.2 Efeito sobre Estacas

Na Tabela 9, observou-se que GA_3 e 6-BA quando aplicados isoladamente em estacas de 10cm (Figura 1D), ocorreu a inibição da brotação das gemas epífilas, mostrando um padrão de brotação semelhante aos obtidos nos experimentos anteriores. A aplicação conjunta de GA_3 e 6-BA, apesar de apresentar inibição da brotação, não mostrou um efeito aditivo. A auxina parece não afetar a brotação das gemas epífilas, pois exibe um comportamento semelhante ao controle.

Tabela 9 - Efeito de reguladores de crescimento, sobre a brotação das gemas epífilas em estacas de 10cm Bryophyllum calycinum.

Tratamento	Porcentagem de Brotação		
	Dias / Avaliação		
	5º	8º	11º
AIA 10^{-4}M	51a	56a	64a
GA_3 10^{-4}M	20b	27b	30b
6-BA 10^{-5}M	22b	23b	23b
GA_3 10^{-4}M + 6-BA 10^{-5}M	18b	21b	23b
Controle (água destilada)	50a	57a	67a

IV. DISCUSSÃO

É provavel, que o controle da brotação das gemas epífilas em *B. calycinum* seja exercido pela própria planta. Através dos resultados obtidos, verificou-se que o caule influencia diretamente a brotação. Não sendo uma espécie dependente do fotoperíodo, para iniciar o processo de brotação das gemas epífilas, e a brotação ocorrendo somente quando a folha é destacada da planta-mãe, sugere-se que um fator (ou fatores) endógeno à planta é que seja o responsável por manter a gema no estado dormente.

O caule exerce uma grande influência sobre a brotação das gemas epífilas. Os resultados indicaram existir no caule um inibidor capaz de manter a gema no estado dormente, pois quanto maior a porção de caule deixada, maior é a inibição da brotação. Assim sendo, supõe-se que quando a folha é destacada da planta-mãe, é interrompido o transporte do fator inibidor do caule para a folha, liberando a brotação de suas gemas epífilas. Quando o caule é deixado acima da inserção do pecíolo da folha, a brotação mantém o mesmo padrão de brotação de folhas isoladas. Isto sugere, que a folha não estaria recebendo o inibidor e que este deve translocar-se acropetamente pelo caule (transporte polar).

Estes indícios fazem sugerir que tal fator inibidor deve ser sintetizado na parte basal da planta e translocado através do sistema vascular para outras partes, principalmente para as folhas.

Como não foi observada nenhuma relação entre o desenvolvimento das gemas laterais do caule e mesmo da folha oposta em

relação à brotação das gemas epífilas de determinada folha, acredita-se que o fator inibidor da brotação esteja principalmente localizado nas partes basais da planta.

SEBANÉK & SLABY (1979), trabalhando com B. crenatum, interromperam a passagem de fluxo do sistema vascular do caule em plantas intactas, fazendo uma incisão até metade do diâmetro do caule, logo abaixo da inserção de uma folha. A outra metade do caule permaneceu intacto abaixo da folha oposta. Obteve-se, então a brotação das gemas epífilas na folha onde o fluxo foi interrompido; já na folha oposta não houve brotação. Estes resultados reforçam a hipótese de que a inibição se translocaria ascendentemente pelo caule.

Com o anelamento do caule, a comunicação entre o floema caulinar e a folha foi interrompida, ocorrendo então, a brotação das gemas epífilas. Isto indica que o provável inibidor seja translocado pelo caule, via floema.

Uma outra hipótese levantada seria a de que tal fator inibidor fosse uma substância reguladora de crescimento que estaria sendo sintetizada num determinado orgão da planta, mas produzindo efeito em outro. No caso, estariam atuando sobre as gemas epífilas, levando as células meristemáticas a permanecerem no estado dormente.

Com a aplicação de ácido giberélico em discos de folhas e em estacas, observou-se uma inibição da brotação, concordando com os resultados obtidos por MARCELLE (1963), HEIDE (1968), NANDA & JAIN (1972) e KARPOFF(1982), que além de B.calycinum, trabalharam com outras crassuláceas.

Apesar de ocorrerem em orgãos distintos, o aparecimento da primeiras raízes adventícias em estacas assemelha-se à brotação das gemas epífilas, pois durante a brotação observa-se primeiramente o aparecimento de raízes, só após é que há o surgimento da parte aérea. Em epicótilos de Pisum sativum, ocorre uma queda dos níveis de giberelinas endógenas na porção basal, precedendo a formação das primeiras raízes adventícias (BLAHOVÁ, 1969 apud SEBANÉK & SLABY, 1979). Em espécies difíceis de enraizar, a aplicação de antagonistas de giberelinas provocaram um aumento no enraizamento das estacas (KEFFORD, 1973). Portanto, supõe-se que as giberelinas realmente influenciam negativamente o aparecimento de raízes.

Ao aplicar auxina nas gemas epífilas de B. calycinum, não se observaram resultados significativamente diferentes do controle, como os efeitos inibitórios descritos por HEIDE (1965), HENSON & WAREING (1977), YAZGAN & VARDAR (1977) e KARPOFF (1982).

Ainda que, sejam encontrados na literatura vários trabalhos que mostram o papel promotor das citocininas na brotação das gemas epífilas em B. calycinum e em várias outras crassuláceas (CATARINO, 1965; HEIDE, 1965; HOUCK & RIESEBERG, 1983), os resultados apresentados indicaram que as gemas epífilas de B. calycinum são fortemente inibidas quando são tratadas com 6-benziladenina. Também YAZGAN & VARDAR (1977), descreveram ocorrer inibição da brotação de gemas epífilas de B.daigremontianum após aplicação de outra citocinina (cinetina).

De acordo com CATARINO (1965) e HEIDE (1965), quando citocinina foi aplicada a folhas não destacadas de B. calycinum e B.

daigremontianum, ocorreu a estimulação das gemas epífilas. Logo, era de se esperar que em B. daigremontianum, sob condições indutivas de brotação, isto é, sob dias longos, os níveis de citocininas endógenas fossem altos. Todavia, de acordo com HENSON & WAREING (1977), em plantas de B. daigremontianum transferidas de dias curtos para dias longos, ocorre um ligeiro aumento das citocininas endógenas, que logo decai permanecendo baixo durante todo o período em que a planta foi mantida sob dias longos. Também foi observado pelos mesmos autores que, plantas de B. daigremontianum quando cultivadas somente sob dias longos possuíam um nível de citocinina endógeno menor que as plantas cultivadas sob dias curtos. Portanto, os resultados que indicaram ser a citocinina promotora da brotação em gemas epífilas são ainda contraditórios.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram inibição da brotação das gemas epífilas pela 6-benziladenina. Portanto, uma outra hipótese, sugere que citocininas produzidas pelas raízes, seriam translocadas pelo caule até as folhas onde exerceriam uma influência inibitória sobre a brotação das gemas epífilas.

Em folhas de Pereskia, quando destacadas da planta, observou-se uma queda nos níveis de citocininas endógenas, quando raízes não são formadas (ZAIDAN & VÁLIO, 1977). O mesmo parece ocorrer em folhas de B. calycinum, as quais, quando destacadas da planta-mãe, sofreriam uma queda nos níveis de citocininas endógenas (que seria o fator inibidor da brotação) liberando então, as gemas da dormência.

As raízes são importantes fontes de citocinina (KENDE & SITTON, 1967; LETHAN, 1967; SHORT & TORREY, 1972). Análises dos

exsudatos de raízes e da seiva do xilema vindos das raízes revelaram conter altas concentrações de citocininas (INCOLL & JEWER, 1987 apud NEUMAN et al, 1990). Quanto à mobilidade das citocininas, sabe-se que citocinina marcada com isótopo radioativo, aplicada em raízes de Pisum sativum, foi encontrada depois de algum tempo no ápice das plantas. Esse resultado apóia a hipótese de PHILLIPS (1969 apud PROCHÁZKA et al., 1977), de que as citocininas são sintetizadas pelas raízes e translocadas acropetamente para o ápice.

Quanto à formação de raízes em estacas e sua semelhança à brotação das gemas epífilas, constatou-se que as citocininas inibem fortemente o enraizamento (BOLLMARK & ELIASSON, 1986; BOLLMARK et al, 1988) Em Populus, OKORO & GRACE (1978) mostraram que o conteúdo de citocinina endógena é maior em estacas difíceis de enraizar do que em estacas fáceis de enraizar.

Certas discrepâncias observadas entre este trabalho e alguns dados da literatura podem ser atribuídos a diferentes métodos utilizados ou a diferenças genéticas entre diferentes populações da espécie B. calycinum. Já em 1931, MERHLICH observara uma falta de uniformidade entre os resultados obtidos nas investigações feitas com B. calycinum. Este mesmo autor, atribuiu esta variação à possibilidade das plantas pertencerem a clones diferentes, possuindo assim, padrões de brotação diversificados. Para chegar a esta conclusão, ele comparou os resultados obtidos com várias coleções de plantas da mesma espécie, pertencentes a diversas universidades norte-americanas.

Assim sendo, pelos resultados obtidos neste trabalho, parece-nos que a brotação das gemas epífilas em B. calycinum está condicionada a fatores endógenos, os quais estariam influenciando de forma determinante a permanência das gemas no estado dormente.

V. RESUMO

As espécies da família Crassulaceae se caracterizam por apresentar folhas com gemas capazes de se desenvolverem formando, por reprodução vegetativa, plântulas idênticas a planta-mãe. Na espécie estudada, Bryophyllum calycinum Salis., a brotação de tais gemas epífilas, ocorre somente quando a folha é destacada da planta-mãe.

O objetivo deste trabalho foi a de estudar alguns fatores que controlam a brotação das gemas epífilas.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que o caule exerce uma grande influência inibitória sobre a brotação. Há indícios de que substâncias translocadas ascendentemente pelo caule é que estariam inibindo a brotação das gemas. Tais substâncias poderiam ser reguladores de crescimento.

Dos reguladores de crescimento testados, somente GA_3 e mais efetivamente 6-BA, inibiram a brotação das gemas epífilas quando aplicados em estacas e discos foliares.

Portanto, fatores endógenos à planta estariam controlando a dormência e brotação das gemas epífilas de B. calycinum.

V. BIBLIOGRAFIA

BOLLMARK, M. & ELLIASON, L., 1986. Effects of exogenous cytokinins on root formation in pea cuttings. Physiol. Plant., 68 : 662-666.

BOLLMARK, M.; KUBÁT, B. & ELIASSON, L., 1988. Variation in endogenous cytokinin content during adventitious root formation in pea cuttings. J. Plant. Physiol., 132 : 262-265.

CASTRO, P. R. C., 1985. Translocação de solutos. In: Fisiologia Vegetal 1, (M.G.Ferri, ed). Editora Pedagógica Universitária Ltda., S.Paulo, 2ª ed.. 213-250.

CATARINO, F. M., 1965. Some effects of kinetin on growth, breaking of dormancy and senescence in Bryophyllum. Port. Acta. Biol., A9, 221-228.

EICHLER, A. G., 1872. "CRASSULACEAE". In: Martius,C. F. P. de - Flora Brasiliensis. Monachii Lipsiae apud Frid., XIV (II): 377-384.

FELDMAN, L. J. & CUTTER, E. G., 1970a. Regulation of leaf form in Centaurea solstitialis L.. Leaf developmental potentialites of excised leaf primordia in sterile culture. Bot. Gaz., 131 : 39-49.

FELDMAN, L. J. & CUTTER, E. G., 1970b. Regulation of leaf form in Centaurea solstitiali L..II. The developmental potentialis of excised leaf primordia in sterile culture. Bot. Gaz., 131 : 39-49.

GUIA RURAL : Ervas e temperos. 1991 (janeiro). Editora Abril Cultural. São Paulo. p. 25

HEIDE, O. M., 1965. Effects of 6-benzylamino-purine and 1-naphthaleneacetic acid on the epiphyllous bud formation im Bryophyllum. Planta (Berl.) 67: 281-296.

HEIDE, O. M., 1968. Stimulation of adventitious bud formation in begonia leaves by abscisic acid. Nature (Lond.), 219: 960-961.

HENSON, I. E. & WAREING, P.F., 1977. Changes in the levels of endogenous citokinins and indole-3-acetic acid during epiphyllous bud formation in Bryophyllum daigremontianum. New Phytol., 79 : 225-232.

HOUCK, D. F. & RIESEBERG, L. H., 1983. Hormonal regulation of epiphyllous bud release and development in Bryophyllum calycinum. Am. J. Bot., 70 : 912-915.

KARPOFF, A. J., 1982. Hormones and early in vitro development of epiphyllous propagules on Bryophyllum calycinum. Am. J. Bot., 69 : 348-355.

KEFFORD,N. P., 1973. Effect of a hormone antagonist on the rooting of shoot cuttings. Plant. Physiol., 51 : 214-216.

KENDE, H. & SITTON, D., 1967. The physiological sign of kinetin an gibberellin-like root hormones. Ann. N. Y. Acad. Sci., 144 : 235-243.

LETHAN, D. S., 1967. Chemistry and physiology of kinetin like compounds. Annu. Rev. Plant Physiol., 18 : 349-364.

LOEB, J., 1915. Rules and mechanism of inhibition and correlation in the regeneration of Bryophyllum calycinum. Bot. Gaz., 60 : 249-276.

MAGALHÃES, A. C. N., 1985. Fotossíntese. In: Fisiologia Vegetal 1, (M.G.Ferri, ed.). Editora Pedagógica Universitária Ltda, S. Paulo, 2ª ed.. 117-168.

MARCELLE, R., 1963. Effet de la gibbérelline sur la formation et la croissance des burgeons épiphylles chez Bryophyllum tubiflorum Harv.. Physiol. Vég., 1 : 359-368.

MERLICH, F., 1931. Factors affecting growth from the foliar meristems of Bryophyllum calycinum. Bot. Gaz., 92 : 113-140.

MINA, E. M. C.; SANTOS, D. M. M. & CORSO, G. M., 1983. Aspectos anatômicos e histoquímicos de folhas de Bryophyllum calycinum Salis. (Crassulaceae). Garcia de Orta, Sér. Bot., Lisboa, 6 (1-2) : 21-24.

NANDA, K. K. & JAIN, M. K., 1972. Mode of action of IAA and GA_3 on root and shoot growth of epiphyllous buds Bryophyllum tubiflorum. J. Exp. Bot., 23 : 980-986.

NEUMAN, D. S.; ROOD, S. B. & SMIT, B. A., 1990. Does cytokinin transport from root-to-shoot in the xilem sap regulate leaf responses to root hypoxia? J. Exp. Bot., 41 : 1325-1333.

OBHLÍDALOVA, L.; SLABY, K. & SEBÁNEK., 1979. Polarity of endogenous regulatory substances in Bryophyllum crenatum leaves and stems. Biol. Plant., 21 : 22-26.

OKORO, O. O. & GRACE, J., 1978. The physiology of rooting Populus cuttings. II. Cytokinin activity in leafless hardwood cuttings. Physiol. Plant., 44 : 167-170.

PIMENTEL GOMES, F., 1976. Curso de Estatística Experimental. 6ª ed. Livraria Nobel, Piracicaba, SP. 430pp.

PIO CORRÊA, M., 1931. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro. MA-IBDF, Vol.II : 343pp.

PROCHÁZKA, S.; SCHRAURODOLF, H. & SONKA, J., 1977. Transport of ^{14}C-Kinetin in intact and decapted pea seedlings (Pisum sativum L.). Z. Pflanzenphysiol., 81 : 308-313.

REED, E., 1923. Hypothesis of formative stuffs as applied to Bryophyllum calycinum. Bot. Gaz., 75 : 113-141.

ROBBINS, W. J. & HERVEY, H., 1969. Auxin and growth of excised roots of Bryophyllum calycinum. Am. J. Bot., 69 : 348-355.

SEBÁNEK, J.; KOPECKY, F. & SLABY, K., 1978. Endogenous gibberelins and auxins in the stem of Bryophyllum crenatum in relationship to its polarity. Biol. Plant., 20 : 138-141.

SEBÁNEK, J. & SLABY, K., 1979. The correlative effect of the stem apex on the level of endogenous gibberelins in Bryophyllum crenatum leaves. Biol. Plant., 21 : 331-314.

SHORT, K. C. & TORREY, J. G., 1972. Cytokinins in seedling roots of pea. Plant. Physiol., 49 : 155-160.

YARBROUGH, J. A., 1932. Anatomical and developmental studies of foliar embryos of Bryophyllum calycinum. Am. J. Bot., 19 : 443-453.

YAZGAN, M. & VARDAR, Y., 1977. Studies on the effects of auxin-kinetin applications on the epiphyllous budding of Bryophyllum daigremontianum Berg.. Z. Pflanzenphysiol., 84 : 203-211.

ZAIDAN, L. B. & VÁLIO, I. F. M., 1977. Rooting of detached leaves of Pereskia grandifolia Hars. (Cactaceae). Z. Pflanzenphysiol., 83 : 25-33.