

SIMONE MONTEDIOCA



# ESTUDO SOBRE O CONTROLE DA BROTAÇÃO DAS GEMAS EPIFILAS EM *Bryophyllum calycinum*

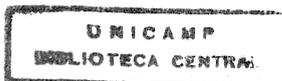
Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

Orientador : Ivany Ferraz Marques Válio

Campinas - SP

1996

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato a)
<i>Simone Montedioca</i>
e aprovada pela Comissão Julgadora.
<i>12/12/96</i> 



1002080

DE 30  
AMADA:  
177WIOAMP  
M 469U  
Ex  
BC/ 32434  
395/98  
 D  X  
R\$ 11,00  
27/10/98  
D

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

-00105155-3

M764e

Montedioca, Simone

Estudo sobre o controle da brotação das gemas epifilas em *Bryophyllum calycinum* / Simone Montedioca. -- Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientador: Ivany Ferraz Marques Válio.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.

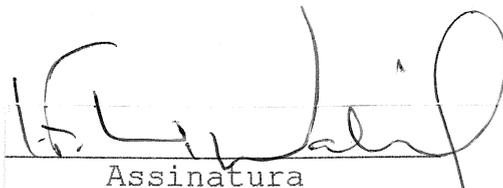
1. Hormônios vegetais. 2. Plantas-Reprodução.  
3. Crassulacea. 4. Fisiologia vegetal. I. Válio, Ivany Ferraz Marques. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

LOCAL E DATA : Campinas , de de 1996

BANCA EXAMINADORA :

TITULARES :

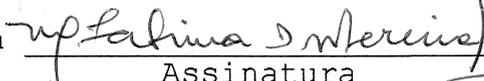
Prof. Dr. Ivany Marquez Válio



---

Assinatura

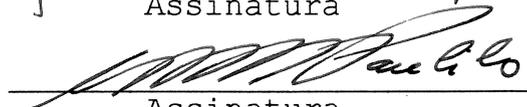
Profa. Dra. Maria de Fátima Aleixo Pereira



---

Assinatura

Profa. Dra. Maria Terezinha Paulilo



---

Assinatura

Profa. Dra. Marlene Schiavinato



---

Assinatura

Profa. Dra. Simone L. K. Shepherd



---

Assinatura

SUPLENTES

Prof. Dr. Ladaslav Sodek

---

Assinatura

Prof. Dr. Jorge Vega

---

Assinatura

## AGRADECIMENTOS

Ào Dr Ivany Ferraz Marques Válio pela orientação dada a este trabalho, pela confiança, amizade e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal da Unicamp.

A todos os amigos que me acompanharam durante a realização deste trabalho pelo carinho e presença constantes.

Aos meus pais Luiz e Anna e a minha irmã Silvana pelo carinho e incentivo de todos esses anos.

Agradecimento especial ao Eduardo pelo carinho e incentivo constante.

## ÍNDICE

<b>Abreviaturas</b> .....	<b>i</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>iv</b>
<b>Summary</b> .....	<b>v</b>
<b>I. Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>II. Material e Métodos</b> .....	<b>25</b>
1. Material vegetal.....	25
2. Condições controladas.....	26
3. Índice de brotação.....	27
4. Avaliação da brotação.....	28
5. Análise Estatística.....	28
6. Experimentos de inibição correlativa.....	29
6.1 Plantas sem ápice e sem gemas laterais.....	29
Experimento 1.....	29
Experimento 2.....	29
6.2 Estacas sem gemas laterais.....	29
6.3 Tamanho do disco X brotação.....	30
7. Experimentos de translocação.....	30
7.1 Interrupção do fluxo no sistema vascular do caule...30	
7.2 Anelamento do caule.....	31
8. Experimentos com hormônios.....	31
8.1 Aplicação em discos foliares.....	31
Experimento 1.....	32
Experimento 2.....	32

Experimento 3.....	32
8.2 Aplicação em estacas.....	32
8.3 Aplicação da auxina em estacas com as gemas laterais removidas.....	33
8.4 Injeções de hormônios.....	34
8.4.1 Em folhas de plantas intactas.....	34
8.4.2 Em folhas isoladas.....	34
8.5 Aplicação de AIA no pecíolo de folhas isoladas.....	35
8.6 Aplicação de AIA e sacarose em plantas sem ápice.....	35
8.7 Pincelamento das folhas com soluções hormonais.....	36
8.8 Aplicação no ápice e pincelamento das folhas com soluções hormonais.....	36
8.9 Efeito de GA <sub>3</sub> e AIA em plantas decapitadas.....	37
8.10 Aplicação de TIBA em plantas intactas.....	37
8.10.1 Aplicação no caule.....	37
8.10.2 Aplicação na folha.....	37
Experimento 1.....	37
Experimento 2.....	38
8.11 Aplicação de AIA na nervura principal da folha.....	38
9. Experimentos de nutrição.....	38
9.1 Solução de Hoagland.....	38
9.2 Meio de cultura.....	39
9.3 Sacarose.....	40
10. Experimentos de nutrição e hormônios.....	41
10.1 Sacarose e AIA em luz e escuro.....	41

11. Efeito da fotossíntese sobre a brotação.....	41
11.1 DCMU.....	41
11.2 Fotoassimilados.....	42
11.3 Folhas intactas mantidas no escuro.....	42
11.4 Plantas intactas mantidas no escuro.....	42
11.5 Folhas isoladas mantidas no escuro.....	42
12. Experimentos de estresse hídrico.....	43
12.1 Estresse hídrico em discos foliares.....	44
12.2 Umidade Relativa baixa e discos foliares.....	44
12.3 PEG 6000.....	45
12.4 Estresse hídrico em plantas intactas.....	45
13. Experimento com sacarose tritiada.....	45
<b>III. Resultados.....</b>	<b>47</b>
1. Experimentos de inibição correlativa.....	47
1.1 Plantas sem ápice e sem gemas laterais.....	47
Experimento 1.....	47
Experimento 2.....	47
1.2 Estacas sem gemas laterais.....	50
1.3 Tamanho do disco X brotação.....	50
2. Experimentos de translocação.....	50
2.1 Interrupção do fluxo no sistema vascular do caule...	50
2.3 Anelamento do caule.....	53
3. Experimentos com hormônios.....	53
3.1 Aplicação em discos foliares.....	53
Experimento 1.....	53
Experimento 2.....	54

Experimento 3.....	57
3.2 Aplicação em estacas.....	57
3.3 Efeito da auxina em estacas com as gemas laterais removidas.....	59
3.4 Injeções de hormônios.....	59
3.4.1 Em folhas de plantas intactas.....	59
3.4.2 Em folhas isoladas.....	62
3.5 Aplicação de AIA no pecíolo de folhas isoladas.....	62
3.6 Aplicação de AIA e sacarose em ápice decapitado.....	62
3.7 Pincelamento das folhas com soluções hormonais.....	65
3.8 Aplicação no ápice e pincelamento das folhas com soluções hormonais.....	70
3.9 Efeito de GA <sub>3</sub> e AIA em plantas decapitadas.....	70
3.10 Aplicação de TIBA em plantas intactas.....	74
3.10.1 Aplicação no caule.....	74
3.10.2 Aplicação na folha.....	74
Experimento 1.....	74
Experimento 2.....	78
3.11 Aplicação de AIA na nervura principal da folha.....	78
4. Experimentos de nutrição.....	78
4.1 Solução de Hoagland.....	78
4.2 Meio de cultura.....	81
4.3 Sacarose.....	81
5. Experimentos de nutrição e hormônios.....	84
5.1 Sacarose e AIA em luz e escuro.....	84
6. Efeito da fotossíntese sobre a brotação.....	88

6.1 DCMU.....	88
6.2 Fotoassimilados.....	88
6.3 Folhas intactas mantidas no escuro.....	88
6.4 Plantas intactas mantidas no escuro.....	88
6.5 Folhas isoladas mantidas no escuro.....	91
7. Experimentos de estresse hídrico.....	91
7.1 Estresse hídrico em discos foliares.....	91
7.2 U.R. baixa e discos foliares.....	91
7.3 PEG 6000.....	94
7.4 Estresse hídrico em plantas intactas.....	98
8. Sacarose tritiada.....	98
<b>IV. Discussão.....</b>	<b>102</b>
<b>V. Bibliografia.....</b>	<b>116</b>

**ABREVIATURAS**

ABA - ácido abscísico

AIA - ácido indolil-3-acético

AIB - ácido indolbutírico

ANA - ácido-1-naftaleno-acético

ATP - Adenosina trifosfato

BA - 6-benziladenina

*B. calycinum* - *Bryophyllum calycinum*

*B. crenatum* - *Bryophyllum crenatum*

*B. daigremontianum* - *Bryophyllum daigremontianum*

*B. fedstchenkoi* - *Bryophyllum fedstchenkoi*

*B. tubiflorum* - *Bryophyllum tubiflorum*

°C - graus Celsius

CAM - Metabolismo Ácido das Crassuláceas

CEPA - ácido 2-cloroetil-fosfônico

cm - centímetro

C.P.A. - Conteúdo Percentual de Água

CPM - Contagens por minuto

Da - Daltons

DCMU - di-clorometiluréia

D.S. - Déficit de Saturação

fig. - figura

g - grama

GA<sub>3</sub> - ácido giberélico

g/Kg - gramas por quilo

h - hora

*K. daigremontianum* - *Kalanchoe daigremontianum*

*K. tubiflorum* - *Kalanchoe tubiflorum*

*L. usitatissimum* - *Linum usitatissimum*

M - Molar

mg - miligrama

mg/l - miligrama por litro

mm - milímetro

mm/h - milímetros por hora

mm de Hg - milímetro de mercúrio

M.M.Fresca - massa de matéria fresca

M.M.F.F. - massa de matéria fresca final

M.M.F.I. - massa de matéria fresca inicial

M.M.Saturada - Massa de Matéria Saturada

M.M.Seca - Massa de Matéria Seca

MPa - mega Pascal

PEG 6000 - polietileno glicol

POPOP - 1,4-bis-[2-C4-metil-5-feniloxazolil)]-benzeno

PPO - 2,5 difeniloxazol

*P. sativum* - *Pisum sativum*

*P. vulgaris* - *Phaseolus vulgaris*

*S. alba* - *Sinapsis alba*

*S. andigena* - *Solanum andigena*

*S. sisymbriifolium* - *Solanum sisymbriifolium*

tab. - tabela

TIBA - ácido triiodobenzóico

*T. paludosa* - *Tradescantea paludosa*

U.R. - Umidade Relativa

% - porcentagem

2,4 D - 2,4-diclorofenoxiacético

$\mu$ l - microlitro

$\mu$ Ci- micro Curie

$\mu$ W  $\text{cm}^{-2}$  - micro Watts por centímetro quadrado

## RESUMO

Estudando os fatores que controlam a brotação das gemas epifilas em *Bryophyllum calycinum*, pode-se verificar que fatores endógenos a planta é que estariam controlando o processo de brotação.

Foi verificado que, com a remoção dos ápices e das gemas laterais ou do floema em duplo anelamento ocorre a liberação das gemas epifilas. Também em folhas destacadas observa-se a brotação das gemas epifilas.

Dos hormônios testados, as auxinas se mostraram efetivas em inibir a brotação das gemas epifilas. Já as citocininas estimularam a brotação das gemas.

A aplicação de sacarose promove a brotação das gemas, indicando que fatores nutricionais estariam influenciando a brotação das gemas.

Tratamentos de estresse hídrico mostraram uma aceleração significativa da brotação.

A explicação para o controle da brotação das gemas epifilas baseia-se na presença de um fator indutor de brotação na folha que promoveria a brotação das gemas epifilas. Este fator indutor poderia até mesmo ser sintetizado pela própria folha. Em plantas intactas, este fator indutor normalmente não permaneceria na folha devido sua saída via floema indo em direção a outras partes da planta.

Portanto, o controle de brotação das gemas epifilas em *B. calycinum* se daria endogenamente pela presença ou ausência do fator promotor de brotação na folha.

### SUMMARY

It was studied the control of the epiphyllous buds development in *Bryophyllum calycinum*. The epiphyllous buds exhibit dormancy and the results suggest that the bud development is controlled by endogenous factors.

The epiphyllous buds immediately grow up when apex and lateral buds are removed, showing an apical dominance on them.

Exogenous hormones like auxins applied on the buds inhibit their growth. On the other hand, exogenous cytokinins stimulate the epiphyllous buds.

The buds develop if the leaf is detached from mother plant or when it is isolated from the floem flux, by an Malpighi ring. So, these evidences indicate that the factor which controls the bud development is present in the vascular system.

In fact, the epiphyllous buds are controlled by a factor present in the leaf. The presence or absence of this factor is that determine the beginning or not of the epiphyllous bud development.

## INTRODUÇÃO

A espécie *Bryophyllum calycinum* Salisb., que pertence à família Crassulaceae, tem sido muito estudada por apresentar um sistema metabólico bastante característico, o Metabolismo Ácido das Crassuláceas. A família caracteriza-se, também, por apresentar espécies com uma intensa capacidade de se reproduzir vegetativamente, e será este o aspecto abordado mais profundamente neste trabalho.

Suas folhas apresentam, nas bordas, regiões com células diferenciadas, capazes de se desenvolver formando uma nova planta. Estas regiões são compostas por grupos de células meristemáticas, denominadas "gemas epifilas", que dependendo de certos fatores ambientais e endógenos se desenvolvem ou permanecem em estado de dormência.

As células meristemáticas das gemas epifilas, se distinguem das células do parênquima foliar por serem bem menores (YARBROUGH, 1932). As gemas exibem uma polaridade dorsiventral, pois ao brotarem apresentam raízes abaxialmente e caule e folhas adaxialmente em relação à superfície da folha (MEHRLICH, 1931). As gemas epifilas ao se desenvolverem formam plântulas idênticas à planta mãe.

Esta espécie é uma herbácea perene, que alcança 1,5 m de altura. Apresenta folhas opostas cruzadas, simples na porção inferior do caule e trifolioladas na porção

superior. A folha é suculenta e possui bordo crenado onde se localizam as gemas epifilas.

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

O mecanismo de controle da brotação das gemas epifilas tem despertado grande interesse dos fisiologistas vegetais desde o início do século.

Já em 1915 com LOEB, várias hipóteses foram propostas a fim de explicar o controle da brotação que foi bastante estudada até a década de 30. Com a descoberta do metabolismo CAM, as pesquisas com esta espécie se concentraram principalmente no processo de fixação de CO<sub>2</sub>, durante as décadas de 50 e 60 quando este processo foi muito estudado.

Até o início dos anos 70 poucos foram os trabalhos relacionados com a fisiologia do desenvolvimento em *B. calycinum*. Entre 1970 e 1980 pode-se observar, através da literatura, que houve uma retomada do interesse pelos mecanismos de controle da brotação das gemas epifilas.

Em algumas espécies da família Crassulaceae, mais especificamente as do gênero *Kalanchoe*, o controle da

brotação das gemas está relacionado ao fotoperíodo as quais estão sujeitas.

Nas espécies *K. daigremontianum* e *K. tubiflorum*, por exemplo, o desenvolvimento das gemas epifilas ocorre quando as plantas estão sob dias longos (fotoperíodo de 14 horas ou mais), ou quando as folhas são destacadas da planta mãe, independentemente do fotoperíodo (KRONER, 1955 apud HENSON & WAREING, 1977).

Entretanto, na espécie *B. calycinum* 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 na brotação das gemas.

Dependendo da espécie estudada, fatores exógenos e mesmo endógenos podem exercer um papel fundamental no controle da brotação. Em 1915, LOEB discutiu a possibilidade de que substâncias formadas em determinados órgãos seriam transportadas para outras partes da planta, onde controlariam a brotação. Assim sendo, a brotação seria influenciada pela planta como um todo.

Foi discutida por REED (1923), a possibilidade de que a própria planta pudesse interferir no processo de brotação. Substâncias produzidas por determinados órgãos seriam as responsáveis pela permanência da gema no estado dormente ou determinariam o início da brotação. Tais substâncias poderiam ser hormônios que estariam atuando

direta ou mesmo indiretamente sobre a brotação das gemas epifilas.

Em Montedioca (1992), foi sugerido que um fator endógeno à planta é que exerceria o papel fundamental no controle da brotação. Foi observado que quanto maior a porção de caule, em estacas, maior era a inibição da brotação das gemas epifilas. Assim sendo, supôs-se que o fator de inibição da brotação estaria localizado no caule da planta.

Os hormônios interferem numa série de processos fisiológicos como a germinação, floração e a brotação de gemas laterais, por isso sua atuação sobre as gemas epifilas foi observada não somente na espécie *B. calycinum*, mas em outras espécies desta mesma família.

A auxina sintética ANA, foi aplicada na espécie fotoperiódica *B. daigremontianum*. Foi observado que esta auxina inibiu a brotação das gemas mesmo sob condições indutivas (HEIDE, 1965a).

Ao se verificar os níveis de AIA em *B. daigremontianum*, foi constatado que estes níveis eram bastante altos em plantas recém transferidas de dias curtos para dias longos (que são indutivos para a brotação das gemas), mas logo após havia uma queda bastante acentuada nos níveis de AIA 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 das gemas epifilas quando aplicado em folhas cultivadas em meio estéril. Também em *Begonia*, a brotação das gemas adventícias foi igualmente inibida pela presença de auxina (HEIDE, 1965b).

Apesar da maioria dos trabalhos mostrar o efeito inibitório da auxina sobre a brotação de gemas, AIA promove em *B. tubiflorum* a brotação das mesmas e o aparecimento de raízes (NANDA & JAIN, 1972).

Já em *B. crenatum* ocorreu uma diminuição do nível de AIA endógeno da folha durante a liberação das gemas, isto é, 2-10 horas após a retirada da folha da planta mãe. Após 12h, foi verificado um aumento gradual e significativo dos níveis de AIA endógeno. Esta última fase corresponderia ao início do desenvolvimento da plântula, a qual levaria à produção de auxina responsável pelo aumento nos níveis de AIA (Slaby et al., 1990)

A giberelina inibe a brotação das gemas epifilas em *B. tubiflorum* sob condições indutivas, isto é, sob dias longos (MARCELLE, 1963). Já em *B. crenatum*, ocorre um aumento da brotação em folhas situadas na porção basal do caule onde, justamente, é encontrada uma maior concentração de giberelina (SEBANEK et al., 1978; OBHLIDALOVA et al., 1979).

Em discos de *B. calycinum*, cultivados em meio estéril com alta concentração de ácido giberélico, foi verificada a inibição da brotação. Já em baixas concentrações de GA<sub>3</sub> (10<sup>-5</sup> M), houve o desenvolvimento das gemas epifilas, formando plântulas com folhas atípicas, sem a presença de gemas epifilas (KARPOFF, 1982). Essa habilidade do ácido giberélico em afetar a forma da folha, em cultura *in vitro*, já foi descrita por FELDMAN & CUTTER (1970)

A aplicação de citocinina em folhas de plantas intactas de *B. calycinum* promoveu a brotação das gemas epifilas, o mesmo ocorreu com *B. daigremontianum* em condições não indutivas (CATARINO, 1965; HEIDE, 1965a).

Em *B. fedtschenkoi*, que não é uma espécie fotoperiódica, foi observado o mesmo comportamento de *B. calycinum*, isto é, em folhas não destacadas da planta-mãe, a aplicação de 50 mg/l de cinetina nas folhas provocou a brotação das gemas (CATARINO, 1965). É importante notar nestes experimentos que o crescimento de raízes nas plântulas foi inibido, desenvolvendo-se apenas 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 (fotoperíodo indutivo), foi observado inicialmente um aumento na concentração de citocininas endógenas, mas logo após esses níveis sofreram uma queda. Sabe-se, também, que plantas cultivadas

continuamente sob dias curtos possuem níveis de citocininas maiores do que plantas cultivadas sob dias longos (HENSON & WAREING, 1977).

Em cultura *in vitro* de folhas de *B. calycinum* ocorre um aumento da brotação quando 6-BA é adicionada ao meio, principalmente na concentração de  $10^{-6}$  M (HOUCK & RIESEBERG, 1983). Segundo YAZGAN & VARDAR (1977), quando cinetina é aplicada em *B. daigremontianum*, pode-se verificar um aumento significativo da brotação das gemas epifilas. Entretanto, quando cinetina foi aplicada juntamente com AIA, observou-se uma diminuição da brotação mostrando um efeito inibitório causado pela adição de AIA.

A brotação das gemas epifilas, assim como todas as gemas vegetativas da planta, parece obedecer a um padrão de desenvolvimento semelhante. Deste modo, podemos inferir ao estudo das gemas epifilas os conhecimentos já obtidos pelos estudos com gemas laterais, pois foram bastante estudadas devido à sua importância econômica.

Em vários trabalhos foi verificada a intenção dos pesquisadores em descobrir os mecanismos que envolvem o controle da iniciação da brotação de gemas laterais, objetivando a obtenção de plantas com uma arquitetura mais favorável ao aumento de produção de ramos, e consequentemente a produção de folhas, flores e frutos.

O padrão de crescimento das angiospermas é determinado, em grande parte, pela influência reguladora exercida pelo

ápice no crescimento e desenvolvimento das gemas (MCINTYRE, 1977). Este fenômeno, conhecido como "Dominância Apical", tem sido alvo de inúmeras pesquisas nos últimos 40 anos.

Para MCINTYRE (1964), a habilidade do ápice em inibir o desenvolvimento das gemas laterais, é devido ao fato da gema apical se formar antes dos meristemas laterais, durante a ontogenia da planta, tendo portanto, maior oportunidade de desenvolver o mecanismo de dominância. O grau de dominância apical varia de espécie para espécie, e da resposta do ápice em relação as condições ambientais, como o fotoperíodo e a disponibilidade de nutrientes e água no solo.

GOEBEL, já no início do século, acreditava que o ápice inibia as gemas laterais devido a competição por nutrientes. A chamada "hipótese nutritiva" foi experimentalmente demonstrada por LOEB em 1918.

A descoberta da auxina e a demonstração de que esta substância poderia substituir o ápice, na manutenção da inibição das gemas quando aplicado em caule decapitado (THIMANN & SKOOG 1933), chamaram a atenção para um possível mecanismo baseado na influência e na interação de fatores hormonais no controle da brotação das gemas.

Estes estudos atingiram seu auge nos anos 60 (BOOTH et al 1962; DAVIES & WAREING, 1965; DAVIES ET AL 1966; SETH & WAREING, 1964, 1967), quando foi demonstrado haver um

intenso fluxo de nutrientes para as regiões com alta concentração de auxina.

Destes nutrientes fariam parte os assimilados da fotossíntese, os açúcares, principalmente a sacarose, e substâncias inorgânicas como nitrogênio, fósforo e potássio.

Assim sendo, a inibição da brotação das gemas laterais se daria devido à falta do suprimento de nutrientes. Esta falta seria causada por um movimento preferencial de nutrientes para regiões onde existem altas concentrações de auxina endógena, isto é, a gema apical ou a região do caule decapitado tratado com auxina exógena. Assim, na região da gema apical haveria um suprimento maior de nutrientes e conseqüentemente, um crescimento bastante intenso.

A inibição correlativa é a supressão do crescimento de certas partes da planta por um composto produzido em outra parte da planta (TOOTILL, 1984). Foi proposto por WENT, no início do século, a teoria de que a auxina produzida no ápice exerceria uma ação direta sobre o transporte de nutrientes inibindo as gemas, assim a auxina produzida no ápice inibiria as gemas numa forma de inibição correlativa. Desde então, muitos cientistas têm colocado em prova tal teoria, sem até hoje conseguirem chegar a alguma conclusão definitiva.

Pesquisas subsequentes revelaram sérias objeções quanto à hipótese da auxina como um inibidor direto do

desenvolvimento das gemas. Embora tenham sido feitas várias tentativas com o objetivo de determinar o "inibidor direto" da brotação das gemas, até o momento não foi obtida nenhuma conclusão. As várias teorias têm sido alvo de críticas, pois nenhuma delas apresenta experimentos conclusivos que fundamentem as hipóteses propostas (MC INTYRE, 1977).

Sabe-se hoje, que todos os aspectos do desenvolvimento vegetal envolvem controle hormonal. Fatores ambientais como temperatura, luz, fotoperíodo e estresse hídrico podem afetar os níveis hormonais, como veremos mais adiante e assim interferir nos processos de desenvolvimento. Assim, a brotação das gemas epifilas, por ser um processo complexo, é controlada pelo menos em parte pelos hormônios. Variações ambientais podem afetar os níveis hormonais e o controle da brotação.

Também, a variação no conteúdo de nutrientes minerais pode afetar o conteúdo hormonal e conseqüentemente, modificar o padrão de desenvolvimento em resposta a esta variação.

Uma evidência, que coloca a disponibilidade de nutrientes como um dos fatores responsáveis pela dominância apical, é a grande influência que substâncias inorgânicas como nitrogênio, potássio e fósforo exercem sobre o grau de desenvolvimento de ramos das várias espécies estudadas (PALMER & PHILLIPS, 1963; MC INTYRE, 1964; TROUGHTON, 1967).

Em ápices decapitados de *P. vulgaris*, tratados com pasta de lanolina e auxina, foi detectado um grande acúmulo de nitrogênio nos entrenós quando comparados com plantas controle. Isto pode significar que o nitrogênio seria um fator indireto, que poderia influenciar a produção de substâncias como as citocininas que estimulariam o desenvolvimento das gemas (PHILLIPS, 1968).

A gema epifila também requer nutrientes para o seu desenvolvimento, portanto a competição por nutrientes constitui também um dos fatores determinantes no processo de controle da brotação destas gemas.

O conteúdo nutricional das plantas pode variar afetado indiretamente pelo ambiente ou por aplicação ou injeção de nutrientes nos tecidos. Ambos os métodos foram muito usados, e de fato a maioria dos experimentos que apoiam a "teoria nutritiva" foi baseada nestes tipos de experimentos.

GREGORY & VEALE (1957, citado por MC INTYRE, 1977) mostraram que, em *L. usitatissimum*, o grau de dominância apical poderia ser precisamente controlado pela variação do suprimento de nitrogênio, mesmo sob condições favoráveis de fotoperíodo e intensidade de luz, o que isenta outro nutriente, o carboidrato, como fator limitante.

Também neste experimento foi mostrado que a inibição dos ramos de plântulas intactas poderia ser completamente eliminada pelo aumento do suprimento de nitrogênio. As

gemas inibidas possuíam um grupo distinto de células, caracterizado por um núcleo grande e pela total falta de mitoses. Com o aumento do suprimento de nitrogênio estas características desapareceram rapidamente (CLINE, 1991). Estas células, correspondem à "zona quiescente", observada em gemas laterais de *T. paludosa* (NAYLOR, 1958). A ocorrência desta zona é característica das gemas inibidas pela dominância apical.

Em *P. sativum*, os níveis de translocação de fósforo marcado radioativamente aumentavam após a liberação da inibição e com o desenvolvimento de gemas laterais (NAKAMURA, 1964).

Um aumento no suprimento de potássio, também se mostrou promotor na liberação inicial de gemas em *S. sisymbriifolium* (WAKHLOO, 1970).

A resposta de crescimento da gema inibida, a um aumento no suprimento de nutrientes, pode ser tão imediata que se torna difícil ou quase impossível a determinação da sequência de ocorrência desses eventos, e assim obter-se a evidência necessária para se distinguir entre causa e efeito (MC INTYRE, 1977).

Se a inibição do desenvolvimento de gemas é o resultado de uma falta de capacidade para competir por nutrientes com o ápice, a liberação da inibição, quando o ápice é removido, deveria ser precedida por um aumento na absorção de nutrientes pela gema (MARTIN, 1987).

O mesmo deveria ocorrer com as gemas epifilas quando as folhas são destacadas da planta-mãe. Isto é, ao ficarem livres da dominância exercida pelo ápice, devido ao destacamento, poderiam absorver nutrientes que induziriam a brotação.

Há todavia, muitas dificuldades em se provar tal hipótese pois na região apical, os nutrientes, na forma em que são transportados, se mantêm em concentrações relativamente baixas devido a sua rápida conversão a compostos necessário para o desenvolvimento do novo ramo. (MC INTYRE, 1977).

O crescimento relativamente rápido da gema na região apical do ramo pode ser atribuído em parte a uma imediata disponibilidade de nutrientes das células meristemáticas adjacentes, os quais como parte do meristema apical, são caracterizadas por uma alta capacidade de acumulação de água e solutos. No caso das gemas epifilas, quando inibidas, não ocorre este tipo de disponibilidade, pois os nutrientes migram para outras partes da planta (CLINE, 1991).

A proximidade da gema apical com o final dos tecidos condutores do ramo principal, do qual o suprimento de nutrientes é obtido, pode também ser um fator significativo (MC INTYRE, 1977).

Existem trabalhos em que é mostrada a relação das conexões vasculares no desenvolvimento das gemas. Foi

postulado que a auxina produzida na região da gema dominante poderia inibir a formação de conexões vasculares na gema inibida, e assim reduzir a capacidade destas gemas de competir com o ápice por nutrientes necessários para escapar da inibição. Entretanto, foram detectadas conexões vasculares bastante desenvolvidas em gemas totalmente inibidas (GOODWIN & CANSFIELD, 1967; WARDLAW & MORTIMER, 1970; PETERSON & FLETCHER, 1973) e a ausência de conexões vasculares em gemas que podem ser liberadas da inibição pela decapitação (MARR & BLASER, 1967), ou pelo aumento do suprimento externo de nutrientes (MC INTYRE & LARMOUR, 1974). Tais observações sugerem que as conexões vasculares não façam parte do mecanismo de controle da dominância apical, embora sua interação com outros fatores possa ter algum significado.

A gema epifila de *B. calycinum* não possui conexão direta entre o sistema vascular da folha e as células meristemáticas, sendo o transporte realizado de célula à célula (YARBROUGH, 1932).

Dos fatores mencionados, o nutricional, parece ser um dos mais importantes. Se a planta estiver deficiente de algum nutriente, mesmo com uma conexão vascular bem desenvolvida, que aumentaria a capacidade de competição por nutrientes, este fato seria insuficiente para liberar a gema da inibição. Por outro lado, um aumento significativo na concentração de nutrientes, entre o tecido condutor e a

gema, poderia causar a brotação da gema mesmo que esta não possuía nenhuma conexão vascular. Se a concentração de nutrientes não for significativa, a presença de uma conexão vascular bem desenvolvida poderia ser um fator que aumentaria a competitividade da gema, e com isso também a liberação da inibição e o crescimento (MC INTYRE 1977).

Na discussão acima, sobre o gradiente nutricional, assume-se que a direção e a taxa de translocação são determinadas principalmente pela concentração de nutrientes. Tem sido sugerido que a síntese de hormônios em meristemas ativos poderia ser o fator determinante na translocação destes nutrientes.

O primeiro pesquisador a sugerir que a auxina contida em grandes quantidades no ápice poderia ser o principal responsável pela capacidade de monopolizar nutrientes para esta região foi WENT (1939). Mais tarde na revisão de PHILLIPS (1975), foi descrito que os resultados evidenciavam o papel da auxina na translocação de nutrientes. Estes experimentos contribuíram para o estudo do mecanismo de transporte de nutrientes, mas não explicavam claramente sua relação com a dominância apical.

Para se poder explicar a dominância apical com base na "hipótese hormonal", que diz ser o hormônio o fator que diretamente estaria envolvido no controle da brotação de gemas, seria preciso provar que a falta de competitividade

das gemas em relação ao ápice seria devido à falta do hormônio, no caso a auxina, na região das gemas laterais.

HALL & HILLMAN (1975) observaram que após 30 minutos da decapitação já é possível detectar a liberação da gema da inibição exercida pelo ápice. De acordo com os resultados obtidos por HILLMAN et al. (1977), os níveis de AIA aumentam nas gemas laterais de plântulas de *P. vulgaris* logo após a remoção do ápice.

O uso de AIA exógeno revela ser o papel da auxina, na brotação de gemas, um fato concreto. HALL & HILLMAN (1975), aplicando 0,1% de AIA em lanolina no ápice de caule decapitado, demonstraram haver uma inibição do desenvolvimento da gemas 1 hora após o início do tratamento. Este resultado relativamente rápido, considerando a distância existente entre o ápice decapitado e a gema lateral, não concorda com os trabalhos que dizem ter a auxina uma velocidade de translocação na parte aérea de 5-15mm/h (VÁLIO in FERRI, 1979).

Sendo assim, a auxina não seria um fator que atuaria diretamente sobre o controle da brotação, isto é, não seria a auxina que estaria saindo do ápice e atuando diretamente sobre as gemas laterais.

Uma parte importante do estudo do complexo processo que envolve a dominância apical é avaliar o papel desempenhado pelo AIA.

Quando se analisa o trabalho de THIMANN (1937), verificamos que a aplicação direta da auxina sobre as gemas inibidas não induz a brotação. Mas se a auxina for aplicada, após as gemas terem sido liberadas da inibição, ocorre um aumento significativo na taxa de crescimento e desenvolvimento das gemas (SACHS & THIMANN, 1967; ALI & FLETCHER, 1970 ; SLABY et al, 1990). Estes trabalhos sugerem que a auxina não estaria envolvida diretamente na indução da brotação das gemas, mas sim no desenvolvimento dos ramos em desenvolvimento.

WHITE et al (1975) relataram que as folhas jovens de *P. vulgaris*, que crescem vigorosamente no ápice, seriam as responsáveis pela supressão do desenvolvimento das gemas laterais, e que apesar do AIA ser encontrado em altas concentrações no ápice, não se pode dizer que esta substância seja a responsável pelo controle da brotação das gemas.

Desde a descoberta de que o uso de TIBA (ácido triiodobenzóico) inibe o transporte de auxina endógena (NIEDERGANG-KARMIEN & SKOOG 1956), esta substância tem sido amplamente usada na elucidação do envolvimento do transporte de AIA num grande número de processos fisiológicos, incluindo a dominância apical. Em alguns casos, foi obtida a inibição do crescimento do ramo principal, e um crescimento limitado das gemas laterais abaixo do ponto de aplicação de TIBA. Mais tarde houve a

abscisão destas gemas laterais, bem como das folhas jovens que estavam se formando no ápice antes do tratamento com TIBA. Segundo WHITE & HILLMAN (1972), autores deste estudo, o uso de substâncias inibidoras do transporte de auxina no estudo da dominância apical é bastante questionável devido aos efeitos secundários que causariam à planta.

Segundo WOOLEY & WAREING (1972), um outro hormônio estudado foi a citocinina, que pela primeira vez foi citado no estudo de dominância apical quando foi observado que adicionado em altas concentrações em cultura de células de tabaco havia uma brotação uniforme, isto é, não ocorria competição entre as gemas (SKOOG & MILLER, 1957).

Cinetina antagoniza o efeito inibitório do AIA em gemas laterais de segmentos de caule de *P. sativum*, e promove o crescimento de gemas laterais quando aplicado na base de ramos de plantas com ápices intactos (WICKSON & THIMANN, 1958).

SACHS & THIMANN (1967) sugeriram que as gemas são inibidas porque são incapazes de sintetizar citocininas. A presença de citocininas em exudatos e extratos de raízes (BURROWS & CARR, 1969), e as observações de que a citocinina é capaz de substituir as raízes na manutenção dos níveis de clorofila, proteínas e ácidos nucléicos (OSBORNE, 1962) sugerem que as raízes são centros de produção de citocininas, e que são transportadas para as folhas, participando do processo de dominância apical.

As observações de muitos pesquisadores (WENT 1939, JACKSON 1956, SMITH & WAREING 1964, LONGMAN 1968) apoiam a idéia de que o crescimento de ramos, e mais especificamente a brotação de gemas, dependem de um fator de natureza hormonal vindo das raízes.

KUMAR & WAREING (1972) verificaram que em *S. andigena*, o controle do desenvolvimento da gema envolve uma interação triplíce entre auxina, giberelina e citocinina, sendo que nesta interação algum fator vindo da raiz deveria estar envolvido.

Sabe-se que o ápice dos ramos e outros tecidos meristemáticos possuem uma competitividade em obter água muito maior do que em outras regiões da planta, onde os tecidos já estão mais amadurecidos. Foi observado também, que os ápices de folhas de *B. calycinum* imersos em água tinham suas gemas epifilas desenvolvidas rapidamente (LOEB, 1918). Em experimentos com *P. sativum* var. 'Alasca', foi observado que quando várias gemas foram liberadas da inibição pela decapitação do ápice, as gemas que se desenvolviam mais tardiamente mostravam uma marcante redução no tamanho e perda de turgor. Estas mudanças sugerem que a água estaria sendo desviada das gemas que se desenvolveram mais tardiamente para os ramos dominantes.

Apesar de várias observações demonstrarem que a competição interna por água exerça um papel importante no

mecanismo de dominância apical, pouca atenção tem sido dada a este fato.

Segundo EPEL et al (1992), os estímulos vindos do meio ambiente podem ter um profundo efeito na regulação do desenvolvimento da planta. A percepção do estímulo ambiental é traduzida a um sinal bioquímico, que é então propagado do sítio de percepção para as células ou tecidos alvo, isto é, para a região onde será exibido seu efeito. No caso das gemas epifilas de *B. daigremontianum*, uma espécie fotoperiódica conhecida, a detecção do comprimento do dia pela planta é que determina ou não o início da brotação.

As moléculas sinalizadoras, que são transportadas do sítio de percepção para um determinado tecido, são geralmente moléculas pequenas. Uma vez no tecido determinado, elas induzem processos bioquímicos em cascata que resultam numa resposta fisiológica apropriada. Esta resposta poderia ser a brotação das gemas epifilas.

Estes sinais bioquímicos reguladores podem mover-se pela via simplástica ou apoplástica, ou ainda pela combinação das duas (EPEL et al, 1992).

Os plasmodesmas têm-se mostrado uma estrutura de junção que pode bidirecionalmente conduzir moléculas com peso molecular de até 1000 Da, (GOODWIN 1983, TERRY & ROBARDS 1987). Auxina, giberelinas, citocininas e ácido abscísico são todas moléculas pequenas com menos de 1000

Da, e portanto poderiam ser translocadas via plasmodesmas (GOLDSMITH 1977, RAVEN 1975, RUBERY & SHEDRAKE 1974).

O transporte de AIA participa de forma bastante significativa na regulação do crescimento e diferenciação celular, por isso é importante entender como o AIA é translocado dentro da planta. Os estudos mostram que o transporte de AIA depende do estágio de desenvolvimento da planta, assim como o órgão e o tecido em questão.

Os estudos mostram que existem 2 sistemas básicos de transporte de AIA em plantas superiores: (1) um transporte polar unidirecional, isto é, um sistema que requer energia pois, movimenta-se de célula em célula, e (2) um sistema passivo não polar via floema, onde a auxina, ligada a outras substâncias transportadas no floema, move-se muito mais rapidamente (TAIZ & ZEIGER, 1991).

O movimento polar de AIA é um processo ativo que requer energia, pois substâncias como o dinitrofenol, que inibe a síntese de ATP, também inibe o transporte polar de AIA (TAIZ & ZEIGER, 1991).

Já o AIA sintetizado em folhas maduras movimenta-se na forma conjugada com outras substâncias do floema, de forma não polar no floema, isto é move-se para cima ou para baixo da folha sintetizante, e com uma velocidade e distância bem maiores do que o transporte polar (TAIZ & ZEIGER, 1991).

O início do processo de floração é bastante semelhante ao início da brotação de gemas. Antes da evocação floral, as células meristemáticas da gema recebem uma mensagem que desencadeia o processo de divisão celular, originando então tecidos e órgãos característicos dos ramos florais, tal como o que ocorre com as gemas vegetativas.

Embora a floração seja um processo ainda em estudo, e sem uma conclusão definitiva sobre como se dá o início do desenvolvimento da gema floral, será feita uma breve explanação que conseqüentemente levará a uma comparação com o processo de brotação das gemas vegetativas, que é o foco de estudo deste trabalho.

A transição floral do meristema é causada por algumas mudanças no fluxo de substâncias químicas, que se movem pelo sistema vascular das folhas para o ápice (BERNIER et al, 1981). Foi verificado que na evocação floral o nível de carboidratos aumenta na região do meristema apical (BODSON & OUTLAW, 1985).

Segundo o trabalho de LEJEUNE et al. (1993), dos carboidratos da seiva do floema analisados, a sacarose foi o açúcar encontrado em maior quantidade. Além disso, foi detectado também, um aumento bastante significativo do fluxo desta sacarose em direção ao ápice durante a transição floral, em plantas de *S. alba* sob fotoperíodo indutivo, isto é sob dias longos.

Esses resultados, indicam que a sacarose pode estar funcionando como mensageiro na evocação floral, concordando assim com o trabalho de BODSON & OUTLAND (1985), em que foi detectada acumulação de sacarose no meristema durante a transição floral. Também em gemas vegetativas, o fator nutricional parece desempenhar um papel importante durante a brotação das gemas, como já foi dito anteriormente.

LEJEUNE et al. (1988), verificaram que o nível de citocinina aumentava sensivelmente em *S. alba* submetida a fotoperíodos indutores de floração, sugerindo então que esta substância faria parte do estímulo que causaria a evocação floral no meristema. Assim, como vários processos do desenvolvimento da planta são dependentes dos hormônios, também durante a transição floral os mesmos estímulos estão presentes atuando de forma decisiva.

Apesar da pouca bibliografia existente relacionada com a formação de plântulas originadas de gemas epifilas, verificou-se até aqui que o controle da brotação de gemas compreende muito mais do que uma simples resposta capaz de desvendar o fator responsável por este processo. Observou-se, que vários componentes podem fazer parte desta resposta complexa, que é um processo vital para a sobrevivência da planta e porque não dizer da própria espécie.

O processo de reprodução vegetativa, por brotação de gemas epifilas, na espécie *B. calycinum* é fundamental para a espécie, uma vez que por algum fator, ainda desconhecido,

esta espécie não produz sementes viáveis, impossibilitando o processo sexuado de reprodução.

O objetivo desta tese foi o de estudar os fatores que controlam a brotação das gemas epifilas em *B. calycinum*. Vários fatores foram abordados durante a realização desta tese. Foi verificado o papel da inibição correlativa e da translocação de nutrientes através da planta em relação a brotação das gemas epifilas, foi investigada também a ação hormonal exercida pela auxina, citocinina, giberelina, etileno e ácido abscísico. Além disso, foram estudados os aspectos relacionados com a nutrição e o efeito do déficit hídrico sobre o controle da das gemas epifilas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Material Vegetal

As plantas utilizadas neste trabalho foram obtidas através de folhas de plantas cultivadas em canteiros, no Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas (SP). As folhas foram destacadas da planta-mãe e mantidas em bandejas forradas com papel de filtro, umedecidas com água destilada e mantidas em câmara de crescimento a 25°C. Após a brotação as plântulas foram transferidas para bandejas com solo adubado até atingirem 10 cm de altura. Então, foram transplantadas para vasos de 3 litros, com solo adubado e areia na proporção de 2:1. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, e regados em dias alternados. Destes vasos, foi obtido o material vegetal necessário para a execução dos experimentos. Este material vegetal foi retirado dos 8 primeiros nós do caule da planta, já que a partir do 8º nó as folhas se tornam trifolioladas.

Nos experimentos com folhas isoladas foram utilizadas folhas com aproximadamente 8 cm de comprimento e 5 cm de largura em suas medidas maiores. Estas folhas foram mantidas em bandejas, forradas com papel de filtro umedecido com as soluções estabelecidas para cada

tratamento. Para evitar dessecação, as bandejas foram envoltas em filme de pvc transparente.

As estacas usadas utilizadas consistiam de segmentos de caule com 10 cm de comprimento e que possuíam apenas 1 folha em sua porção apical.

Os discos foliares foram obtidos com perfurador de rolha, de maneira que apresentassem apenas uma pequena porção da borda foliar e contendo apenas 1 gema epifila. Os discos possuíam 1cm de diâmetro, e eram mantidos em placas de Petri com papel umedecido em água destilada, ou outra substância de acordo com o experimento. Sempre que necessário, umedeciam-se as placas com a mesma solução inicialmente usada nos tratamentos.

Em experimentos com plantas inteiras as plantas utilizadas tinham aproximadamente 30cm de altura e 4 pares de folhas.

Nos experimentos em que foram usadas folhas isoladas, estacas, ou plantas inteiras foram feitas 10 repetições por tratamento. Já para discos foliares, para cada tratamento foram utilizadas 5 placas de Petri, contendo em cada placa 10 discos foliares.

## 2. Condições Controladas:

Os experimentos em condições controladas foram mantidos em câmaras da marca FANEM 347F, à temperatura de

25°C, sob luz branca fluorescente contínua, com uma irradiância de  $320\mu\text{W cm}^{-2}$ . Em alguns casos foi usada câmara FORMA Scientific - modelo 24, também à temperatura de 25°C e sob luz branca fluorescente contínua, com uma irradiância de  $334\mu\text{W cm}^{-2}$ .

### 3. Índice de Brotação

As folhas de *B. calycinum* possuem um número variável de gemas epifilas, 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, foi usada a seguinte relação:

Índice de brotação/folha:

$$I_f = \frac{\text{número de gemas brotadas por folha}}{\text{número total de gemas por folha}}$$

Em experimentos, onde foram usadas placas de Petri com discos foliares, foi usada a seguinte relação:

Índice brotação/placa:

$$I_p = \frac{\text{número de discos brotados por placa}}{10 \text{ (número total de discos por placa)}}$$

#### 4. Avaliação da Brotação

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

Os valores expressos nas tabelas correspondem aos índices obtidos, que foram transformados em porcentagem e calculada a média para cada tratamento. Portanto, cada valor corresponde à porcentagem média de brotação em cada tratamento.

#### 5. Análise Estatística

Nos experimentos onde foram usadas folhas e discos foliares obtiveram-se 10 índices ( $I_f$ ) por tratamento, que foram transformados em porcentagem. Os dados em porcentagem foram transformados em valores angulares, e submetidos a análise de variância simples, e posteriormente ao teste Tukey (5%).

## 6. Experimentos de Inibição Correlativa

### 6.1 Plantas sem ápice e sem gemas laterais

#### Experimento 1:

Foram removidos o ápice caulinar e todas as gemas laterais. Para o controle, as plantas foram mantidas intactas. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação. Após 90 dias as plantas foram avaliadas.

#### Experimento 2:

Plantas mantidas em casa de vegetação tiveram seus ápices removidos. Destas plantas decapitadas, um tratamento teve todas as gemas laterais removidas; no outro tratamento apenas as gemas laterais dos 2 nós logo abaixo da decapitação foram removidas. Para o controle, foram usadas plantas decapitadas, em que as gemas laterais não foram removidas. As avaliações foram feitas após 30 e 60 dias.

### 6.2 Estacas sem gemas laterais

Foram removidas todas as gemas laterais das estacas. Para o controle, as gemas laterais não foram removidas. As estacas foram mantidas em bandejas, com papel umedecido em água destilada e em câmara de crescimento. As gemas laterais que se desenvolviam nas estacas foram sempre

retiradas, com excessão do controle, sendo por isso necessárias observações diárias. No caso do aparecimento de raízes na base das estacas, estas eram removidas imediatamente em ambos os tratamentos. As avaliações foram feitas 5, 8 e 11 dias após o início do experimento.

### 6.3 Tamanho do disco X brotação

Foi observado o padrão de brotação de discos foliares de diversos diâmetros. Os diâmetros variaram de 0,4 a 1,2 cm, e foram colocados sob luz e escuro distintamente. Após 7 dias, os tratamentos foram avaliados.

## 7. Experimentos de Translocação

### 7.1 Interrupção do fluxo no sistema vascular do caule

A interrupção do fluxo em plantas inteiras foi conseguido com um corte, em bisel, até o centro do caule. O corte foi exaustivamente lavado com água destilada, e colocada uma lamínula de vidro no local para manter os tecidos separados. No primeiro tratamento a folha oposta ao corte foi retirada, bem como as gemas laterais existentes. No segundo tratamento, foram retiradas as folhas e gemas laterais imediatamente abaixo do corte. Após 60 dias de tratamento, foi feita a avaliação.

## 7.2 Anelamento do caule

Em plantas inteiras foi retirada, na forma de anel, uma porção externa do caule incluindo o floema. Este procedimento é conhecido como Anel de Malpighi. O primeiro tratamento consistiu de um anelamento do caule e a retirada de uma das folhas com suas respectivas gemas laterais, do nó imediatamente acima do anel. No outro tratamento, foram feitos 2 anéis entre um determinado nó, isolando completamente a folha da influência do floema. Também neste determinado nó, foi retirada apenas uma das folhas juntamente com suas gemas laterais correspondentes. Os cortes feitos, em ambos os tratamentos, foram lavados com água destilada. Os resultados foram avaliados após 30 dias.

## 8. Experimentos com Hormônios

### 8.1 Aplicação em discos foliares

Discos foliares foram mergulhados nas soluções hormonais, e submetidos a uma pressão de vácuo de 400mm de Hg, durante 5 minutos. Em seguida, foram retirados das soluções e colocados em placa de Petri, e mantidos em

câmara de germinação. Avaliações foram feitas após 5, 8 e 11 dias após o início dos tratamentos.

Tratamentos:

Experimento 1: GA<sub>3</sub>, BA, AIA e ABA, respectivamente nas concentrações de: 10<sup>-3</sup> M, 10<sup>-5</sup> M e 10<sup>-7</sup> M e o controle, com água destilada.

Experimento 2: AIA, 2,4 D e AIB, respectivamente nas concentrações de : 10<sup>-3</sup> M, 10<sup>-4</sup> M e 10<sup>-5</sup> M e o controle, com água destilada.

Experimento 3: CEPA 100mg/l, e água destilada para o controle.

## 8.2 Aplicação em estacas

Foram feitos vários tratamentos combinados, aplicando-se no ápice decapitado da estaca pasta de lanolina e AIA (1%) e as bases dessas estacas foram imersas em soluções hormonais, de várias concentrações:

Tratamentos:

ÁPICE:

Lanolina + AIA

Lanolina + AIA

Lanolina + AIA

BASE:

Água Destilada

BA 10<sup>-3</sup> M

BA 10<sup>-5</sup> M

Lanolina + AIA	BA $10^{-7}$ M
Lanolina	BA $10^{-3}$ M
Lanolina	BA $10^{-5}$ M
Lanolina	BA $10^{-7}$ M
Lanolina	GA <sub>3</sub> $10^{-4}$ M
Lanolina	GA <sub>3</sub> $10^{-4}$ M + 6-BA $10^{-5}$ M
Lanolina + AIA	GA <sub>3</sub> $10^{-4}$ M + 6-BA $10^{-5}$ M
Lanolina (controle)	Água Destilada (controle)

A base das estacas foram mantidas durante todo o experimento imersas nas soluções, e a pastas de lanolina e AIA foram trocadas a cada 3 dias, sempre retirando-se um pedaço pequeno do ápice em cada troca. O experimento foi realizado em câmara FORMA, e os resultados avaliados 5, 8 e 11 dias após o início do tratamento.

### 8.3 Efeito da auxina em estacas com as gemas laterais removidas

Foram removidas, com bisturi, as gemas laterais das estacas e as bases foram mergulhadas em soluções de auxinas. Para o controle, foi utilizada apenas água

destilada. Diariamente, as gemas laterais e as raízes que surgiam foram removidas. O experimento foi mantido em câmara FORMA. As avaliações ocorreram 5, 8, 11 dias após o início dos tratamentos.

Os tratamentos aplicados foram AIA, 2,4D e AIB nas concentrações de:  $10^{-3}$  M,  $10^{-4}$  M e  $10^{-5}$  M respectivamente.

#### 8.4 Injeções de Hormônios

##### 8.4.1 Em folhas de plantas intactas

Foi injetado 1 ml de soluções hormonais de IBA, Cinetina,  $GA_3$ , ABA, CEPA e Água destilada (controle) por folha, na concentração de  $10^{-3}$ M. Para cada tratamento foram usados 10 vasos, e em cada planta foram utilizadas 4 folhas, sendo que cada folha pertencia a um nó distinto do caule. No controle foi injetado apenas água destilada. Avaliação dos resultados foi feita após 60 dias.

##### 8.4.2 Em folhas isoladas

Foram utilizadas 10 folhas isoladas por tratamento, em cada folha foi injetado 1ml de soluções hormonais de IBA, Cinetina, CEPA,  $GA_3$ , ABA, TIBA e Água destilada (controle), na concentração de  $10^{-3}$  M. As folhas foram mantidas em câmaras de germinação, dentro de bandejas com

papel umedecido, e com uma cobertura de plástico transparente para evitar dessecação. Avaliação foi feita após 5, 10, 15 e 25 dias.

#### 8.5 Aplicação de AIA no pecíolo de folhas isoladas

Foi aplicada pasta de lanolina e AIA, na concentração de 1%, na base dos pecíolos de folhas isoladas. Para o controle, foi utilizada somente lanolina. As folhas foram mantidas em bandejas, em câmara de germinação, e avaliadas após 5, 8 e 11 dias.

#### 8.6 Aplicação de AIA e sacarose em plantas sem ápice

Foram decapitados os caules e removidas as gemas laterais existentes. Com o auxílio de um pequeno tubo de borracha flexível, com 6 cm de comprimento e 0.6 cm de diâmetro, colocado no caule decapitado, foi possível aplicar soluções hormonais de AIA ( $10^{-4}M$ ), Sacarose (2%), AIA + Sacarose e Controle (água destilada) em contato direto com o sistema vascular da planta, e observar o comportamento da brotação das gemas epifilas. A cada 3 dias, as soluções hormonais eram trocadas e uma pequena porção do ápice retirada. As gemas laterais, que brotavam no decorrer do experimento, eram retiradas logo após serem identificadas. As plantas foram avaliadas 20, 30 e 45 dias após o início do tratamento.

### 8.7 Pincelamento das folhas com soluções hormonais

Plantas intactas e plantas decapitadas tiveram suas gemas laterais removidas. O 1º par de folhas logo abaixo do ápice, ou da decapitação foi pincelado com soluções hormonais de BA, AIA e Controle (água destilada). Foi adicionada, em cada solução, 1 gota de Tween 20. A concentração hormonal usada foi de  $10^{-4}$  M. O pincelamento foi repetido em dias alternados, durante 30 dias. Os tratamentos foram avaliados após 15, 30 e 45 dias.

### 8.8 Aplicação no ápice e pincelamento das folhas com soluções hormonais

Foi realizada a combinação dos dois tratamentos acima mencionados. Foram aplicadas soluções hormonais, em tubos no ápice decapitado, de AIA, BA, AIA + BA e água destilada. O pincelamento do 1º par de folhas foi feito com BA, AIA e água destilada. Neste caso, foram utilizadas apenas plantas decapitadas e com as gemas laterais removidas. A concentração hormonal usada foi de  $10^{-4}$  M, e as avaliações foram feitas 15, 30 e 45 dias após o início dos tratamentos.

## 8.9 Efeito de GA<sub>3</sub> e AIA em plantas decapitadas

Foram removidos o ápice e as gemas laterais, e aplicados na região do ápice removido, GA<sub>3</sub> ou AIA em pasta de lanolina na concentração de 1%. No controle foi aplicada somente lanolina. A cada 7 dias houve a remoção da pasta, e a reaplicação das respectivas substâncias. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, e as avaliações foram feitas após 15, 30 e 45 dias.

## 8.10 Aplicação de TIBA em plantas intactas

### 8.10.1 Aplicação no caule

Um anel de pasta de lanolina e TIBA, na concentração de 0.25%, foi feito no entrenó abaixo do ápice de plantas intactas. No controle foi usada apenas lanolina. As plantas foram mantidas em casa de vegetação. O experimento foi avaliado após 60 dias do início do tratamento.

### 8.10.2 Aplicação na folha

Experimento 1: Em folhas de plantas intactas, foi aplicado um anel de pasta de lanolina e TIBA, na concentração de 0.25%, ao longo de toda a borda da folha, a uma distância de 0.5 cm das gemas epifilas. Para o controle foi utilizada

apenas lanolina. Foram tratadas 4 folhas por planta, sendo 1 folha por nó. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, e a avaliação foi feita após 60 dias.

Experimento 2: Foi repetido o mesmo procedimento anterior, mas após 24 dias do início do tratamento as folhas foram destacadas, e colocadas em bandejas, com papel de filtro umedecido com água destilada. Estas bandejas foram mantidas em câmara de germinação, até o final do experimento. As avaliações foram feitas 15, 25 e 35 dias após o início do tratamento em câmara de germinação.

#### 8.11 Aplicação de AIA na nervura principal da folha

Foi retirada, da região central da folha, uma porção de 1cm<sup>2</sup> contendo a nervura principal. Foi aplicada nesta região, pasta de lanolina e AIA, e no controle foi aplicada somente lanolina. Avaliações foram feitas a 5, 8 e 11 dias após o início do tratamento.

### 9. Experimentos de Nutrição

#### 9.1 Solução de Hoagland

Vasos foram regados com 100ml de solução de Hoagland normal (HOAGLAND & ARNON, 1938), e 10 vezes concentrada, 2

vezes por semana durante 90 dias. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação. Para o controle, usou-se apenas água destilada. Avaliações foram feitas 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento. Após este período as folhas foram destacadas, colocadas em bandejas, e mantidas em câmaras de germinação. Avaliações foram feitas 3 e 5 dias após a transferência para câmara de germinação.

## 9.2 Meio de cultura

Foram inoculados discos foliares (esterilizados como indica o protocolo de esterilização) em meio B5 (GAMBORG et al., 1968), modificado com as vitaminas de MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), contendo GA<sub>3</sub>, AIA, BA e ABA na concentração de 10<sup>-3</sup> M. Foram usados também meio B5 sem sacarose, meio B5 com o dobro da concentração normal de sacarose e para o controle (meio B5 sem hórmonios).

A giberelina usada foi adicionada depois do meio ser autoclavado.

As placas foram mantidas em câmara de germinação, e os discos foliares foram avaliadas após 30 dias.

### Protocolo de esterilização:

1 - Lavar folhas de *B. calycinum* sob água corrente, com escova de cerdas longas e macias.

Sob câmara de fluxo laminar:

2 - Mergulhar as folhas inteiras em solução de hipoclorito de sódio (p.a. 5 - 6%), na concentração de 10% preparado com água destilada autoclavada.

3 - Manter em agitador por 10 minutos, coberto com filme de pvc.

4 - Retirar as folhas da solução de hipoclorito e lavar 3 vezes com água destilada autoclavada.

6 - Com perfurador de rolha, autoclavado e flambado, proceder ao corte dos discos foliares.

### 9.3 Sacarose

Foram testados discos foliares, folhas e estacas com solução de sacarose. No caso de folhas isoladas e estacas, o pecíolo e a respectiva base da estaca foram mergulhados em solução de sacarose. Para discos foliares, foram usadas placas de Petri com papel de filtro umedecido com solução de sacarose. A concentração da solução de sacarose usada, para todos os tratamentos, foi de 2%, e os tratamentos

foram mantidos em câmara FORMA. Avaliações foram feitas após 3, 5, 8 e 11.

## 10. Experimentos de Nutrição e Hormônios

### 10.1 Sacarose e AIA em luz e escuro

Discos foliares foram mantidos na luz e no escuro em câmara de germinação FORMA, com tratamentos de sacarose (2%), AIA ( $10^{-4}$  M), Sacarose (2%) e AIA ( $10^{-4}$  M) e controle (água destilada).

As avaliações foram feitas diariamente, durante 7 dias.

## 11. Efeito da Fotossíntese sobre a Brotação

### 11.1 DCMU

Em plantas intactas foi injetado diretamente na folha, com o auxílio de uma seringa, 1ml de DCMU, um conhecido inibidor de fotossíntese, na concentração de 100mg/l. Em cada planta, 4 folhas pertencentes a nós diferentes na porção central do caule sofreram injeções de DCMU. Para o controle, usou-se apenas água destilada. Avaliações foram feitas após 30 e 60 dias.

### 11.2 Fotoassimilados

Em plantas intactas foram injetados sacarose (5%), frutose (5%), ácido cítrico (1%) ou glicina (2%). No controle, foi usada somente água destilada. Também em cada planta foi injetado 1ml das soluções em 4 folhas de nós distintos. A avaliação ocorreu no 30º dia após o início do tratamento.

### 11.3 Folhas intactas mantidas no escuro

Plantas mantidas em casa de vegetação tiveram algumas de suas folhas cobertas com papel alumínio, para que as folhas fossem mantidas no escuro, evitando que fizessem fotossíntese. Avaliações foram feitas a cada 20 dias, durante 60 dias.

### 11.4 Plantas intactas mantidas no escuro

Plantas intactas foram mantidas em câmara escura por 60 dias. As plantas foram avaliadas a intervalos de 20 dias.

### 11.5 Folhas isoladas mantidas no escuro

Folhas amareladas (senescentes), obtidas no 40º dia do experimento acima mencionado, foram colocadas em bandejas com papel de filtro umedecido em água destilada, e mantidas em câmara de germinação FORMA. As avaliações foram feitas após 5, 8 e 11 dias.

## 12. Experimentos de estresse hídrico

Testes preliminares foram feitos para a realização dos experimentos de estresse hídrico. Através da Massa de Matéria Fresca e da Massa de Matéria Seca, obtidas da média de 100 discos foliares, calculou-se o Conteúdo Percentual de Água da folha através da fórmula:

Conteúdo Percentual de Água :

$$\text{C.P.A.} = \frac{\text{M.M.Fresca} - \text{M.M.Seca}}{\text{M.M.Fresca}} \times 100$$

Com a imersão de discos foliares em água, até a estabilização do peso, obteve-se a Massa de Matéria Saturada do disco foliar, que seria o conteúdo máximo de água que a folha poderia conter. Com este dado, foi calculado o Déficit de Saturação, através da fórmula:

Déficit de Saturação :

$$D.S. = \frac{M.M.Saturada - M.M.Fresca}{M.M.Saturada - M.M.Seca} \times 100$$

### 12.1 Estresse hídrico em discos foliares

Discos foliares foram deixados sobre papel de filtro seco e ao ar livre sob bancada de laboratório, até desidratarem e atingirem 70, 50 e 35% respectivamente, do conteúdo percentual de água inicial. Logo após, foram colocados em placa de Petri com papel umedecido com água destilada, e colocados em câmara FANEM. O controle corresponde a discos foliares recém cortados. Avaliações diárias foram feitas até o 7º dia do início do tratamento.

### 12.2 Umidade Relativa baixa e discos foliares

Discos foliares foram mantidos em ambiente com U.R. controlada, obtida pela mistura de água e ácido sulfúrico, em determinadas concentrações, e que foram mantidas em ambiente fechado (FRANCO & BACCHI, 1960). Foram usadas as umidades relativas de 10, 50 e 100%. Determinou-se a massa de matéria fresca inicial, no 3º dia e final (5º dia); a

porcentagem de brotação, e a porcentagem de água do disco foliar no 3° e 5° dias após o início do tratamento.

### 12.3 PEG 6000

Discos foliares permaneceram durante todo o experimento submersos em uma solução de PEG 6000 (polietileno glicol), na concentração de 288g/Kg água. Esta concentração corresponde, à temperatura de 25°C, a cerca de 1 MPa. O controle foi feito apenas com água destilada. Foram determinados a massa de matéria fresca inicial, a massa de matéria fresca final, a porcentagem de brotação e o conteúdo percentual de água no 5° dia após o início da brotação.

### 12.4 Estresse hídrico em plantas intactas

Plantas intactas foram mantidas totalmente sem regas, durante 60 dias, em casa de vegetação. O controle foi regado 2 vezes por semana. As avaliações foram feitas a cada 20 dias.

### 13. Experimentos com Sacarose Tritiada

Foram feitos 2 anéis, acima e abaixo de um determinado nó, isolando a folha do fluxo do floema vindo do caule.

Foram injetados no pecíolo da folha, 10 $\mu$ l de sacarose tritiada, solubilizada em água destilada, correspondendo a radiação de 2 $\mu$ Ci. No controle foi injetada apenas água destilada. Após 24h, as amostras foram coletadas e separadas em pecíolo, caule superior e caule inferior. As amostras foram sonicadas em Polytron, com etanol 100%. A esta solução, foi adicionado coquetel de cintilação (descrito abaixo) e as leituras foram feitas em cintilômetro LS 6000 - Beckman.

Coquetel de cintilação:

-PPO 5g

-POPOP 100mg

-Tolueno 1000ml

A sacarose tritiada foi injetada em apenas 1 folha por planta. Foram realizadas 10 repetições para cada tratamento. Os dados estão apresentados em CPM que corresponde à radiação emitida pela amostra durante 1 minuto.

## RESULTADOS

### 1. Experimentos de Inibição Correlativa

#### 1.1 Plantas sem ápice e sem gemas laterais

##### Experimento 1:

Com a remoção do ápice e de todas as gemas laterais, houve a liberação das gemas epifilas da dormência. Após 90 dias da remoção do ápice e das gemas laterais houve 100% de brotação das gemas epifilas (fig. 1). No controle não houve brotação.

##### Experimento 2:

No tratamento 1, onde foram retiradas todas as gemas laterais, e no tratamento 2, onde apenas as gemas laterais dos 2 nós logo abaixo da decapitação foram removidas, foi observada a brotação das gemas epifilas 30 dias após o tratamento. No controle não foi observada a brotação das gemas epifilas (tab. 1).

Após 60 dias, foi verificado em todos os pares de folhas analisados um aumento estatisticamente significativo na brotação das gemas epifilas do tratamento 1, quando comparados com o tratamento 2 (tab. 1). No controle não foi observado o desenvolvimento das gemas epifilas, mas as gemas laterais se desenvolveram vigorosamente.



Figura 1 - Promoção da brotação em gemas epifilas de *B. calycinum* devido a remoção do ápice e das gemas laterais.

A - Controle

B - Remoção de ápice e gemas laterais

**Tabela 1** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* no 1°, 2°, 3° e 4° pares de folha abaixo do ápice decapitado. No tratamento 1, todas as gemas laterais foram removidas, e no tratamento 2, apenas as gemas laterais dos 2 nós logo abaixo da decapitação foram removidos. Para o controle foram usadas plantas apenas decapitadas. As avaliações foram feitas 30 e 60 dias após o início do experimento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO								
PAR FOLHA	DIAS							
	30				60			
	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°
TRAT.1	46a	3a	3a	6a	56a	20a	27a	40a
TRAT.2	29b	8a	10a	5a	26b	13b	15b	11b
Controle	0c	0b	0b	0b	0c	0c	0c	0c

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## 1.2 Estacas sem gemas laterais

No tratamento em que as gemas laterais foram mantidas, foi verificado um rápido desenvolvimento destas gemas. Quanto à brotação das gemas epifilas, foi observado que no tratamento em que as gemas laterais foram removidas houve uma porcentagem de brotação significativamente maior do que no tratamento onde as gemas laterais foram deixadas (tab. 2).

## 1.3 Tamanho do disco X brotação

Foi observado que discos foliares mantidos no escuro apresentam uma porcentagem de brotação significativamente menor do que o tratamento mantido na luz. No escuro, discos foliares com 0,8 cm de diâmetro apresentaram apenas 50% de suas gemas epifilas brotadas quando comparadas ao controle. Discos foliares, abaixo de 0,5 cm de diâmetro, não sobreviveram aos tratamentos (tab. 3).

## 2. Experimentos de Translocação

### 2.1 Interrupção do fluxo no sistema vascular do caule

Após 60 dias foi verificado, no tratamento em que foi retirada a folha oposta e no que foram retirados as folhas abaixo ao corte, a cicatrização da região do tecido cortado e a separação deste do caule. Assim, houve o isolamento da

**Tabela 2** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas em estacas de *B. calycinum*. No tratamento 1 (controle), as gemas laterais não foram removidas. No tratamento 2, foram removidas todas as gemas laterais das estacas. Avaliações foram feitas após 5, 8 e 11 dias após o início do tratamento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
TRAT. 1	1	4b	6b
TRAT. 2	0	47a	66a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 3** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum*, em discos foliares de diversos diâmetros, mantidos na luz e no escuro. A avaliação dos resultados foi feita 7 dias após o início do experimento.

DIÂMETRO (cm)	PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO	
	LUZ	ESCURO
1,2	100aA	80bA
0,9	100A	90A
0,8	100aA	50bB
0,7	40aB	0bC
0,5	-	0C
0,4	-	-

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Letras minúsculas - comparação entre colunas.

Letras maiúsculas - comparação entre linhas.

Obs. discos foliares com 0,5 e 0,4 cm de diâmetro na luz e 0,4 cm no escuro apodreceram durante o experimento.

folha do fluxo de nutrientes vindo do ápice caulinar, como era o objetivo deste experimento. Apesar disto, não houve a brotação das gemas epifilas dos tratamentos em questão. As gemas mantiveram-se em estado dormente.

### 2.3 Anelamento do caule

Após 30 dias, foi verificado que no tratamento em que foi feito apenas 1 anelamento, não houve a brotação de nenhuma gema epifila das folhas analisadas. Entretanto, no tratamento em que foram 2 anéis, acima e abaixo da folha, foi observado que a folha isolada por estes anéis teve 100% de suas gemas epifilas brotadas.

## 3. Experimentos com Hormônios

### 3.1 Aplicação em discos foliares

#### Experimento 1:

No 5º dia após o início do experimento, em que discos foliares foram mergulhados nas soluções hormonais de GA<sub>3</sub>, BA, AIA e ABA, respectivamente nas concentrações de: 10<sup>-3</sup> M, 10<sup>-5</sup> M e 10<sup>-7</sup> M e o controle, com água destilada, foi detectada a inibição da brotação das gemas epifilas nas concentrações mais altas de hormônios, isto é 10<sup>-3</sup> M, com exceção do tratamento com GA<sub>3</sub>. Esta se manteve estatisticamente significativa até o final do experimento. A maior inibição

foi dada por AIA  $10^{-3}$  M. Os demais tratamentos se comportaram como o controle (tab. 4).

#### Experimento 2:

No 5º dia de experimento, em que discos foliares foram tratados com AIA, 2,4 D e AIB, respectivamente nas concentrações de :  $10^{-3}$  M,  $10^{-4}$  M e  $10^{-5}$  M e o controle, com água destilada, foi observada inibição total da brotação das gemas epifilas, nos tratamentos com 2,4 D e AIB. Com AIA  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  M, apesar de apresentarem brotação das gemas, ainda mostraram inibição estatisticamente significativa quando comparados ao controle. O tratamento com AIA  $10^{-5}$  M comportou-se como o controle, isto é, com aproximadamente 50% de suas gemas brotadas.

No 8º dia foi verificado, que com 2,4D e AIB, as gemas ainda continuavam inibidas por estes hormônios. Com AIA foi observada a liberação da brotação nas concentrações mais baixas, isto é  $10^{-4}$  M e  $10^{-5}$  M.

Ao final do experimento, foi mantido o padrão de brotação da avaliação anterior, isto é, a inibição exercida pelo 2,4D e AIB em todas as concentrações usadas, e pelo AIA  $10^{-3}$  M. Em concentrações mais baixas de AIA, foi observado que a porcentagem de brotação das gemas epifilas era semelhante ao controle. Na concentração mais alta de 2,4D e AIB houve o apodrecimento dos discos foliares (tab. 5).

**Tabela 4** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares, tratados com soluções hormonais de GA<sub>3</sub>, BA, AIA e ABA, respectivamente nas concentrações de: 10<sup>-3</sup> M, 10<sup>-5</sup> M e 10<sup>-7</sup> M e o controle com água destilada. Avaliações foram feitas após 5, 8 e 11 dias após o início dos tratamentos.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
GA <sub>3</sub> 10 <sup>-3</sup> M	57a	70a	80a
GA <sub>3</sub> 10 <sup>-5</sup> M	60a	78a	75a
GA <sub>3</sub> 10 <sup>-7</sup> M	54a	80a	80a
BA 10 <sup>-3</sup> M	13b	25b	40b
BA 10 <sup>-5</sup> M	54a	77a	97a
BA 10 <sup>-7</sup> M	61a	78a	97a
AIA 10 <sup>-3</sup> M	03b	04b	10c
AIA 10 <sup>-5</sup> M	49a	79a	100a
AIA 10 <sup>-7</sup> M	55a	87a	100a
ABA 10 <sup>-3</sup> M	18b	27b	43b
ABA 10 <sup>-5</sup> M	45a	89a	100a
ABA 10 <sup>-7</sup> M	57a	85a	100a
CONTROLE	58a	79a	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 5** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares, tratados com AIA, 2,4 D e AIB, respectivamente nas concentrações de :  $10^{-3}$  M,  $10^{-4}$  M e  $10^{-5}$  M e o controle com água destilada. As avaliações foram feitas 5, 8 e 11 dias após o início do experimento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
AIA $10^{-3}$ M	6b	24b	30c
AIA $10^{-4}$ M	16b	78a	93a
AIA $10^{-5}$ M	46a	84a	86a
2,4D $10^{-3}$ M	0c	0c	-
2,4D $10^{-4}$ M	0c	0c	0d
2,4D $10^{-5}$ M	0c	0c	0d
AIB $10^{-3}$ M	0c	0c	-
AIB $10^{-4}$ M	0c	14c	56b
AIB $10^{-5}$ M	0c	0c	0d
CONTROLE	54a	82a	88a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Obs : discos foliares tratados com 2,4D e AIB na concentração de  $10^{-3}$  M apodreceram no final do experimento.

### Experimento 3:

No 5º dia do experimento, em que discos foliares foram tratados com CEPA 100mg/l e água destilada para o controle, foi verificada a inibição da brotação das gemas epifilas exercida pelo CEPA, mas esta inibição não se manteve até o final do experimento (tab. 6).

#### 3.2. Aplicação em estacas

No início do experimento não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos.

A partir do 8º dia, foi verificada a promoção da brotação em estacas tratadas com AIA no ápice e água destilada na base. Também houve promoção em estacas com BA  $10^{-7}M$  na base com e sem AIA no ápice.

Foi observada inibição da brotação das gemas quando AIA foi aplicado no ápice e uma mistura de GA<sub>3</sub> e BA aplicada na base da estaca. Os resultados dos demais tratamentos foram semelhantes ao controle. Nos tratamentos com solução de BA  $10^{-3}M$  na base houve o apodrecimento do caule.

Ao final do experimento, foi verificada promoção da brotação nos tratamentos com AIA no ápice e água destilada ou BA (em todas as concentrações usadas) na base das estacas.

**Tabela 6** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares, tratados com CEPA 100mg/l e água destilada para o controle. As avaliações foram feitas 5, 8 e 11 dias após o início do experimento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
CEPA	40b	93	100
CONTROLE	63a	84	100

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Também houve promoção da brotação em estacas com BA  $10^{-7}$  M na base e lanolina no ápice. Nos tratamentos com lanolina no ápice e GA<sub>3</sub>  $10^{-4}$  M na base e com a mistura de GA<sub>3</sub> e BA na base e o ápice com AIA, houve inibição da brotação das gemas epifilas. Os resultados dos demais tratamentos não mostraram diferenças significativas em relação ao controle (tab. 7).

### 3.3. Efeito da auxina em estacas com as gemas laterais removidas

Inicialmente, foi verificada inibição total da brotação das gemas epifilas em estacas tratadas com AIA e 2,4D, quando comparadas ao controle. Com AIB ocorreu brotação somente na concentração de  $10^{-4}$  M. Com 2,4D nas concentrações de  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e ao final  $10^{-5}$  M, foi observado o apodrecimento da estaca.

Este padrão de brotação foi mantido até o final do experimento. Isto é, os tratamentos com AIA, 2,4D e AIB inibiram a brotação das gemas epifilas, com exceção do tratamento com AIB  $10^{-4}$  M que se mostrou semelhante ao controle (tabela 8).

### 3.4. Injeções de hormônios

#### 3.4.1 Em folhas de plantas intactas

Após 60 dias, não foi observada a brotação de nenhuma gema epifila nos tratamentos realizados.

**Tabela 7** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em estacas com vários tratamentos combinados. Foi aplicada no ápice decapitado pasta de lanolina e AIA 1% e as bases dessas estacas foram mergulhadas em soluções hormonais de GA<sub>3</sub>, BA e AIA, em várias concentrações. Para o controle foi usado lanolina e água destilada. As avaliações foram feitas 5, 8 e 11 dias após o início do experimento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO				
Tratamentos		Dias		
		5	8	11
ÁPICE	BASE			
AIA	Água destilada	17	49a	83a
AIA	BA 10 <sup>-3</sup> M	15	-	-
AIA	BA 10 <sup>-5</sup> M	16	26b	72a
AIA	BA 10 <sup>-7</sup> M	25	55a	86a
LANOLINA	BA 10 <sup>-3</sup> M	12	-	-
LANOLINA	BA 10 <sup>-5</sup> M	18	24b	51b
LANOLINA	BA 10 <sup>-7</sup> M	18	59a	77a
LANOLINA	GA <sub>3</sub> 10 <sup>-4</sup> M	20	27b	30c
LANOLINA	GA <sub>3</sub> 10 <sup>-4</sup> M + BA 10 <sup>-5</sup> M	23	29b	48b
AIA	GA <sub>3</sub> 10 <sup>-4</sup> M + BA 10 <sup>-5</sup> M	12	13c	23c
LANOLINA	Água destilada	16	31b	61b

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.  
Obs : a ausência de dado indica que houve o apodrecimento do caule.

**Tabela 8** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em estacas que tiveram as gemas laterais removidas e as bases mergulhadas em soluções de auxinas. Para o controle foi utilizada apenas água destilada. As avaliações ocorreram 5, 8, 11 dias após o início dos tratamentos.

Os tratamentos aplicados foram AIA, 2,4 D e AIB, respectivamente nas concentrações de  $10^{-3}$  M,  $10^{-4}$  M e  $10^{-5}$  M respectivamente.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
AIA $10^{-3}$ M	0b	0b	0b
AIA $10^{-4}$ M	0b	0b	0b
AIA $10^{-5}$ M	0b	0b	0b
2,4D $10^{-3}$ M	0b	-	-
2,4D $10^{-4}$ M	0b	-	-
2,4D $10^{-5}$ M	0b	0b	-
AIB $10^{-3}$ M	0b	0b	0b
AIB $10^{-4}$ M	10a	17a	17a
AIB $10^{-5}$ M	0b	0b	3b
CONTROLE	5a	11a	11a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Obs : a ausência de dado indica que houve o apodrecimento do caule.

Mudanças morfológicas ocorreram no tratamento com GA<sub>3</sub>, onde o caule se tornou alongado acima das folhas injetadas. Houve também neste tratamento a brotação das gemas laterais, formando novos ramos.

#### 3.4.2 Em folhas isoladas

Os tratamentos aplicados exerceram inibição da brotação das gemas, com exceção do tratamento com CEPA que exibiu um padrão de brotação semelhante ao do controle. Os tratamentos com ABA e TIBA provocaram o apodrecimento das folhas (tab. 9).

#### 3.5 Aplicação de AIA no pecíolo de folhas isoladas

A aplicação de AIA, em pecíolos de folhas isoladas, provocou uma inibição inicial das gemas epifilas mas que não se manteve até o final do experimento (tab. 10).

#### 3.6 Aplicação de AIA e sacarose em ápice decapitado

No 20º dia, foi observada promoção significativa da brotação no tratamento em que foi aplicada sacarose, pois as folhas apresentavam 100% das gemas epifilas brotadas.

**Tabela 9** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas isoladas injetadas com soluções hormonais, na concentração de  $10^{-3}$  M. No controle foi injetada apenas água destilada.

Foram aplicados AIB, Cinetina,  $GA_3$ , ABA, CEPA e TIBA. As avaliações foram feitas 5, 10, 15 e 25 dias após o início do experimento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO				
Tratamentos	Dias			
	5	10	15	25
AIB	11c	33b	44c	50b
CINETINA	0c	11c	37c	56b
CEPA	32b	68a	68b	100a
$GA_3$	3c	22b	45c	54b
ABA	-	-	-	-
TIBA	-	-	-	-
CONTROLE	57a	83a	100a	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Obs : a ausência de dado indica que houve o apodrecimento das folhas.

**Tabela 10** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas isoladas tratadas com pasta de lanolina e AIA, na concentração de 1%. Para o controle foi utilizada somente lanolina. As folhas foram avaliadas após 12 dias.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
AIA	34b	85	100
CONTROLE	63a	89	100

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

No controle, no tratamento com AIA e AIA + sacarose, todas as gemas epifilas mantiveram-se em estado dormente (tab. 11).

No 30° dia, também as gemas do controle apresentavam-se 100% brotadas, enquanto no tratamento com AIA e AIA + sacarose as gemas epifilas mantiveram-se inibidas (tab. 11). Este padrão de brotação manteve-se até o final do experimento, isto é, com os tratamentos com sacarose (fig. 2) e controle (fig. 3) com as gemas epifilas brotadas, e no tratamento com AIA e AIA + sacarose permanecendo no estado dormente (fig. 4).

### 3.7 Pincelamento das folhas com soluções hormonais

Após 15 dias, foi verificada uma estimulação significativa da brotação das gemas epifilas nos tratamentos com BA, pois 100% das gemas apresentavam-se brotadas. Os demais resultados mantiveram-se iguais aos controles, isto é não foi detectada brotação.

No 30° dia, foi observado também que o controle das plantas decapitadas apresentava 100% de suas gemas brotadas, enquanto que no tratamento com plantas decapitadas e pinceladas com AIA apenas 10% de suas gemas estavam brotadas.

No 30° dia, foi verificada inibição da brotação nos tratamentos com plantas decapitadas e intactas pinceladas com AIA.

**Tabela 11** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em plantas decapitadas, e com as gemas laterais removidas. No caule decapitado foram aplicados : AIA  $10^{-4}$  M, Sacarose 2%, AIA + Sacarose e para o controle foi usado apenas água destilada. As plantas foram avaliadas 20, 30 e 45 dias após o início do tratamento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	20	30	45
AIA	0b	0b	0b
SACAROSE	100a	100a	100a
AIA+SAC	0b	0b	0b
CONTROLE	0b	100a	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

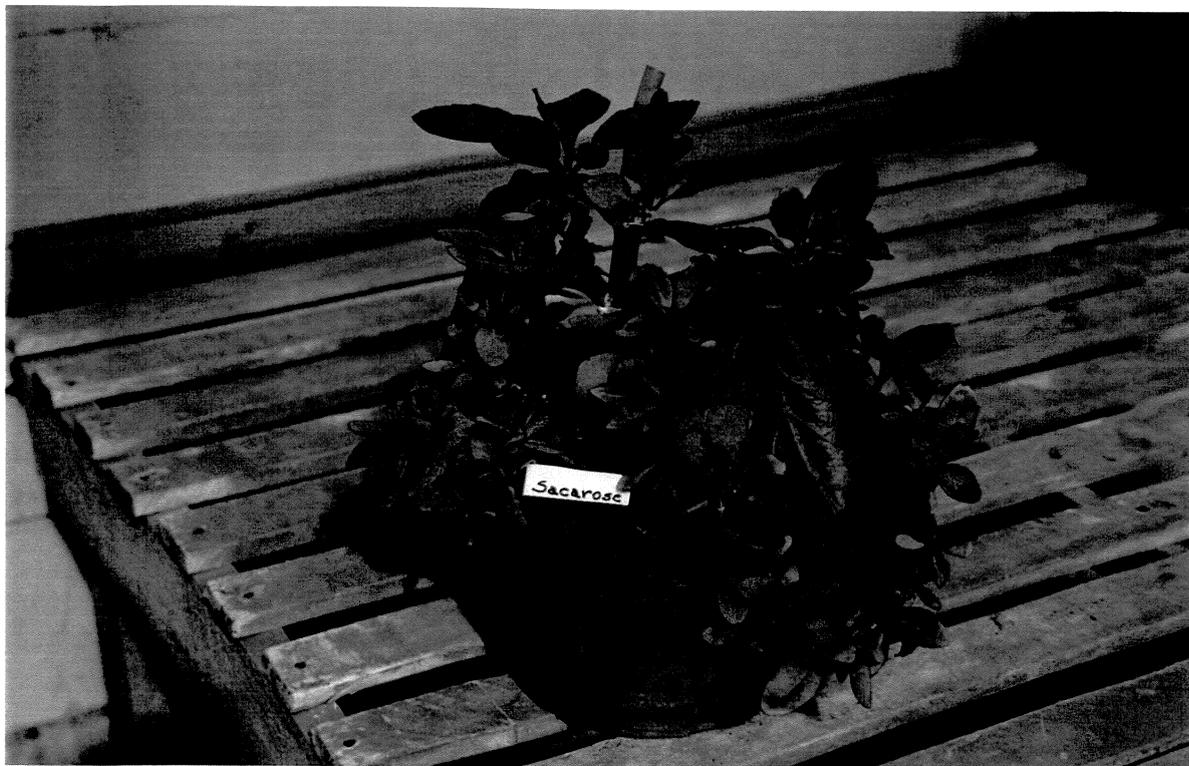


Figura 2 - Promoção da brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido a decapitação do caule, da remoção das gemas laterais e da aplicação de sacarose(2%) em caule decapitado.



Figura 3 - Promoção da brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido a decapitação do caule, da remoção das gemas laterais e da aplicação de água destilada (controle) em caule decapitado.



Figura 4 - Inibição da brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido a aplicação de AIA  $10^{-4M}$  em caule decapitado.

Ao final do experimento, isto é, no 45° dia foi verificado nos tratamentos em que plantas intactas foram tratadas com AIA ou água destilada (controle das plantas intactas), não houve brotação de nenhuma das gemas epifilas. Apesar do tratamento com AIA em plantas decapitadas mostrar 65% de suas gemas brotadas, houve diferença estatisticamente significativa em relação ao controle das plantas decapitadas, indicando inibição da brotação (tab. 12).

### 3.8 Aplicação no ápice e pincelamento das folhas com soluções hormonais

Já no 15° dia de tratamento, a aplicação de AIA em tubo e o pincelamento das folhas com BA ou vice-versa promoveram a brotação de 100% das gemas epifilas, mostrando diferença significativa em relação ao controle e aos demais tratamentos.

O controle apresentou 100% de brotação no 45° dia, mas no tratamento em que foram aplicados conjuntamente AIA e BA em tubo, as gemas continuaram em estado dormente até o final do experimento (tab. 13).

### 3.9 Efeito de GA<sub>3</sub> e AIA em plantas decapitadas

Após 30 dias, foi observado que AIA (fig. 5) inibiu completamente a brotação das gemas epifilas, e que esta

**Tabela 12** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em plantas intactas e decapitadas que foram pinceladas com soluções hormonais. Foram feitas avaliações 15, 30 e 45 dias após o início dos tratamentos. A concentração hormonal usada foi de  $10^{-4}$  M.

Tratamento 1 : Planta intacta pincelada com BA

Tratamento 2 : Planta intacta pincelada com AIA

Tratamento 3 : Planta intacta pincelada com água destilada  
(Controle Intacta)

Tratamento 4 : Planta decapitada pincelada com BA

Tratamento 5 : Planta decapitada pincelada com AIA

Tratamento 6 : Planta decapitada pincelada com água destilada  
(Controle decapitada)

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	15	30	45
1	100a	100a	100a
2	0b	0c	0c
3	0b	0c	0c
4	100a	100a	100a
5	0b	10b	65b
6	0b	100a	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 13** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em plantas decapitadas, tratadas com soluções hormonais no ápice decapitado e pincelamento. A concentração hormonal usada foi de  $10^{-4}$  M. Para o controle foi usada água destilada. As avaliações foram feitas 15, 30 e 45 dias após o início dos tratamentos.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO				
Tratamentos		Dias		
ÁPICE	PINCELAMENTO	15	30	45
AIA	BA	100a	100a	100a
BA	AIA	100a	100a	100a
AIA + BA	-	0b	0b	0b
CONTROLE		0b	0b	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.



Figura 5 - Inibição da brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido a aplicação de AIA + Lanolina (1%) em caule decapitado.

inibição foi mantida até o final do experimento. O resultado do tratamento com  $GA_3$  (fig. 6) foi estatisticamente semelhante ao controle (fig. 7), (tab. 14).

### 3.10 Aplicação de TIBA em plantas intactas

#### 3.10.1 Aplicação no caule

Após 60 dias do início do experimento, foram observadas deformações no ramo formado acima do anel de TIBA. As folhas tiveram seu padrão morfológico alterado, assim como o caule, que se tornou bastante alongado. Em nenhuma folha foi verificado o desenvolvimento das gemas epifilas em consequência do tratamento aplicado. Entretanto, abaixo do anel de TIBA houve o desenvolvimento das gemas laterais.

#### 3.10.2 Aplicação na folha

##### Experimento 1:

Não foram observadas alterações na brotação das gemas epifilas das folhas tratadas com TIBA, que continuaram em estado dormente. Foram verificadas apenas alterações nos padrões morfológicos nas folhas formadas acima das folhas tratadas.

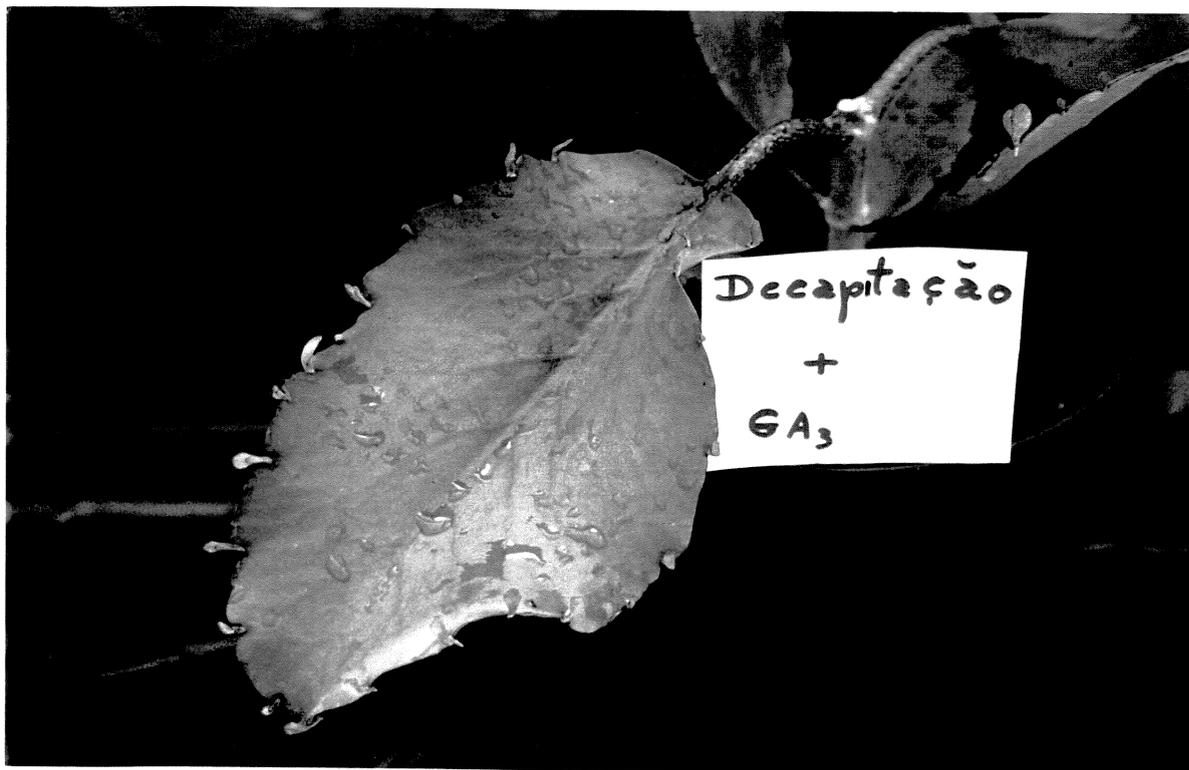


Figura 6 - Brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido a decapitação do caule, da remoção das gemas <sup>laterais</sup> e da aplicação GA<sub>3</sub> + Lanolina (1%) em caule decapitado.



Figura 7 - Brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido a decapitação do caule, da remoção das gemas <sup>laterais</sup> e da aplicação Lanolina (controle) em caule decapitado.

**Tabela 14** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em plantas decapitadas, tratadas no ápice com GA<sub>3</sub> e AIA respectivamente, em pasta de lanolina na concentração de 1%. No controle foi aplicado somente lanolina. Avaliações foram feitas após 15, 30 e 45 dias.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	15	30	45
AIA	0	0b	0b
GA <sub>3</sub>	0	84a	100a
CONTROLE	0	100a	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## Experimento 2:

A aplicação de TIBA, em folhas que foram destacadas após 24h do início do tratamento, não mostrou diferença significativa quanto à porcentagem de brotação das gemas epifilas em relação ao controle (tab. 15).

### 3.11 Aplicação de AIA na nervura principal da folha

Houve a interrupção do fluxo de nutrientes vindo para a folha devido a retirada de uma porção da nervura central da folha. Foram aplicados na região do corte AIA em pasta de lanolina e no tratamento controle apenas lanolina. Apesar disto não houveram diferenças estatisticamente significativas entre os resultados quanto à brotação de gemas epifilas (tab. 16), havendo 100% de brotação em ambos os tratamentos.

## 4. Experimentos de Nutrição

### 4.1 Solução de Hoagland

Avaliações feitas após 30, 60 e 90 dias mostraram que não houve a brotação das gemas epifilas em plantas tratadas com solução de Hoagland concentrada.

Foi verificado que a partir do 60º dia, as plantas tratadas com solução de Hoagland eram significativamente

**Tabela 15** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas tratadas com anel de TIBA e destacadas após 24h do anelamento. Para o controle foi utilizada apenas lanolina. As avaliações foram feitas 15, 25 e 35 dias após o destacamento das folhas.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	15	25	35
TIBA	20	52	56
CONTROLE	24	45	50

Através da Análise de Variância não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

**Tabela 16** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas que tiveram a retirada de uma porção da região central da folha. Foi aplicada nesta região pasta de lanolina e AIA, no controle foi aplicada somente lanolina. Avaliações foram feitas a 5, 8 e 11 dias após o início do tratamento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
AIA	65	88	100
CONTROLE	59	90	100

Através da Análise de Variância não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

mais baixas que as plantas controle. No 90º dia esta diferença acentuou-se significativamente, embora as gemas epifilas permanessesem dormentes.

Após este período, as folhas foram destacadas e colocadas em bandejas. Os resultados mostrados na tabela 17, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre o tratamento com solução de Hoagland e o controle.

#### 4.2 Meio de cultura

Após 30 dias, foi verificado que os tratamentos com AIA, BA e ABA inibiram a brotação das gemas epifilas, mostrando um efeito mais acentuado com AIA. Os meios, com e sem sacarose, não mostraram diferenças estatísticas significativas entre si ou quando comparados ao controle. O mesmo foi observado com GA<sub>3</sub> (tab. 18).

#### 4.3 Sacarose

Foi mostrado inicialmente que a sacarose, em disco foliar, promove a brotação quando comparada ao controle. Esta diferença desaparece na segunda avaliação, e este resultado foi mantido até o final do experimento.

**Tabela 17** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas, cujas plantas foram tratadas com solução de Hoagland concentrada durante 90 dias. Para o controle foi usada apenas água destilada. Avaliações foram feitas 3 e 5 dias após as folhas serem destacadas das plantas tratadas.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO		
Tratamentos	Dias	
	3	5
SOLUÇÃO NUTRITIVA	88	100
CONTROLE	94	100

Através da Análise de Variância não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

**Tabela 18** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares inoculados em meio B5 (GAMBORG et al., 1968), modificado com as vitaminas de MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), contendo distintamente : GA<sub>3</sub>, AIA, BA, ABA, Meio B5 sem sacarose , Meio B5 com o dobro da concentração normal de sacarose e Controle em meio B5 sem hôrmonios. Os hormônios foram aplicados na concentração de 10<sup>-3</sup> M. A avaliação ocorreu após 30 dias do início do tratamento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO	
Tratamentos	30 DIAS
GA <sub>3</sub>	87a
AIA	20c
BA	57b
ABA	49b
MEIO B5 sem sacarose	100a
MEIO B5 2X sacarose	100a
CONTROLE	100a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Em folhas, não foi detectada nenhuma diferença significativa durante todo o experimento. Com estacas houve diferença no 8º dia de tratamento, mas ao final do experimento ambos os tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas (tab. 19).

## 5. Experimentos de Nutrição e Hormônios

### 5.1 Sacarose e AIA em Luz e Escuro

Nos experimentos com luz, foi observado inicialmente uma promoção da brotação nos tratamentos com sacarose e sacarose + AIA, em relação ao controle e o tratamento somente com AIA.

Após o 5º dia, não foi verificada nenhuma diferença entre os tratamentos e este padrão de resposta foi mantido até o final do experimento (tab. 20). Nos experimentos conduzidos no escuro, foi verificado o mesmo padrão de brotação que no experimento realizado na luz (tab. 21).

Os tratamentos de luz e escuro, quando comparados entre si, não mostraram diferenças estatisticamente significativas.

**Tabela 19** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares, folhas e estacas tratados com solução de sacarose 2%. Avaliações foram feitas após 3, 5, 8 e 11 dias.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO				
Tratamentos	Dias			
	3	5	8	11
DISCO FOLIAR				
SACAROSE	56a	90	98	98
CONTROLE	22b	90	98	100
FOLHA				
SACAROSE	28	34	59	72
CONTROLE	25	33	46	64
ESTACA				
SACAROSE	18	36	63a	75
CONTROLE	14	24	40b	62

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 20** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares, tratados com AIA na concentração de  $10^{-4}$  M e sacarose 2%, mantidos na luz por 7 dias. O controle foi tratado apenas com água destilada. As avaliações foram feitas diariamente durante 1 semana.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO							
	Dias						
	1	2	3	4	5	6	7
SACAROSE	2	28a	78a	92a	98	100	100
AIA	0	10b	40b	66b	86	96	100
SAC+AIA	0	26a	72a	90a	94	98	100
CONTROLE	0	8b	40b	58b	90	96	100

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 21** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares, tratados com AIA na concentração de  $10^{-4}$ M e sacarose 2%, mantidos no escuro por 7 dias. O controle foi tratado apenas com água destilada. As avaliações foram feitas diariamente.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO						
	Dias					
	2	3	4	5	6	7
SACAROSE	30a	64a	92a	96	100	100
AIA	10b	32b	54b	86	98	100
SAC+AIA	26a	70a	94a	98	100	100
CONTROLE	10b	22b	60b	96	98	100

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## 6. Efeito da Fotossíntese sobre a Brotação

### 6.1 DCMU

Foi verificada diferença significativa entre o tratamento com DCMU e o controle durante todo o tratamento. O tratamento com DCMU estimulou a brotação de gemas epifilas em plantas intactas (fig. 8) (tab. 22).

### 6.2 Fotoassimilados

Após 30 dias do início dos tratamentos com sacarose, frutose, ácido cítrico e glicina não foi observada nenhuma diferença em relação ao controle. As gemas epifilas se mantiveram em estado dormente, assim como o controle.

### 6.3 Folhas intactas mantidas no escuro

Após 20 dias de escuro foi observado o início do amarelecimento (senescência) das folhas, que se acentuou até o 60º dia. Quanto às gemas epifilas, estas mantiveram-se dormentes até o final do experimento.

### 6.4 Plantas intactas mantidas no escuro

Houve o amarelecimento de todas as folhas das plantas mantidas no escuro, mas não houve nenhuma alteração quanto à brotação das gemas epifilas, que se mantiveram dormentes.

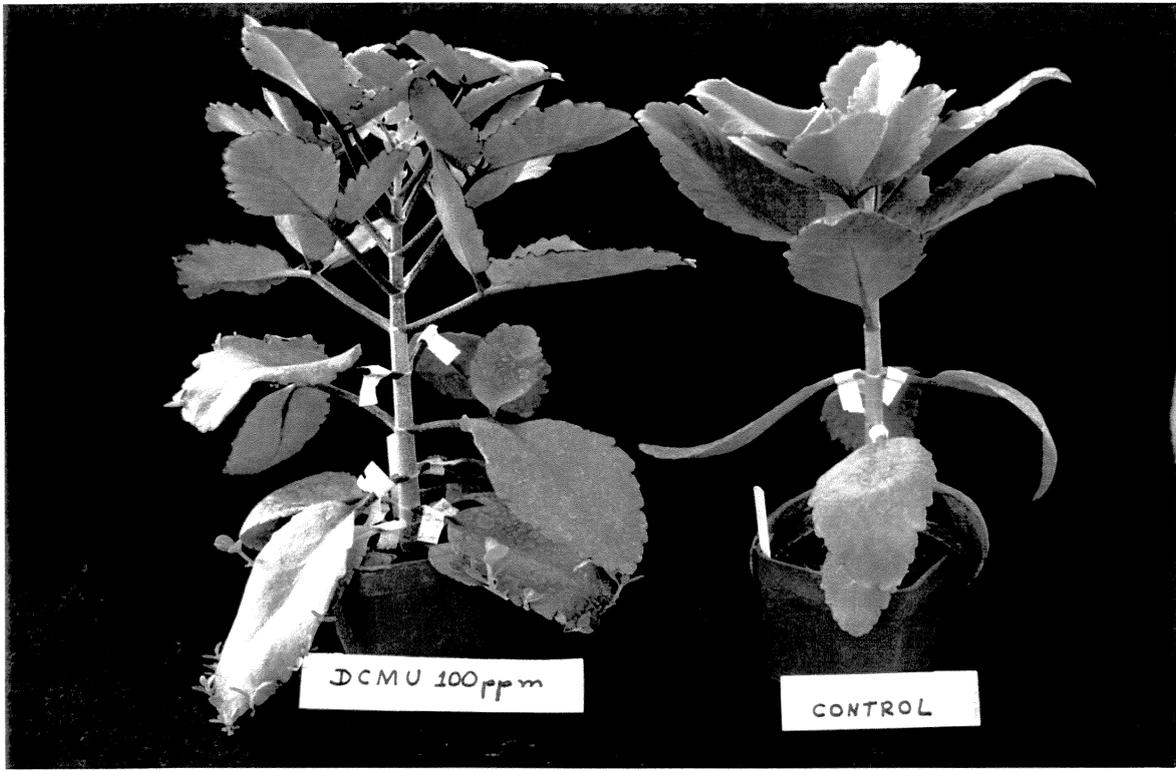


Figura 8 - Promoção da brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* devido aplicação de DCMU em planta intacta.

**Tabela 22** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas tratadas com DCMU, na concentração de 100 mg/l. Foram avaliadas folhas de 4 nós diferentes da porção central do caule. Para o controle foi usado apenas água destilada. Avaliações foram feitas após 30 e 60 dias.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO								
Tratamento	Dias							
	30				60			
PAR FOLHA	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°
DCMU	3a	8a	16a	17a	8a	10a	20a	23a
CONTROLE	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b	0b

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

### 6.5 Folhas isoladas mantidas no escuro

5 dias após o início dos tratamentos, foi observada a inibição da brotação das gemas epifilas nas folhas que foram mantidas no escuro. Após este período, a diferença entre os resultados desapareceu e isto foi mantido até o final do experimento (tab. 23).

## 7. Experimentos de Estresse Hídrico

Dados preliminares:

Os dados preliminares obtidos mostraram que a folha possui um C.P.A. de 96% e o D.S. de 3,5%.

### 7.1 Estresse hídrico em discos foliares

De acordo com a tabela 24, foi verificado que inicialmente no disco foliar com 35% de C.P.A., houve uma aceleração significativa no processo de brotação das gemas epifilas em relação aos demais tratamentos. As porcentagens de brotação nos tratamentos se igualaram a partir do 4º dia de avaliação. Ao final do experimento, foi verificado que todos os tratamentos atingiram 100% das gemas epifilas brotadas.

### 7.2 Umidade Relativa baixa e discos foliares

A massa da matéria fresca de discos foliares, mantidos sob ambientes com diversos graus de U. R., é apresentada na

**Tabela 23** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em folhas obtidas de plantas mantidas em câmara escura por 40 dias. As avaliações foram feitas após 5, 8 e 11 dias.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO			
Tratamentos	Dias		
	5	8	11
FOLHAS AMARELAS (senescentes)	23b	78	100
CONTROLE	69a	89	100

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 24** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares desidratados até atingirem 70, 50 e 35% respectivamente do C.P.A. inicial. O controle corresponde ao C.P.A. de 97%. Avaliações diárias foram feitas até o 7º dia após o início do tratamento.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO							
Tratamentos	DIAS						
	1	2	3	4	5	6	7
C.P.A.							
70	0b	0b	27c	80a	90a	100	100
50	0b	0b	17c	47b	67b	87	90
35	17a	47a	70a	80a	97a	100	100
97	3b	3b	46b	83a	97a	100	100

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

tabela 25. A perda de água dos discos foliares em ambientes com baixa U.R., isto é 10%, pode chegar a aproximadamente 1/3 da matéria fresca inicial. Em ambientes com alta U.R. (100%), a perda de água é baixa, cerca de 13%. Com estes dados, foi verificado que o conteúdo percentual de água dos discos foliares sob U.R. de 50 e 35% após 5 dias de tratamento caiu de 96% para 34%. Isto é, houve uma perda muito grande do conteúdo percentual de água, aproximadamente 2/3 de água foi perdido pelo disco foliar durante o experimento.

Em ambientes com U.R. 100%, o conteúdo percentual de água inicial de 97% caiu ao final do experimento para apenas 87%, isto representou uma perda de água bem menor que os demais tratamentos (tab. 26). Quanto à porcentagem de brotação, inicialmente ocorreu uma aceleração no processo de brotação em discos foliares mantidos sob baixa U.R. em comparação ao controle (U.R. 100%). Já ao final do experimento, foi verificada uma inibição significativa no tratamento com U.R. 50% em relação aos demais tratamentos (tab. 27).

### 7.3 PEG 6000

Nos discos foliares tratados com PEG 6000, foi verificado que no 5º dia de tratamento, o C.P.A. correspondia a 61% do conteúdo inicial. Portanto, houve uma perda de aproximadamente

**Tabela 25** - Matéria fresca (mg) de discos foliares mantidos sob ambientes com U.R. de 10, 50 e 100%. Avaliações foram feitas no início do experimento e após 3 e 5 dias.

Massa de Matéria Fresca (mg)			
Tratamentos	DIAS		
	0	3	5
U.R. ( % )			
10	224	85b	76b
50	229	91b	74b
100	231	216a	200a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 26** - de discos foliares mantidos sob atmosferas com U.R. controladas, e estabelecidas em 10, 50, e 100% respectivamente. Avaliações foram feitas no início do experimento e após 3 e 5 dias.

Conteúdo Percentual de Água			
Tratamentos	DIAS		
	0	3	5
U.R. ( % )			
10	96	38b	34b
50	97	40b	32b
100	97	94a	87a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 27** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares mantidos sob atmosferas com U.R. controladas, e estabelecidas em 10, 50, e 100% respectivamente. Para o controle foi estabelecido o tratamento com U.R. 100%. Avaliações foram feitas após 3 e 5 dias.

PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO		
Tratamentos	DIAS	
	3	5
U.R. ( % )		
10	13a	100a
50	17a	77b
100	0b	88a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

1/3 do conteúdo de água no disco foliar. A brotação das gemas epifilas também foi afetada, havendo uma inibição significativa da brotação no tratamento com PEG, quando comparado ao controle (tab. 28).

#### 7.4 Estresse hídrico em plantas intactas

Nas avaliações realizadas foi verificado início de murchamento após o 40° dia, e se acentuou no 60° dia do experimento. As folhas permaneceram verdes com início de seca nas pontas. Quanto às gemas epifilas, não houve a brotação em nenhuma folha observada, isto é, as gemas permaneceram em estado dormente até o final do experimento.

#### 8. Sacarose Tritiada

Os resultados obtidos (tab. 29), mostram uma diferença significativa na quantidade de sacarose tritiada entre o pecíolo em que foi aplicada a substância e as demais partes da planta. Estes resultados indicam que a sacarose aplicada no pecíolo da folha, isolada por anelamentos, não foi transportada para o caule. Isto indica que o anelamento feito no caule impediu totalmente o fluxo via floema. Portanto, os anelamentos realizados nos demais

experimentos deste trabalho foram eficientes em isolar a  
folha do fluxo do floema.

**Tabela 28** - Porcentagem de brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* em discos foliares tratados solução de PEG 6000, com cerca de 1MPa. O controle foi feito apenas com água destilada. Foram determinados a massa de matéria fresca inicial, a massa de matéria fresca final, o conteúdo percentual de água e a porcentagem de brotação no 5º dia após o início do tratamento. Os pesos estão expressos em mg.

	M.M.F.I	M.M.F.F.	C.P.A. (5º dia)	% BROTAÇÃO (5º DIA)
PEG	198	121	61	55b
CONTROLE	184	180	98	90a

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

**Tabela 29** - Radiação emitida pelas amostras coletadas de folhas isoladas do floema por anelamentos e tratadas com sacarose tritiada. Dados apresentados em CPM.

TRATAMENTO	CPM
Pecíolo - Sacarose tritiada	137.831a
Pecíolo - Controle	1.659b
Caule Superior - Sacarose Tritiada	1.357b
Caule Superior - Controle	2.014b
Caule Inferior - Sacarose tritiada	536b
Caule Inferior - Controle	428b

Letras diferentes na coluna indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## DISCUSSÃO

A liberação da dormência em gemas laterais ocorre devido à remoção do ápice. Este tipo de comportamento já foi descrito em inúmeras espécies em estudos envolvendo a dominância apical. Também em *B. calycinum*, foi observado o desenvolvimento das gemas laterais quando o ápice foi removido.

Com o desenvolvimento das gemas laterais, as gemas epifilas permaneceram em estado dormente. Isto significa que as gemas laterais ao se desenvolverem exerceram uma inibição sobre as gemas epifilas semelhante à que o ápice exerce sobre as gemas laterais durante a dominância apical.

Portanto, de acordo com a teoria que diz haver uma ação direta da auxina na dominância apical, estas gemas laterais ao se desenvolverem passariam a produzir auxinas em grandes quantidades que inibiriam as gemas epifilas.

Em plantas que tiveram, além do ápice, todas as gemas laterais removidas, foi observada a liberação completa de todas gemas epifilas do estado de dormência. Novamente, de acordo com essa teoria sobre dominância apical, isto deveu-se à falta de auxina, vinda das gemas laterais, para inibi-las.

Já em plantas em que o ápice e apenas algumas gemas laterais foram removidos, foi observada uma gradativa diminuição da porcentagem de brotação das gemas epifilas,

quando estas folhas se distanciavam das gemas laterais removidas. Esta diminuição da brotação se daria devido à proximidade destas folhas às gemas laterais que não foram removidas, indicando que as gemas epifilas estariam sofrendo uma ação inibitória das gemas laterais, num processo semelhante à dominância apical.

O desenvolvimento de uma gema epifila não interfere no desenvolvimento das outras gemas existentes na mesma folha. Portanto, na espécie *B. calycinum*, uma gema epifila ao se desenvolver não exerce dominância sobre as outras.

Em estacas, houve a inibição das gemas epifilas devido ao rápido desenvolvimento das gemas laterais nelas existentes. Por outro lado, em estacas que tiveram suas gemas laterais removidas, houve a brotação das gemas epifilas. Novamente, neste caso ocorre uma aparente dominância, não mais apical, mas sim dos ramos novos formados sobre as gemas epifilas.

A dominância apical é um processo complexo, vários fatores podem estar contribuindo para o desencadeamento do processo de brotação.

A gema, de uma maneira geral, é uma estrutura capaz de formar novos ramos ou novas plantas, pois possui células meristemáticas capazes de entrar numa intensa série de mitoses que levarão à formação dos novos órgãos. O mecanismo que desencadeia este processo parece ser bastante semelhante nas gemas laterais e nas gemas epifilas. O

ápice, por via direta ou indireta, hormonal ou nutricional, ou ambos, influencia de maneira decisiva este controle.

Sabe-se que durante o desenvolvimento da gema é necessária muita energia e nutrientes para a formação do novo órgão. Mas o que desencadeia este processo, isto é, o sinal que leva a este comportamento, ainda não está esclarecido.

Este sinal parece ser translocado através da planta, pois quando uma parte da planta é afetada (no caso, a remoção do ápice), podemos perceber a resposta numa outra parte da planta (brotação das gemas).

Era de se esperar que este sinal se translocasse pelo sistema vascular do ápice em direção as gemas, isto devido à dominância da gema apical sobre as gemas laterais e epifilas. O sinal vindo do ápice percorreria o caule até a gema, onde atuaria inibindo a brotação.

Isto não foi comprovado no experimento onde houve a interrupção do fluxo vindo do caule em direção a uma determinada folha, (experimento 7.1). Com o isolamento desta folha do transporte vindo do ápice, as gemas epifilas não mais estariam sob o controle do sinal vindo do ápice. Portanto, estaria simulando a decapitação do ápice. Mas não foi observada nenhuma brotação das gemas epifilas.

Se este sinal realmente se translocasse através da planta, o floema seria o melhor caminho para poder percorrer facilmente toda a planta. No tratamento onde foi

realizado apenas um anelamento (experimento 7.2), isto é, a remoção completa do floema, não foi observada a brotação das gemas epifilas em ambas as folhas, acima e abaixo do anelamento.

A interrupção do fluxo do floema vindo do ápice não induziu a brotação da folha localizada abaixo deste anel, portanto, não seria um sinal vindo do ápice via floema que estaria controlando a brotação. Também não foi observada brotação das gemas epifilas na folha localizada acima do anel, neste caso o fluxo vindo da raiz não estaria chegando até a folha, o que indica que o sinal que controla a brotação não viria também das raízes.

O experimento com sacarose tritiada confirma que o floema foi totalmente retirado durante os anelamentos, indicando que os anelamentos realizados foram efetivos em isolar a folha do fluxo vindo pelo floema.

Entretanto, no tratamento em que foram feitos 2 anéis, um acima e outro abaixo de uma determinada folha, foi observado que todas as gemas epifilas desta folha brotaram. Neste caso, foi verificado que quando se isola completamente a folha do fluxo vindo do caule, ocorre a liberação de todas as gemas epifilas.

Uma hipótese para explicar esta resposta seria a de que a brotação das gemas epifilas indicaria que o fator, que poderia ser um inibidor de brotação, que viria de outras partes da planta não estaria chegando até as folhas.

Conseqüentemente, este fator também não estaria chegando até as gemas epifilas para inibi-las, deixando-as então liberadas para iniciar a brotação.

Esta hipótese é questionável quando se leva em conta a resposta obtida no experimento em que foi feito apenas 1 anelamento. Neste caso, um único anelamento foi efetivo em isolar, a folha logo abaixo do anel, do fluxo do floema vinda da região apical da planta. Assim, de acordo com esta hipótese, sem a presença do inibidor, que viria do ápice, a folha deveria ter brotado, o que não ocorreu. Também, este único anel foi efetivo em isolar a folha do fluxo do floema que viria da região basal da planta. Novamente, se esta hipótese estivesse correta a folha deveria ter brotado, pois o fator inibidor, que viria da região basal, não estaria presente na folha o que levaria a brotação, mas isto não ocorreu. Portanto esta, hipótese estaria descartada.

Mas qual seria a natureza deste fator promotor da brotação das gemas epifilas? Os hormônios participam de um grande número de eventos durante o desenvolvimento da planta. Desde a germinação até a floração e maturação do fruto podemos verificar a ação dos hormônios. Portanto, estes poderiam estar envolvidos no processo de brotação das gemas.

Nos experimentos com discos foliares, o uso de CEPA inibiu inicialmente a brotação das gemas, mas ao final do

experimento não foi verificada nenhuma diferença significativa.

Altas concentrações de GA<sub>3</sub>, BA, ABA e principalmente de AIA inibiram a brotação das gemas. As demais concentrações usadas não resultaram em diferenças estatisticamente significativas. Segundo HOUCK & RIESEBERG (1983), AIA inibiu a brotação das gemas e antagonicamente as várias citocininas testadas promoveram a brotação das gemas epifilas em *B. calycinum*. O mesmo foi observado por KARPOFF (1982). Em *B. crenatum*, o início da brotação ocorre nas primeiras 10 horas após o destacamento da folha, neste período, observa-se uma queda dos níveis de AIA endógeno (SLABY et al., 1990), o que indica que o AIA endógeno inibe a brotação das gemas.

Em gemas epifilas da espécie *B. daigremontianum* verifica-se a inibição das gemas com altas concentrações de AIA, já com baixas concentrações observa-se um efeito estimulatório (YAZGAN & VARDAR, 1977). Este mesmo tipo de resposta foi obtido com *B. tubiflorum* (NANDA & JAIN, 1972).

Nos tratamentos em que foram usados 2,4D e AIB em discos foliares, verificou-se a inibição da brotação em todas as concentrações usadas.

Assim, como na dominância apical, a auxina parece interferir de maneira decisiva no processo de controle da brotação das gemas epifilas. Em estacas e folhas tratadas com AIA + lanolina no ápice, não foi percebida tão

claramente esta inibição por parte da auxina. Mas, em estacas que tiveram as gemas laterais removidas e tratadas com auxina na base, verificou-se uma grande inibição exercida pela auxina na forma de AIA, 2,4D e AIB, assim como em folhas isoladas injetadas com AIB.

O experimento que mostrou claramente o papel inibidor exercido pelo AIA foi o experimento em que plantas decapitadas e com as gemas laterais removidas foram tratadas com soluções de AIA no ápice. Nestas condições indutoras de brotação foi verificado que AIA inibiu completamente a brotação das gemas epifilas. Portanto, o AIA exógeno estaria substituindo a auxina endógena, normalmente sintetizada pelo ápice. Este tipo de resposta foi obtida em muitos experimentos de dominância apical (WHITE, 1976 ; TAMAS et al., 1989).

Embora os experimentos com TIBA não comprovem que a auxina efetivamente participe deste processo, os experimentos em que foram usadas partes da planta indicam que a auxina participa de alguma forma na regulação do processo da brotação das gemas epifilas.

Embora com cinetina não tenha sido uma resposta estimulatória, em plantas intactas pinceladas com BA houve uma significativa promoção da brotação das gemas epifilas com o desenvolvimento de 100% das gemas. Portanto, mesmo as gemas estando sob dominância apical, a citocinina foi capaz de sobrepor-se a inibição exercida pelo ápice e liberar as

gemas da dormência. Também houve a promoção da brotação quando BA em baixa concentração foi aplicado em estacas.

O efeito estimulatório da citocinina em gemas laterais já foi bastante estudado (GRAYBURN et al., 1982 ; PILLAY & RAILTON, 1983 ; SVENSON, 1991). Já na espécie *B. daigremontianum*, a aplicação de cinetina em folhas isoladas inibiu a brotação das gemas (YAZGAN & VARDAR, 1977).

Sabe-se que a citocinina induz divisão celular, regula a síntese de proteínas, e promove o aumento do tamanho das células em certos tecidos e órgãos. Também causa mobilização de nutrientes, isto é, a citocinina faz com que os nutrientes transloquem-se preferencialmente para as regiões tratadas, formando um dreno forte (TAIZ & ZEIGER, 1991).

Estes efeitos provocados pela citocinina, principalmente a divisão celular e a mobilização de nutrientes, contribuem de forma decisiva para que as gemas saiam do estado de dormência e iniciem o seu desenvolvimento.

Esta capacidade de mobilização de nutrientes pela citocinina também foi observada de forma semelhante com a auxina, em relação à dominância apical. A mobilização de nutrientes, hormônios, água e outros compostos para a região da gema faz com que ocorra a indução da brotação na gema apical, lateral ou epifila.

Contraditoriamente, há trabalhos que mostram altos níveis de citocinina endógenas em gemas inibidas e baixa concentração de citocinina em gemas liberadas da dormência (Van Staden & Dimalla, 1978; Van Staden et al, 1981).

Tratamentos com sacarose aplicados em várias partes isoladas da planta não tiveram respostas significativas em promover a brotação das gemas epifilas, mas a aplicação de sacarose em ápice decapitado mostrou uma significativa aceleração da brotação das gemas epifilas. A indução da brotação de gemas pela aplicação de sacarose exógena foi obtida também em gemas laterais de *Helianthus annuus* (BALLARD & WILDMAN, 1964).

Isto poderia indicar que a sacarose, quando aplicada no ápice decapitado, seria translocada pelo sistema vascular, chegaria até as gemas e estimularia a brotação. Neste caso, a sacarose estaria fornecendo a energia necessária para a gema epifila iniciar o processo de divisão celular.

Quando a sacarose foi aplicada conjuntamente com AIA, houve a manutenção das gemas no estado dormente. Portanto a ação inibitória da auxina estaria superando a ação estimulatória da sacarose.

Quando foi aplicado DCMU, um conhecido inibidor de fotossíntese, houve a completa liberação das gemas epifilas do estado dormente. Apesar da interrupção da fotossíntese causada pelo DCMU, este fato não parece ser o causador da

liberação das gemas do estado dormente. Isto porque plantas mantidas por longos períodos no escuro, e que portanto tiveram a fotossíntese interrompida, não apresentaram brotação das gemas.

De fato o DCMU ao paralisar a fotossíntese também paralisa a produção de energia na célula. Esta energia seria necessária para a translocação dos fotoassimilados (açúcares), produzidos pela fotossíntese, para fora da folha. Portanto os açúcares se acumulariam na folha, e forneceria a energia necessária para o desenvolvimento das gemas epifilas.

Comparando-se este experimento com o que foi aplicado sacarose, podemos observar que ambos referem-se à energia fornecida pelos açúcares que seriam essenciais para o desencadeamento do processo de brotação das gemas epifilas.

Na natureza, a brotação das gemas epifilas de *B. calycinum* ocorre somente quando a folha abscisa (LOEB, 1915). A folha quando se separa da planta-mãe continua verde por um longo período de tempo e aparentemente fotossintetizando.

Os açúcares produzidos pela fotossíntese durante este período seriam acumulados na folha, pois não teriam para onde se translocarem. Este acúmulo levaria à indução da brotação por fornecer a energia necessária para o desenvolvimento das gemas. Antes da abscisão estes açúcares eram transportados para outras partes da planta.

Folhas jovens são grandes centros produtores de auxina, mas com o passar do tempo estes níveis decrescem. A abscisão foliar se dá quando a capacidade de síntese de auxina pela lâmina foliar cai a um nível muito baixo, e, enquanto perdurar a exportação de auxina para o pecíolo a abscisão foliar é inibida (SALISBURY & ROSS, 1992).

Em muitas espécies, quando isso não mais ocorre forma-se uma camada de abscisão transversalmente ao pecíolo, afrouxando a união entre as células causada por atividade enzimática, que enfraquece a ligação da folha ao caule. Apesar de não somente a auxina mas outros hormônios estarem envolvidos no processo de abscisão foliar, a participação da auxina neste processo é fundamental.

Novamente, o fato de que a brotação das gemas epifilas em *B. calycinum* ocorra somente após a abscisão foliar e, correlacionando isto com o fato de que durante a abscisão foliar os níveis de auxina nas folhas são baixíssimos, podemos inferir que a brotação das gemas epifilas ocorre no momento em que a auxina praticamente já não mais é capaz de inibir a brotação das gemas epifilas. Assim, juntamente com os dados obtidos neste trabalho, novamente surgem evidências sobre o papel inibidor da brotação de gemas desempenhado pela auxina.

Também com a abscisão foliar, inicia-se um processo de estresse hídrico na folha, pois a folha ao se separar da planta não mais receberá a água vinda pelo sistema

vascular. A folha então inicia um processo de desidratação, entrando em déficit hídrico.

Pelas observações realizadas nos experimentos de estresse hídrico, foi verificado que ocorreu uma aceleração significativa do processo de brotação das gemas epifilas nos tratamentos mais rigorosos de déficit hídrico. Esta resposta contraria trabalhos que mostram ser o estresse hídrico um fator inibidor da brotação (MC INTYRE, 1971, 1973), pois a água sendo desviada das gemas inibidas para os ramos dominantes leva à inibição das gemas (MC INTYRE, 1977).

Ambientes com baixa UR contribuíram para uma desidratação drástica dos discos foliares, atingindo aproximadamente 1/3 do conteúdo percentual de água inicial. Isto induziu uma significativa aceleração do processo de brotação.

Este resultado não foi confirmado pelo experimento em que foi usado PEG 6000. Apesar da perda de água ocorrida pelo disco foliar, houve uma inibição significativa da brotação. Neste experimento, entretanto, não ocorreu uma perda de água tão intensa como nos demais experimentos, pois o disco foliar chegou a aproximadamente 2/3 do conteúdo percentual de água inicial. Talvez por não ter ocorrido uma perda de água tão drástica a brotação das gemas não tenha sido induzida.

Baseado nas respostas obtidas neste trabalho, é possível elaborar um modelo capaz de contribuir para o estudo do controle da brotação das gemas epifilas.

Assim sendo, com o experimento de anelamento podemos afirmar que ao mesmo tempo que não entra nada na folha via floema, também não sai nada, via floema, da folha. Portanto, a explicação para o controle da brotação se baseia na presença de um fator indutor na folha que promoveria a brotação das gemas epifilas. Este fator indutor poderia até mesmo ser sintetizado pela própria folha. Em plantas intactas, este fator indutor normalmente não permaneceria na folha devido à sua saída via floema indo em direção a outras partes da planta. Com a interrupção da saída de material pelo floema devido aos 2 anelamentos, este fator indutor de brotação permaneceria na folha, se acumularia e induziria a brotação das gemas epifilas.

A natureza deste fator indutor poderia ser um açúcar, proveniente da fotossíntese realizada pela folha, que conjugado a uma auxina, migraria para outras partes da planta. Este tipo de composto já foi estudado por Morris (1977). Este açúcar poderia ser uma sacarose, como foi demonstrado experimentalmente, a qual seria a responsável pelo fornecimento de energia para que a gema epifila pudesse iniciar o processo de divisão celular e o desenvolvimento de uma nova plântula.

Portanto, o controle de brotação das gemas epifilas em *B. calycinum* se daria endogenamente pela presença ou ausência de um fator promotor de brotação na folha.

## BIBLIOGRAFIA

- ALI, A., FLETCHER, R.A., 1970. Hormonal regulation of apical dominance in soybeans. Canadian J. Bot. 48 : 1989-1994.
- BALLARD, L.A.T., WILDMAN, S.G., 1964. Induction of mitosis by sucrose in excised and attached dormant buds of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Australian J. Biol. Sci. 17:36-43.
- BERNIER, G., KINET, J.M., SACHS, R.M., 1981. The physiology of flowering. Vol.I. C.R.C. Press, Boca Raton.
- BODSON, M., OUTLAW, W.H., 1985. Elevation in the sucrose content of the shoot apical meristem of *Sinapis alba* at floral evocation. Plant Physiol. 79 : 420-424.
- BOOTH, A., MOORBY, J., DAVIES, C.R., JONES, H., WAREING, P.F., 1962. Effects of indolyl-3-acetic acid on the movement of nutrients within plants. Nature 194 : 204- 205.
- BURROWS, W.J., CARR, D.J., 1969. Effects of flooding the root system of sunflower plants on the cytokinin content of xylem sap. Physiol. Plant. 22 : 1105- 1107.
- CATARNO, F.M., 1965. Some effects of kinetin on growth, breaking of dormancy and senescence in *Bryophyllum*. Port. Acta Biol. A9 : 221-228.
- CLINE, M.G., 1991. Apical dominance. The Botanical Review 57 : 318-358.
- DAVIES, C.R., WAREING, P.F., 1965. Auxin-directed transport of radiophosphorus in stem. Planta 65 : 139-156.

- DAVIES C.R., SETH, A.K., WAREING, P.F., 1966. Auxin and kinetin interaction in apical dominance. *Science* 151 : 468-469.
- EICHLER, A.G. (1872). "CRASSULACEAE". In : Martius, C.F.P. de *Flora brasiliensis*. Monachii Lipsiae apud Frid., XIV (II) : 378 - 384.
- EPEL, B.L., WARMBRODT, R.P., BANDURSK, R.S., 1992. Studies on the longitudinal and lateral transport of IAA in the shoots of etiolated corn seedlings. *J. Plant Physiol.* 140 : 310-318.
- FELDMAN, L., CUTTER, E.G., 1970. Regulation of leaf form in *Centaurea solstitialis* L.. Leaf developmental potentialities of excised leaf primordia in sterile culture. *Bot. Gaz.* 131 : 39-49.
- FRANCO, C.M., BACCHI, O., 1960. Estudos sobre a conservação de sementes. VII, Fumo. *Bragantia* 19 : 105-107.
- GAMBORG, O.L., MULLER, R.A., OJIMA, K., 1968. Nutrient requirement on suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50: 151-155.
- GOLDSMITH, M.H.M., 1977. The polar transport of auxin. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28 : 439-478.
- GOODWIN, P.B., CANSFIELD, P.E., 1967. The control of branch growth on potato tubers. The basis of correlative inhibition. *J. Exp. Bot.* 18 : 297-307.
- GOODWIN, P.B., 1983. Molecular size limit for movement in the symplast of *Elodea* leaf. *Planta* 157 : 124-130.



- HOUCK, D.F., RIESEBERG, L.H., 1983. Hormonal regulation of epiphyllous bud release and development in *Bryophyllum calycinum*. Am. J. Bot. 70 : 912-915.
- JACKSON, W.F., 1956. The relative importance of factors causing injury to shoots of flooded tomato plants. Am. J. Bot. 43 : 67-671.
- KARPOFF, A.J. (1982). Hormones and early in vitro development of epiphyllous propagules on *Bryophyllum calycinum*. Am. J. Bot. 69 : 348 - 355.
- KUMAR, D., WAREING, P.F., 1972. Factors controlling stolon development in the potato plant. New phytol. 71 : 639-643.
- LEJEUNE, P., KINET, J.M., BERNIER, G., 1988. Cytokinin fluxes during floral induction in the long-day plant *Sinapis alba* L.. Plant Physiol 86 : 1095-1098.
- LEJEUNE, P., BERNIER, G., REQUIER, M.C., KINET, J.M., 1993. Sucrose increase during floral induction in the phloem sap collected at the apical part of the shoot of the long-day plant *Sinapis alba* L. Planta 190 : 71-74.
- LOEB, J. (1915). Rules and mechanism of inhibition and correlation in the regeneration of *Bryophyllum calycinum*. Bot. Gaz. 60 : 249 - 276.
- LOEB, J., 1918. Chemical basis for correlation. I. Production of equal masses of shoots by equal masses of sister leaves in *Bryophyllum calycinum*. Bot. Gaz. 65 : 150-174.

- LONGMAN, K.A., 1968. Effects of orientation on apical dominance in a tropical woody plant. *Ann. Bot.* 32 : 553-563.
- MARCELLE, R., 1963. Effet de la gibbérelline sur la formation et la croissance des bourgeons épiphyllés chez *Bryophyllum tubiflorum* Harv.. *Physiol. Vég.* 1 : 359-368.
- MARR, C., BLASER, W.H., 1967. The origin and development of induced branches in *Helianthus*. *Amer. J. Bot.* 54 : 498-504.
- MARTIN, G.C., 1987. Apical dominance. *Hortscience* 22 (5) : 824-833.
- MC INTYRE, G.I. 1964. Mechanism of apical dominance in plants. *Nature* 203 : 1190-1191.
1971. Water stress and apical dominance in *Pisum sativum*. *Nature* 230 : 87-88.
1973. Environmental control of apical dominance in *Phaseolus vulgaris*. *Canadian J. Bot.* 51 : 293-299.
1977. The role of nutrition in apical dominance. IN : *Integration of activity in the higher plant* (D.H. Jennings, ed., Cambridge University Press, pp. 251-273.
- LARMOUR, S., 1974. The correlative inhibition of bud and shoot growth in flax. Anatomical changes associated with the release of lateral buds from inhibition. *Canadian J. Bot.* 52 : 2269-2275.
- MEHRLICH, F., 1931. Factors affecting growth from foliar meristems of *Bryophyllum calycinum*. *Bot. Gaz.* 92 : 113-140.

- MONTEDIOCA, S., 1992. Brotação de gemas epifilas em *Bryophyllum calycinum*. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, tese de Mestrado pp. 45.
- MORRIS, D.A., 1977. Transport of exogenous auxin in two-branched dwarf pea seedlings (*Pisum sativum*, L.). *Planta* 136 : 91-96.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 : 473-497.
- NAKAMURA, E., 1964. Effect of decapitation and IAA on the distribution of radioactive phosphorus in the stem of *Pisum sativum*. *Plant and Cell Physiology* 5 : 521-524.
- NANDA, K.K., JAIN, M.K., 1972. Mode of the action of IAA and GA<sub>3</sub> on root and shoot growth of epiphyllous buds *Bryophyllum tubiflorum*. *J. Exp. Bot.* 23 : 980-986.
- NAYLOR, J.M., 1958. Control of nuclear process by auxin in auxillary buds of *Tradescantia paludosa*. *Canadian J. Bot.* 36 : 221-232.
- NIEDERGANG-KARMIEN, E., SKOOG, F., 1956. Studies on polarity and auxin transport in plants. Modification of polarity and auxin transport by TIBA. *Physiol. Plant.* 9 : 60-73.
- OBHLIDALOVA, L., SLABY, K., SEBANEK, J., 1979. Polarity of endogenous regulatory substances in *Bryophyllum crenatum* leaves and stems. *Biol. Plant.* 21 : 22-26.

- OSBORNE, D.J., 1962. Effect of kinetin on protein and nucleic acid metabolism in *Xanthium* leaves during senescence. *Plant Physiol.* 37 : 595-598.
- PALMER, J.H., PHILLIPS, I.D.J., 1963. The effect of the terminal bud, indoleacetic acid, and nitrogen supply on the growth and orientation of the petiole of *Helianthus annuus*. *Physiol. Plant.* 16 : 572-584.
- PETERSON, C.A., FLETCHER, R.A., 1973. Apical dominance is not due to lack of functional xylem and phloem in inhibited buds. *J. Exp. Bot.* 24 : 97-103.
- PHILLIPS, I.D.J. 1968. Nitrogen, phosphorus and potassium distribution in relation to apical dominance in dwarf bean (*Phaseolus vulgaris* c.v. Canadian Wonder). *J. Exp. Bot.* 19 : 617-627.
- PHILLIPS, I.D.J., 1975. Apical Dominance. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 26 : 342-367.
- PILLAY, I., RAILTON, I.D., 1983. Complete release of axillary buds from apical dominance in intact, light-grown seedlings of *Pisum sativum* L. following a single application of cytokinin. *Plant Physiol.* 71 : 972-974.
- PIO CORRÊA, M. (1931). Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.
- RAVEN, J.A., 1975. Transport of indoleacetic acid in plant cells in relation to pH and electrical potential gradients,



- from growth inhibition in relationship to the level of endogenous IAA. *Biol. Plant.* 32 (5) : 352-356.
- SMITH, H., WAREING, P.F., 1964. Gravimorphism in trees. The possible implication of a root factor in the growth and dominance relationships of shoots. *Ann. Bot.* 28:297-314.
- SVENSON, S.E., 1991. Rooting and lateral shoot elongation of *Verbena* following benzylamine purine application. *HortSci.* 26 : 391-392.
- TAIZ, L., ZEIGER, E., 1991. Auxins : Growth and Tropisms. IN : *Plant Physiology*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. pp. 398-420.
- TAMAS, I.A., SCHLOSSBERG-JACOBS, J., LIM, R., FRIEDMAN L. BARONE, C., 1989. Effect of plant growth substances on the growth of axillary buds of *Phaseolus vulgaris* L.. *Plant Physiol.* 64 : 615-619.
- TERRY, B.R., ROBARDS, A.W., 1987. Hydrodynamic radius alone governs the mobility of molecules through plasmodesmata. *Planta* 171 : 145-157.
- THIMANN, K.V., 1937. On the nature of inhibition caused by auxin. *Amer. J. Bot.* 24 : 407-412.
- THIMANN, K.V., SKOOG, F., 1933. Studies on the growth of plants. The inhibiting action of the growth substance on bud development. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 19 : 714- 716.
- TOOTILL, E., 1984. *Dictionary of Botany*. 1ª edição. Penguin Books, London, pp.390.



- WHITE, J.C., HILLMAN, J.R., 1972. On the use of morphactin and triiodobenzoic acid in apical dominance studies. *Planta* 107 : 257-260.
- WHITE, J.C., MEDLOW, G.C., HILLMAN, J.R., WILKINS, M.B., 1975. Correlative inhibition of lateral bud growth in *Phaseolus vulgaris* L.. Isolation of indoleacetic acid from inhibitory region. *J. Exp. Bot.* 26 : 419-424.
- WICKSON, M., THIMANN, K.V., 1958. The antagonism of auxin and kinetin in apical dominance. *Physiol. Plant.* 2 : 62-64.
- WOOLEY, D.J., WAREING, P.F., 1972. The interaction between growth promoters in apical dominance. Hormonal interaction, movement, and metabolism of a cytokinin in rootless cuttings. *New phytol.* 71 : 781-793.
- YARBROUGH, J.A., 1932. Anatomical and developmental studies of the foliar embryos of *Bryophyllum calycinum*. *Amer. J. Bot.* 6 : 443-453.
- YAZGAN, M., VARDAR, Y., 1977. Studies on the effects of auxin-kinetin applicatins on the epiphyllous budding of *Bryophyllum daigremontianum* Berg.. *Z. Pflanzenphysiol.* 84 : 203-211.