

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE AGRONOMIA



MARIANA DE VASCONCELOS DIAS

GERMINAÇÃO IN VITRO DE Adenium obesum (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. (APOCYNACEAE). SOB DIFERENTES AMBIENTES DE CULTIVO

AREIA

MARIANA DE VASCONCELOS DIAS

GERMINAÇÃO IN VITRO DE Adenium obesum (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. (APOCYNACEAE). SOB DIFERENTES AMBIENTES DE CULTIVO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Campus II – Areia – PB, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de **Engenheira Agrônoma**

ORIENTADORA: PROF.ª DR.ª NÚBIA PEREIRA DA COSTA LUNA **CO-ORIENTADORA:** PROF.ª DR.ª LENYNEVES DUARTE ALVINO DE ARAÚJO

AREIA

Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

D541g Dias, Mariana de Vasconcelos.

Germinação in vitro de Adenium obesum (Forssk.) Roem. & Schult. (Apocynaceae). sob diferentes ambientes de cultivo / Mariana de Vasconcelos Dias. - Areia - PB, 2020.

37 f. : il.

Orientação: Núbia Pereira da Costa Luna. Coorientação: Lenyneves Duarte Alvino de Araújo. Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Flor do Deserto. 2. Micropropagação. 3. Sombreamento. 4. Luz natural. I. Pereira da Costa Luna, Núbia. II. Duarte Alvino de Araújo, Lenyneves. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Núbia Pereira da Costa Luna

DCB/CCA/UFPB

ORIENTADORA

La La Lenynevez Duarte Alvino de Araújo

Prof. Dr. Lenyneves Duarte Alvino de Araújo

DCB/CCA/UFPB

CO-ORIENTADORA E EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Loise Araújo Costa

Louis Arango Costa

DCB/CCA/UFPB

EXAMINADORA

"Yes, this is perfect... Perfect... I think I've got just the thing to put the green back in this forest" – LANGFORD, Julie (BioShock, 2007).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e da sabedoria, a Nossa Senhora e ao meu anjo da guarda por sempre me proteger.

Ao meu pai por me mostrar a importância dessa profissão, por me ajudar e me encaminhar ao caminho certo.

A minha mãe, por me incentivar ao estudo, a me esforçar e me empenhar, e por sempre me ajudar.

A minha avó Paizinha e ao meu avô Chico por sempre me apoiarem e me amarem. Aos meus tios, tanto maternos quanto paternos, por sempre me quererem o bem.

À Professora Núbia Pereira da Costa Luna pela orientação, carinho, atenção, conselhos, ajuda, paciência e apoio.

Aos professores que conheci ao longo do curso, por todos os conhecimentos transmitidos, momentos de descontração e ajuda na formação. A instituição UFPB, pela oportunidade de aprendizado e experiência profissional.

A seu Cosmo, técnico do LABCULTIVE, por me ajudar nos experimentos e pelas conversas divertidas, assim como os conselhos.

Aos meus amigos de turma, por todos os momentos, de brincadeiras, estudos, pela ajuda, por sempre apoiar uns aos outros, André, Paulo, Izaías, Edileide, Matheus, Daninha, Victinho, Bruninho, João Vitor, Maurício, Priscila, Diego... Sem vocês tudo que construí até agora não teria a mesma importância.

Em especial, ao GOLDEN TRIO, Letícia obrigada pelo carinho, puxões de orelha, conselhos, broncas, caronas pelo CCA, por sempre estar ao meu lado, principalmente quando precisei, apesar de tu não se lembrar de mim no começo do curso, eu lembro de cada momento nosso por toda essa trajetória, e também por me fazer ser menos "mole", apesar de eu ser meio distante e não falar muito, saiba que você é extremamente importante, obrigada por tudo. Felipinho, obrigada também por sempre estar comigo, me fazer cair na real, me influenciar a ser mais forte e deixar de ser chorona, passamos vários altos e baixos, nos distanciamos, mas quando a amizade é de verdade não tem

como quebrar o laço, obrigada por tudo de verdade... Eu desejo todo o sucesso do mundo para os dois, e obrigada por me fazerem companhia, um dia eu pago um cento de salgado pra vocês.

Aos meus amigos mais antigos... Guilherme por sempre levantar o meu astral, pelas cantorias, por sempre me ouvir e ter paciência. A Henrique por estar ao meu lado em tudo, por me acolher quando mais precisava, por me entupir de sushi e doces, por ter paciência comigo nos jogos e por me "xalerar" sempre. A Caio pelas gameplays de qualidade, pelos conselhos e pelos momentos de descontração. A Clara, pelos 13/14 anos de amizade, apesar de eu ser esquisitona e distante, saiba que te considero muito e espero muito que a gente se reaproxime. A Bárbara pelas fofocas, risadas, conselhos e pelo ombro amigo. A Francisco por sempre elogiar meu gosto musical, pelas fofocas, risadas, momentos de descontração e compartilhamento de músicas, principalmente de kpop.

Aos amigos do "vai alguma coisa aí?", como Will, Nat, Deivin, Téo, Camiula, Kiel, Tavinho, Fabíola e Valci, pelas risadas, memes, boas indicações de músicas, animes e mangás, pelas gameplays, pelas conversas e pelas farpas, adoro vocês.

Ao meu amigo Matheus Donato por ter paciência comigo principalmente, por sempre estar disposto a me ajudar, por me acalmar e oferecer um ombro e carinho quando preciso, pelas gameplays, pelos lanches do MC, por sempre me mandar a "real" e me encorajar a ser forte, você é muito importante pra mim e uma peça fundamental no final desse ciclo.

Aos meus amigos da Zootecnia, aos quais eu considero bastante, GG e Débora, obrigada pelas gargalhadas, cantorias, memes, conselhos, por me oferecem colo e acalento quando eu precisei, por sempre levantarem o meu astral, me carregar pros cantos, a tentarem a me ensinar a dançar, por sempre fazer com que eu me sentisse querida. A Vinícius por ter paciência com as minhas gameplays de procedência duvidosa, agradeço pelas risadas, pelas doidiças e pelo jeito descontraído e sincero... Todos vocês foram importantes e que guardo vocês no coração.

A um amigo especial, que apesar de termos cortado contato pelas adversidades da vida, foi importante na minha trajetória, sempre dizendo que as coisas iriam dar certo, acreditando no meu potencial e me fazendo rir, obrigada pelo carinho também, desejo todo o sucesso e felicidade do mundo pra ti.

A todos que de certa forma passaram na minha vida e que deixaram a sua marca, e aos que farão parte da minha vida também, deixo aqui o meu "muito obrigada".

RESUMO

Diversas espécies vegetais são exploradas por seu potencial ornamental, dentre estas, Adenium obesum, popularmente conhecida como Flor do Deserto, é uma que vem ganhando destaque mundial. O objetivo do presente trabalho foi determinar o melhor ambiente de cultivo para a germinação in vitro de A. obesum. O experimento foi realizado Celular no Laboratório de Biologia e Cultura de **Tecidos** Vegetais (LABCULTIVE/DCB/CCA/UFPB). As sementes foram inoculadas em meio de cultura ½MS semissólido e colocadas nos seguintes ambientes de cultivo: sala de crescimento, casa de vegetação sem uso de sombreamento, casa de vegetação com sob os sombreamentos de 25%, 50%, 75% e 100%. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos com 60 repetições cada, totalizando 360 sementes. Avaliou-se a percentagem de germinação, oxidação e contaminação das sementes, o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento de raiz e folhas, comprimento da parte aérea, número de folhas, diâmetro do colo e peso de massa fresca. O início da germinação in vitro ocorre de 2 a 4 dias em sala de crescimento e em ambiente telado, em relação aos ambientes de cultivo, a maior taxa de IVG foi obtido para a sala de crescimento, com 7,23/dia e em seguida o ambiente telado sem sombreamento, com 5,39/dia. A sala de crescimento e o ambiente telado sem sombreamento apresentaram as maiores percentagens de germinação, 94,6% e 71,7% respectivamente, maior comprimento de parte aérea, 3,49 cm e 2,88 cm e maior número de folhas, 3,65 e 3,05 respectivamente. As condições de germinação in vitro favorecem a germinação das sementes de A. obesum, principalmente em sala de crescimento e em ambiente telado sem sombreamento.

Palavras-chave: Flor do deserto. Micropropagação. Sombreamento. Luz natural

ABSTRACT

Many plant species are exploited for their ornamental purpose, amongst them, Adenium obesum, known popularly as Desert Flower or Desert Rose, is one that has been highlighted worldwide. The aim of this work was to determine the best cultivation environment for in vitro germination of A. obesum. The experiment was conducted at the Tecidos de Biologia Celular e Cultura Laboratório de Vegetais (LABCULTIVE/DCB/CCA/UFPB). The seeds were inoculated in a ½MS semi-solid culture medium and placed in the following cultivation environments: growth room, greenhouse without use of shading, greenhouse with the use of shading at 25%, 50%, 75% and 100%. The adopted design was randomized with six treatments with 60 repetitions each, with a total of 360 seeds. Was evaluated the percentage of germination, oxidation and seed contamination, Germination Speed Index (GSI/IVG), leaf and root length, length of the aerial part, number of leaves, neck diameter and weight of fresh mass. The in vitro germination starts in 2 to 4 days in a growth room and in a screened environment, regarding the cultivation environments, the highest IVG rate was obtained by the growth room, with 7,23/day, and followed by the screened environment without shading, with 5,39/day. The growth room and the screened environment without shading showed the highest percentages of germination, 94,6% and 71,7% respectively, the longest aerial part length, 3,49 cm and 2,88 cm, and the highest number of leaves, 3,65 and 3,05 respectively. The *in vitro* germination conditions favor the germination of A. obesum seeds, mainly in growth room and screened environment without shading.

Keywords: Desert Flower. Micropropagation. Shading. Natural light.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – S	Sementes de	e Adenium Ob	esum				19
de	cultivo	m a tela de sor em	CO	ondições	de		telado
Cultivo em s telado com s T5 - Cultiv	sala de creso sombreame vo em telac	to de <i>A. obes</i> cimento; T2 – nto de 25%; T do com somb	Telado sem [4 - Cultivo reamento c	uso de son em telado le 75%; T	nbreamento com sombr 6 - Cultivo	r; T3 – Cu reamento o em tela	ltivo em de 75%; ado com
0	_	n total da geri	•		-		
ambientes c sombreamer com sombre Cultivo	le cultivo. nto; C – Cul eamento de em	de <i>Adenium</i> (A — Cultivo tivo em telado telado	em sala de com somb ultivo em to com	e crescimer reamento d elado com sombrean	nto; B —Te e 25%; D - sombreame nento	elado sem Cultivo en ento de 7 de	uso de m telado 5%; F - 100%.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos (ambientes de cultivo) utilizados para a germinaçãoin vitro de Adenium obesum
Tabela 2 – Índice de velocidade de germinação (IVG), percentagem de oxidação e contaminação das sementes de <i>A. obesum</i> em função dos tipos de ambiente de cultivo
Tabela 3 — Resumo da análise de variância para germinação, oxidação, índice de velocidade de emergência (IVG) e contaminação de <i>A. obesum</i> sob diferentes ambientes de cultivo
Tabela 4 – Resumo da análise de variância para germinação de <i>A. obesum</i> sob diferentes tratamentos 26
Tabela 5 – Médias obtidas para comprimento de raiz (C. Raiz), comprimento da parte aérea (C. Aérea), número de folhas (N° Folhas), comprimento da maior folha (CMF.), diâmetro do colo (D.C) e massa fresca (M. Fresca), de <i>A. obesum</i> sob diferentes ambientes de cultivo
Tabela 6 – Resumo da análise de variância para comprimento de raiz (C. Raiz), comprimento da parte aérea (C. Aérea), número de folhas (N° Folhas), comprimento da maior folha (CMF.), diâmetro do colo (D.C) e massa fresca de <i>A. obesum</i> em diferentes ambientes de cultivo <i>in vitro</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇAO GERAL	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Importância das plantas ornamentais	14
2.2	Cultivo in vitro de plantas	15
2.3	Uso da luz natural	17
3	OBJETIVOS	18
4	MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1	Obtenção e preparo das sementes	19
4.2	Meio de cultivo	19
4.3	Pré-inoculação das sementes e germinação in vitro	20
4.4	Delineamento experimental e análise estatística	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
6	CONCLUSÕES	30
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um país com características de clima diversificado, o que acaba possibilitando o cultivo das mais variadas espécies de plantas. Nesse cenário, a floricultura comercial é uma atividade profissional e empresarial de grande importância, representando um dos mais promissores segmentos do agronegócio brasileiro. Segundo dados do BNB (2018), o segmento da produção de flores no Brasil agrega mais de oito mil produtores e movimenta cerca de 1,6 bilhão de reais. No Nordeste já são mais de 1.100 produtores de 1.297 municípios, que cultivam dois mil hectares de flores e plantas ornamentais (BNB, 2018).

As espécies de Apocynaceae têm sido relatadas com grande potencial ornamental, utilizadas em parques e jardins, como aquelas pertencentes aos gêneros: *Catharanthus*, *Nerium, Plumeria* e *Thevetia*. Esta é uma das famílias mais representativas de Angiospermas, com cerca de 255 gêneros e 3700 espécies, com distribuição predominantemente pantropical (MORALES 2005; ENDRESS et al. 2014), incluindo o Brasil com 77 gêneros e 753 espécies registradas (BFG 2015).

Adenium obesum, conhecida popularmente como a Flor do Deserto ou Rosa do Deserto, é uma espécie da família Apocynaceae distribuída em regiões subtropicais, com algumas representantes em regiões temperadas. Esta espécie vem ganhando destaque como ornamental em virtude da presença de ramos espessos com base caulinar dilatada, além de folhas verdes escuras e flores em diversas colorações, que valorizam sua estética (ROMAHN, 2012).

No processo de produção de espécies ornamentais, inclusive a *A. obesum*, o plantio e germinação das sementes é uma das etapas mais importantes na produção. Cabe ao produtor ou a quem desejar produzi-la, a necessidade de utilizar mão-de-obra experiente e tecnologias que maximizem a obtenção de mudas de qualidade (LIMA, 2018). Inclusive, é notório o interesse da comunidade científica na propagação de espécies ornamentais, porém as pesquisas com a Rosa do Deserto ainda são escassas e não há um protocolo padrão para a germinação da espécie.

A propagação *in vitro* pode ser um meio bastante eficiente para o desenvolvimento de mudas dessa espécie, pois para algumas ornamentais, essa forma de propagação é bastante utilizada e difundida comercialmente. No entanto, há poucas informações sobre o cultivo *in vitro* da espécie *A. obesum*, o único estudo realizado foi para protocolos de meios nutritivos e o desenvolvimento de diferentes variedades da espécie.

A propagação *in vitro* de plantas tem apresentado algumas vantagens, como possibilitar maior controle sobre a sanidade do material propagado e também possibilitar a obtenção de um grande número de plantas, a partir de um único explante inicial, independentemente de condições climáticas; redução do tempo e da área necessária à propagação da espécie; melhores condições sanitárias por meio do cultivo de meristemas previamente tratados por termoterapia, para eliminação de doenças; reprodução do genótipo da mãe, geralmente com fidelidade durante multiplicação e a propagação vegetativa de espécies difíceis de serem propagadas por outros métodos (CARVALHO et al., 2006).

Os diferentes ambientes de cultivo, como o telado, por exemplo, podem auxiliar numa melhor performance das plantas cultivadas *in vitro*, tornando o ambiente mais próximo das condições em que elas crescem *in vivo*, aumentando assim a taxa de sobrevivência. Na literatura não foram encontrados trabalhos de cultivo *in vitro de A. obesum* fazendo uso de luz natural, é utilizada para o cultivo *in vitro* de algumas espécies como banana, abacaxi, orquídeas, violeta africana, crisântemo, entre outras (KODYM e ZAPATA-ARAIAS, 1999; KOZAI; KUBOTA, 2001; AGRA et al., 2006; COSTA et al., 2009; SILVA et al., 2008; BORGES et al. 2011; BRAGA et al., 2009, 2011; SANTOS, 2014).

Este trabalho tem por objetivo contribuir com informações sobre a germinação *in vitro* de *Adenium obesum* sob diferentes ambientes de cultivo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância das plantas ornamentais

O uso de plantas ornamentais é uma atividade praticada pelo homem desde os tempos da antiguidade. Sendo assim, a floricultura, entendida como o conjunto das atividades produtivas e comerciais relacionadas ao mercado das espécies vegetais cultivadas com finalidades ornamentais, constitui-se em um dos mais novos, dinâmicos e promissores segmentos do agronegócio brasileiro. Iniciada comercialmente a partir da década de 1950, pelo trabalho e iniciativa de imigrantes holandeses (na região hoje pertencente ao município de Holambra/SP), japoneses (em Atibaia/SP) e alemães e poloneses (em Santa Catarina e Rio Grande do Sul), passou a receber forte impulso de crescimento, notadamente na última década, o qual foi puxado pela evolução favorável de indicadores socioeconômicos, pelas melhorias no sistema distributivo destas mercadorias e pela expansão da cultura do consumo das flores e plantas, como elementos expoentes de qualidade de vida, bem estar e reaproximação com a natureza. (SEBRAE, 2015).

A Floricultura é uma atividade econômica de grande importância para o Agronegócio Brasileiro, as exportações nacionais somaram 11,50 milhões de dólares no ano de 2018, com a participação de 71,9% do Sudeste, 19,8% do Sul e 5,5% do Nordeste, que ficou em terceiro lugar, com as exportações saindo do Ceará (533 mil dólares – o que representa 83,8% da Região) e Rio Grande do Norte (103 mil dólares) (BNB, 2019).

Dentre as ornamentais, uma vem ganhando cada vez mais destaque na cadeia produtiva, a *A. obesum* (Flor do Deserto), com uma demanda cada vez mais crescente, solicitada principalmente por floricultores e paisagistas para utilização na decoração de ambientes internos e externos. O principal motivo da sua grande procura é por ser uma planta ornamental com uma beleza única em suas flores, e também da planta como um todo. Segundo VARELLA, *et al* (2015), a Rosa do Deserto, como é popularmente conhecida, é uma das plantas ornamentais mais cultivadas no Brasil, devido à arquitetura diferenciada da planta, sua resistência a seca e flores vistosas que apresentam variação de cor, forma e tamanho. A *Adenium obesum* é uma planta pertencente à família das Apocynaceae, é originária do continente Africano e da Arábia, por serem plantas suculentas, são encontradas principalmente em regiões de clima tropical, subtropical e temperado (SENNBLAD; BREMER, 2002). *Adenium obesum* possui frutos simples do

tipo folículo de 15 a 25 cm de comprimento e sua propagação ocorre principalmente por sementes (COLOMBO *et al.* 2015), no entanto, para obtenção das sementes é necessária a polinização natural por agentes bióticos ou manual feita pelo homem, uma vez que suas flores apresentam estruturas reprodutivas com forte hercogamia, que evita a autogamia nas espécies de Apocynaceae s.str. (SCHICK 1982). A planta apresenta caule engrossado na base, uma adaptação para guardar água e nutrientes em locais áridos. Floricultores relatam que o engrossamento da base do caule pode ser moldado e alcançar altos valores de mercado, porém essa característica não se manifesta quando a planta é propagada por meio vegetativo. (PORTES *et al*, 2018)

A rosa do deserto não tolera temperaturas abaixo de 10°C e solos encharcados, por tanto seu cultivo deve ser realizado sob sol pleno ou a meia-sombra e as regas devem ser feitas somente quando necessário (VERDE, 2015). A propagação dessa espécie se dá por sementes, estacas ou transplantes (RASAD et al., 2015), o primeiro método não é confiável quanto à produção (VARELLA et al., 2015), já o método vegetativo não consegue manifestar a característica de engrossamento da base do caule, atributo que pode ser moldado para alcançar altos valores no mercado, segundo floricultores.

Estas características diferenciadas conferem a planta um alto valor ornamental, no entanto, existe uma escassez de informações em consequência acarreta uma dificuldade de sua produção em larga escala (SANTOS et al., 2015).

2.3 Cultivo *in vitro* de plantas

O princípio do cultivo *in vitro* teve origem a partir de uma série de trabalhos de Haberlandt, realizados em 1902, tem como base o princípio da totipotência celular, que indica que qualquer célula vegetal tem o potencial para regenerar uma nova planta completa. Essa capacidade dos tecidos vegetais cultivados *in vitro* para formar gemas, raízes ou embriões somáticos, tem despertado a atenção de pesquisadores em virtude de sua grande implicação prática e importância para o avanço dos conhecimentos nas áreas de fisiologia, bioquímica e genética de plantas (KERBAUY, 1999). O cultivo *in vitro* envolve um conjunto de técnicas, mediante as quais células, tecidos, órgãos e plantas inteiras são cultivados de forma asséptica em um meio nutritivo, sob condições controladas de densidade de fluxo de fótons, fotoperíodo e temperatura (CARVALHO *et al.*, 2011). Para COUTO (2003), SOUZA *et al.* (2006), GEORGE *et al.* (2008) e SILVA

(2016), o cultivo *in vitro* possui entre as suas técnicas a micropropagação; o cultivo de protoplasto e a conservação de germoplasma. Apresenta-se como uma possibilidade de produção de mudas de plantas em grande escala, manutenção das características genéticas, mediar processos biotecnológicos e tudo isso, se constitui em um importante instrumento no desenvolvimento da agricultura e consequentemente, da floricultura.

Nesse sentido, a germinação *in vitro* para algumas espécies permite maior germinabilidade de suas sementes, possivelmente, em função das condições do cultivo *in vitro* oferecer maior controle do que as condições de viveiro (NOLETO & SILVEIRA 2004). Além disso, as plântulas obtidas a partir da germinação das sementes *in vitro* podem ser utilizadas para estudos alternativos que visem o desenvolvimento de protocolos, para servir de base para outras técnicas biotecnológicas (Xavier *et al.* 2009). Cabe ressaltar ainda, que a reprodução das plântulas *in vitro*, embora apresente custo mais elevado, permite um desenvolvimento mais rápido quando comparado com aquelas obtidas por germinação em viveiros ou sistemas naturais (CORREIA *et al.*, 2011).

O meio de cultura em que sementes são colocadas para germinação, fornecem os macronutrientes e micronutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento da plântula *in vitro*. O meio de cultura apresenta de forma geral em sua composição: água destilada e/ou deionizada, nutrientes minerais (macro e micronutrientes) e vitaminas, além de uma fonte de carbono externa (comumente a sacarose, na concentração de 2 a 5 %). Outros componentes, tais como aminoácidos, carvão ativado, antioxidantes e misturas complexas (água de coco, polpa de banana, etc.) também podem ser adicionados ao meio a fim de otimizar determinada resposta, bem como fungicidas e antibióticos para o controle da contaminação (SILVA & FERREIRA, 2016).

Existem várias formulações diferentes de meio de cultura, uma vez que existe variação em nutrição para diferentes espécies de plantas. Porém, o meio MS, formulado por MURASHIGE & SKOOG em 1962, é o mais conhecido e utilizado em trabalhos de cultivo *in vitro*. Segundo SILVA & FERREIRA (2016), pelo fato deles terem trabalhado com o tabaco, uma espécie que apresenta alta demanda nutricional, e terem sido extremamente criteriosos na seleção das diferentes fontes de nutrientes, o que acabou permitindo a aplicação do meio MS para o cultivo de diferentes espécies, se tornando um "protocolo padrão".

Durante o cultivo *in vitro*, as plantas são mantidas em recipientes fechados que limitam o espaço e as trocas gasosas, onde há uma alta umidade relativa do ar (UR > 95%), baixa intensidade luminosa (20 - 60 μmol m-2 s-1), baixa concentração de CO₂ e

acúmulo de etileno. Além disso, o meio de cultura apresenta elevada concentração de carboidratos; sendo assim, as plantas neste sistema exibem metabolismo heterotrófico ou mixotrófico (KOZAI, 2010).

2.3 Uso da luz natural

Para o cultivo *in vitro*, o padrão é o uso de sala de crescimento, pois proporciona uma boa germinação e desenvolvimento das plântulas, para a maioria das culturas. Na sala de incubação ou também chamada de crescimento, é usada com temperatura de 25 ±2°C e 50 a 60 mmol.m².s¹¹ de intensidade luminosa e fotoperíodo de 16 horas. Salas de crescimento, geralmente, são equipadas com lâmpadas fluorescentes que emitem luz branca de similaridade espectral entre as bandas. A irradiância fornecida primariamente na sala de crescimento afeta o desenvolvimento das plantas, principalmente por meio de alterações fotomorfogênicas, alterações estas observadas, principalmente, na formação dos tecidos do mesofilo e na ineficiência do mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos, afetando sua funcionalidade (REZENDE, et al. 2008).

As salas de crescimento também representam um dos maiores custo na produção de mudas micropropagadas, tornando a técnica bastante onerosa. KODYM & ZAPATA-ARIAS, (1999) afirmam que em 90% dos trabalhos científicos as lâmpadas fluorescentes brancas-frias são citadas como a principal fonte de luz utilizada na sala de crescimento. Sendo que a iluminação é responsável por, aproximadamente, 65% do total dos gastos de energia elétrica utilizada no laboratório de micropropagação. Entre os fatores relacionados à condição heterotrófica das plantas *in vitro*, destaca-se a adição de fonte externa de luz e carboidrato ao meio de cultura (KOZAI *et al.*, 1991; REZENDE *et al.*, 2008; SANTANA *et al.*, 2008). Para auxiliar na fonte de energia para as plântulas *in vitro*, a sacarose é a fonte de carbono mais utilizado na cultura de tecidos e ela é incorporada ao meio de cultivo para facilitar o crescimento. Essa condição heterotrófica de cultivo, resulta em diversas alterações morfológicas e fisiológicas de plântulas cultivadas *in vitro*, que são responsáveis por grande parte das perdas durante a aclimatização.

A micropropagação fotoautotrófica é o cultivo que consiste em um sistema de cultivo *in vitro* em ambiente de luz natural (BRAGA *et al.*, 2011). Trabalhos efetuados têm demonstrado que a micropropagação fotoautotrófica, ou seja, utilizando um aumento de irradiação, tem apresentado algumas vantagens, quando comparada aos sistemas convencionais de micropropagação (ROCHA *et al.*, 2007; BRAGA *et al.*, 2009)

Sendo assim, a propagação com uso de luz natural vem sendo estudada como uma forma de reduzir os custos com a energia nas salas de cultivo. Para ERIG & SCHUCH (2005), o uso do cultivo *in vitro* com o uso da luz natural, representa uma boa alternativa na redução dos custos, por meio de redução dos gastos com a energia elétrica, melhorando indiretamente a qualidade das plantas, consequentemente minimizando as mortes na etapa de aclimatização, que é quando as plantas saem da condição *in vitro* para a condição *ex vitro*.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

 Obter a germinação e averiguar o melhor ambiente de cultivo para a germinação in vitro de Adenium obesum (Flor do Deserto)

2.2 Específicos

- Caracterizar a germinação in vitro de A. obesum
- Averiguar se é viável a germinação in vitro de A. obesum em condições de cultivo em ambiente de telado;
- Averiguar qual a condição de sombreamento é mais favorável à germinação in vitro no cultivo de A. obesum em ambiente telado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Celular e Cultura de Tecidos Vegetais (LABCULTIVE) e em casa de vegetação, ambos pertencentes ao Departamento de Ciências Biológicas (DCB), do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), durante o período de janeiro a abril de 2020.

4.1 Obtenção e preparo das sementes

As sementes de *A. obesum* foram obtidas de uma empresa produtora e fornecedora de sementes de plantas ornamentais, localizada no Paraná (OLIVEIRA N. SEMENTES). Em seguida, foram levadas para o laboratório, retiradas da embalagem e postas em placas de petri, onde foram misturadas, homogeneizadas e padronizadas quanto a tamanho e coloração (Figura 1).



Figura 1: Sementes de Adenium obesum. (Fonte: acervo pessoal)

4.2 Meio de cultivo

O meio de cultivo utilizado para a germinação das sementes foi o meio de cultura MS semissólido proposto por MURASHIGE e SKOOG, (1962), em proporções reduzidas pela metade. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição 2,0 g/L⁻¹ de carvão ativado e de 7,0 g/L⁻¹ de ágar. Em seguida, o meio foi distribuído em tubos de

ensaio, cada um com 6 mL e posteriormente tampados com papel alumínio, e depois foram autoclavados a 120 °C e na pressão de 1,5 atm, por 20 minutos.

4.3 Pré-inoculação das sementes e germinação in vitro

As 360 sementes, após a padronização, foram separadas aleatoriamente em seis lotes distribuídas de acordo com os seis diferentes tratamentos. Em seguida, foi realizado o processo de desinfecção, onde ocorreu a lavagem das sementes três vezes com água destilada autoclavada, depois imersas em álcool 70% agitando-se por um minuto, posteriormente, as sementes foram lavadas mais três vezes em água destilada autoclavada, por último foram imergidas em solução de hipoclorito de sódio (2,5% v/v), e mantidas sob uma agitação contínua por 20 minutos no agitador automático. Ainda na solução, as sementes foram levadas para a capela de fluxo laminar, retiradas do hipoclorito de sódio e lavadas mais três vezes com água destilada autoclavada, a fim de remover os resquícios do hipoclorito e de qualquer agente descontaminante remanescente.

As sementes foram inoculadas nos tubos de ensaio e em seguida levadas para incubação nos diferentes ambientes que constituíram os tratamentos, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos (ambientes de cultivo) utilizados para a germinação *in vitro* de *A. obesum*. Areia – PB, 2020

TRATAMENTOS	DESCRIÇÃO
T1	Cultivo em sala de crescimento
T2	Cultivo em ambiente telado sem uso de sombreamento
T3	Cultivo em ambiente telado com sombreamento de 25%
T4	Cultivo em ambiente telado com sombreamento de 50%
T5	Cultivo em ambiente telado com sombreamento de 75%
T 6	Cultivo em ambiente telado com sombreamento de 100%

Os materiais utilizados para os sombrites foram: caixotes plásticos, grampos e as telas de sombreamento AGRONET com bloqueio de 25% e 50% e sobreposições para os demais sombreamentos.



Figura 2: Estruturas com a tela de sombreamento utilizadas nos diferentes ambientes de cultivo em condições de telado. (Fonte: acervo pessoal)

Após a inoculação das sementes em capela de fluxo contínuo, as amostras do Tratamento 1 foram transferidas para a sala de crescimento, onde foram mantidas na presença de luz com um fotoperíodo de 16 horas com intensidade de 50 a 60 mmol.m².s⁻¹ e temperatura de 25±2 °C. Os demais cultivos dos tratamentos com os diferentes sombreamentos foram levados para o ambiente telado.

4.4 Delineamento experimental e análise estatística

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo no total de seis tratamentos (ambientes de cultivo) com 60 repetições cada, totalizando 360 tubos contendo uma semente cada.

As avaliações ocorreram diariamente, onde foi avaliada a percentagem de germinação, de contaminação e oxidação das sementes, sendo analisados diariamente após o início da instalação do teste.

Avaliou-se o IVG (índice de velocidade de germinação), sendo calculado segundo a equação de Maguire (1962), em que: IVG= G1/D1 + G2/D2 + ... Gn/Dn. Onde: IVG= Índice de Velocidade de Germinação

G1, G2, ..., Gn= nº de radículas emergidas, observadas no intervalo da 1ª, 2ª, ..., última contagem;

D1, D2, ..., Dn= nº de dias de semeadura à 1ª, 2ª, ..., última contagem.

Com 30 dias após a inoculação das sementes, as plântulas foram avaliadas quanto desenvolvimento em relação ao comprimento da raiz, comprimento da parte aérea, número de folhas, comprimento da maior folha, diâmetro do colo e peso de massa fresca. Para temperatura, as médias máximas e mínimas da casa de vegetação foram obtidas através de leituras realizadas diariamente, com auxílio de termômetros.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade. O programa para a análise dos dados foi o software estatístico SISVAR® versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de germinação (figura 3) mostra que houve a protusão da raiz primária nas sementes de *A. obesum* a partir do segundo dia após a semeadura.

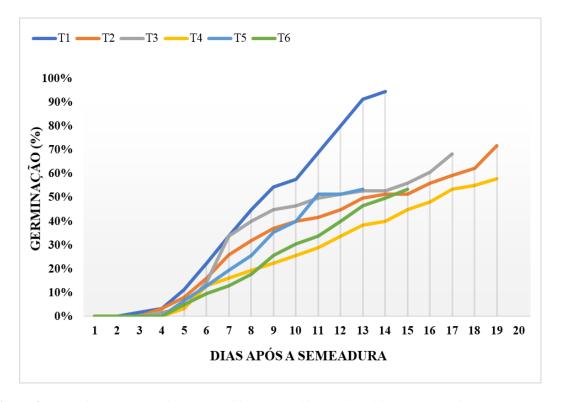


Figura 3 - Germinação de *A. obesum* nos diferentes ambientes de cultivo. T1 – Cultivo em sala de crescimento; T2 – Telado sem uso de sombreamento; T3 – Cultivo em telado com sombreamento de 25%; T4 - Cultivo em telado com sombreamento de 75%; T5 – Cultivo em telado com sombreamento de 75%; T6 - Cultivo em telado com sombreamento de 100%. Fonte: Mariana Dias

Para o T1, a germinação ocorreu do segundo dia até o décimo quarto dia após a semeadura, ocorrendo altos índices de emergência. Para o T2, as sementes começaram a germinar a partir do terceiro dia até o décimo nono dia. No T3, a germinação deu início a partir do terceiro dia e se estendeu até o décimo oitavo dia. No T4, a germinação iniciouse a partir do quarto dia após a inoculação e continuou até o décimo nono dia. No T5, a germinação iniciou-se a partir do quarto dia e foi até o décimo terceiro dia. No T6, as sementes germinaram a partir do quarto dia e se estenderam até o décimo quinto dia.

A germinação *in vitro* no T1, T2 e T3 houve uma antecipação em relação ao de VARELLA *et al* (2015), que em seu experimento com germinação *in vitro* de diferentes variedades de Flor do Deserto, conseguiram germinação a partir do quarto dia após a inoculação e que também após o décimo dia de cultivo, já era possível observar o cotilédone e a expansão foliar. A germinação *in vitro* mostrou-se também mais rápida em

relação ao método *ex vitro*. Observando os dados registrados por COLOMBO *et al* (2015), a germinação da Flor do Deserto ocorreu 4 dias após a semeadura, quando foi registrada a ruptura do tegumento e a protusão da raiz primária. No experimento realizado por RODRIGUES (2017), a germinação pode ocorrer em até uma semana, com uma temperatura de aproximadamente de 29 °C.

O IVG, taxa de oxidação e contaminação nos diferentes ambientes de cultivo podem ser observados na Tabela 2. O T1, obteve o maior IVG (7,23) diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos (tabela 3), em seguida vem o T2 com 5,39. Vale ressaltar que, quanto maior o IVG, maior a velocidade de germinação diária. Enquanto isso, as sementes submetidas a um maior sombreamento obtiveram maior tempo para a germinação, consequentemente um menor IVG.

Tabela 2 – Índice de velocidade de germinação (IVG), percentagem de oxidação, e contaminação das sementes de *A. obesum* nos diferentes ambientes de cultivo *in vitro*. Areia – PB, 2020

Tratamentos	IVG	Oxidação	Contaminação	
		%	%	
T1	7,23a	5,00b	0,00c	
T2	5,39b	21,67a	6,67c	
T3	5,24c	21,67a	10,00c	
T4	4,21e	23,33a	16,67b	
T5	4,32d	30,00a	16,67b	
T6	4,22e	13,33b	33,33a	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna são iguais entre si a 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott. T1= Sala de crescimento; T2= Ambiente telado sem sombreamento; T3 = Ambiente telado com sombreamento de 25%; T4 = Ambiente telado com sombreamento de 50%; T5 = Ambiente telado com sombreamento de 75%; T6 = Ambiente telado com 100% de sombreamento

Tabela 3 - Resumo da análise de variância para germinação, oxidação, índice de velocidade de emergência (IVG) e contaminação de *A. obesum* sob diferentes ambientes de cultivo. Areia – PB, 2020

Fontes de GL		Quadrado Médio			
Variação		IVG	Oxidação	Contaminação	
Tratamento	5	7,97*	458,33*	784,44*	
Resíduo	30	0,002362	66,11	57,77	
CV (%)		0,10	185.65	243,57	
Média		5,43	19,16	13,89	

^{*:} significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; CV – Coeficiente de variação; GL – Grau de liberdade.

A oxidação e contaminação são variáveis indesejadas no cultivo *in vitro*, a oxidação é causada pela reação das polifenoxidases sobre compostos fenólicos e pode levar a morte do embrião da semente, ou prejudicar as fases iniciais de desenvolvimento, causando anomalias em alguns casos (BEWLEY & BLACK, 1994). PREECE & COMPTON (1991), caracterizaram as substâncias encontradas em meio de cultura para algumas espécies e as identificaram como sendo fenóis, flavonóides e taninos, responsáveis pela oxidação. A reação é caracterizada pelo escurecimento da semente ou ápice caulinar, ou até mesmo do meio de cultivo (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). No ambiente telado, as taxas de oxidação foram maiores do que no ambiente de sala de crescimento, T1 apresentou apenas 5% de oxidação. A temperatura elevada junto com suas oscilações, e a maior intensidade de luz, influenciaram a maiores taxas de oxidação, já que são fatores que aceleram reações químicas. Foi observada uma média de temperatura no ambiente telado no período do experimento de 27,05 °C, sendo a média temperatura mínima observada de 22,2 °C, e a máxima de 30,2 °C.

Os tratamentos realizados em casa de vegetação, apresentaram contaminação por nas amostras exclusivamente por fungos, enquanto que no T1, realizado em sala de crescimento, a taxa de agentes contaminantes foi nula. A metodologia de desinfestação de sementes também é primordial para manter um meio de cultura isento de contaminação. De acordo com GEORGE (1993), o estabelecimento de uma cultura asséptica é a fase mais crítica da micropropagação. Segundo CARVALHO (2010), a temperatura tem uma grande influência no crescimento dos microrganismos. A presença de fungos e bactérias é um fator que pode reduzir tanto a capacidade germinativa quanto o vigor das sementes e de acordo com SOUSA *et al* (2007), um dos maiores problemas da produção em escala comercial é a contaminação do meio nutritivo por fungos e bactérias durante as etapas do cultivo *in vitro*.

A contaminação estabelece-se no meio de cultura e/ou material vegetal competindo pelos nutrientes, produzindo substâncias tóxicas e inibindo o desenvolvimento da semente, ocasionando assim, na sua perda e que a princípio, existem quatro fontes de contaminação: a fonte de explante, meio nutritivo, o ambiente e operador (habilidade) (SOUSA *et al*, 2007). A contaminação apresentou suas maiores taxas no ambiente telado, de acordo com MOLINARO *et al* (2009) fungos cosmopolitas estão presentes em vários locais, como por exemplo no ar e no solo, a casa de vegetação é um ambiente mais propício a proliferação desses fungos e alguns se desenvolvem e reproduzem melhor em ambientes úmidos e com menor intensidade luminosa.

A figura 4 indica a percentagem total de germinação de *A. obesum*, onde pode-se observar que houve diferença estatística entre os tratamentos (tabela 4), T1 e T2 apresentaram as melhores taxas de germinação.

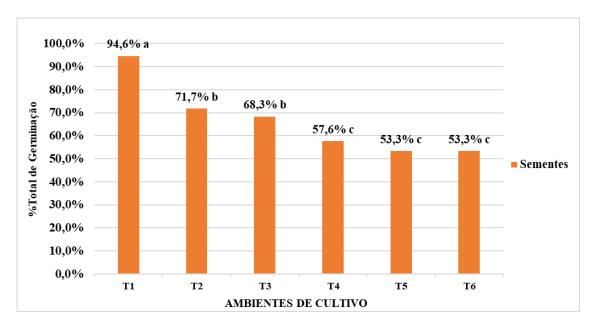


Figura 4: Percentagem total da germinação de *A. obesum* em diferentes ambientes de cultivo. T1 – Cultivo em sala de crescimento; T2 – Telado sem uso de sombreamento; T3 – Cultivo em telado com sombreamento de 25%; T4 - Cultivo em telado com sombreamento de 75%; T5 - Cultivo em telado com sombreamento de 75%; T6 - Cultivo em telado com sombreamento de 100%. Fonte: Mariana Dias

Tabela 4 - Resumo da análise de variância para germinação de *A. obesum* sob diferentes tratamentos. Areia – PB, 2020

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio
		Germinação
Tratamento	5	1446.01*
Resíduo	30	98,59
CV (%)		14,85
Média		66,86

^{*:} significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; CV – Coeficiente de variação; GL – Grau de liberdade.

O T1 apresentou a maior taxa de germinação, 94,6%, o T2 atingiu com 71,7% de germinação e os tratamentos 3, 4, 5 e 6 obtiveram menor percentagem de germinação. Isso mostra que *A. obesum* necessita de uma alta incidência de luz para sua germinação, mostrando ter sementes fotoblásticas positivas, ou seja, apresentam maior germinação e/ou maior velocidade de germinação na presença de luz, além do fato de ser originária de regiões áridas, onde há grande incidência de luz e temperaturas elevadas. VIEIRA *et*

al (2004), obteve a maior germinação de Cryptostegia madagascariensis (Apocynaceae), cerca de 90%, em luz ambiente (sem sombreamento) a uma temperatura de 30°C. Os efeitos da luz no processo germinativo ocorrem pela chegada da luminosidade pelo fitocromo que ativa os processos germinativos da semente (FERRAZ & TAKAKI, 2006). SANTOS et al (2015), utilizando papel Germitest umedecidos com água a uma temperatura de 30°C, obtiveram uma média de germinação de cerca de 71,25%, semelhante ao resultado *in vitro* cultivado em telado sem sombreamento.

Os parâmetros fitotécnicos (tabela 5) foram analisados para o desenvolvimento *in vitro* de *A. obesum.*

Tabela 5 – Médias obtidas para comprimento de raiz (C. Raiz), comprimento da parte aérea (C. Aérea), número de folhas (N° Folhas), comprimento da maior folha (CMF.), diâmetro do colo (D.C) e massa fresca (M. Fresca), de *A. obesum* nos diferentes ambientes aos 30 dias de cultivo *in vitro*. Areia – PB, 2020

Tratamentos	C.	C.	N°	CMF	DC	M. Fresca
	Raiz	Aérea	Folhas			
	cm	cm		cm	cm	g
T 1	3,20a	3,49a	3,65a	0,98a	0,38a	0,31a
T 2	1,96b	2,88a	3,05a	0,93a	0,37a	0,24a
T 3	1,72b	2,65b	2,50b	0,64a	0,34a	0,25a
T 4	2,02b	2,38b	2,10b	0,69a	0,29b	0,19b
T 5	1,64b	2,08b	2,05b	0,68a	0,27b	0,17b
T 6	1,26b	2,09b	2,05b	0,62a	0,21b	0.17b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna são iguais entre si a 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott. T1= Sala de crescimento; T2= Ambiente telado sem sombreamento; T3 = Ambiente telado com sombreamento de 25%; T4 = Ambiente telado com sombreamento de 50%; T5 = Ambiente telado com sombreamento de 75%; T6 = Ambiente telado com 100% de sombreamento.

O cultivo em sala de crescimento (T1), apresentou as maiores médias para comprimento de raiz, cerca de 3,20 cm, comprimento da parte aérea com 3,49 cm, maior quantidade de número de folhas, maior média de diâmetro do colo, medindo 0,38cm e maior peso de matéria fresca, com 0,31 gramas. O T2 (telado sem uso de sombreamento), apresentando médias para comprimento de raiz de 1,96 cm, comprimento de parte aérea com 2.88 cm, número de folhas com média de 3,05, diâmetro do colo com 0,37 cm e teor de massa fresca de 0,24 gramas. T1 e T2 não diferiram entre si estatisticamente na maior parte das análises fitotécnicas, apenas em comprimento de raiz que houve diferença entre os dois primeiros tratamentos, sendo assim estes dois tratamentos apresentaram os melhores parâmetros de desenvolvimento aos 30 dias de cultivo.

VARELLA *et al* (2015), após 30 dias do cultivo *in vitro* de Flor do Deserto, encontraram uma média de 3,15 cm para maior média de altura da planta com a variedade "Orange Pallet", para número de folhas encontraram uma média de 2,7 e para a variedade "Vermiliont" encontraram uma altura de planta de cerca de 3,82 e número de folhas com média de 3,40. RODRIGUES (2017) obteve altura de planta de 3,08 cm, 3,67 para número de folhas e 0,64 cm cultivando a Rosa do Deserto *ex vitro* após 60 dias de semeadura, utilizando substrato casca de pinus 75% + húmus 25%.

Conforme análise de variância (tabela 6), as características comprimento de raiz, comprimento da parte aérea, número de folhas, diâmetro do colo e peso de massa fresca, apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto que o comprimento de folha, não apresentou resultados significativos.

Tabela 6 - Resumo da análise de variância para comprimento de raiz (C. Raiz), comprimento da parte aérea (C. Aérea), número de folhas (N° Folhas), comprimento da maior folha (CMF.), diâmetro do colo (D.C) e massa fresca de *A. obesum* em diferentes ambientes de cultivo *in vitro*.

Fontes de	GL	Quadrado médio					
Variação		C. Raiz	C. Aérea	N° Folhas	CMF.	DC	M. Fresca
Tratamento	5	9,13*	6,26*	8,65*	0,50 ^{ns}	0,08*	0,06*
Resíduo	114	3,29	1,91	2,59	0,31	0,02	0,02
CV (%)		92,88	53,69	62,80	73,28	45,82	70,67
Média		1,95	2,58	2,56	0,76	0,31	0,22

ns, e *: não significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; CV – Coeficiente de variação; GL – Grau de liberdade.

No geral, o comprimento de parte aérea, nos tratamentos em casa de vegetação sem sombreamento e com sombreamento, apresentou resultados inferiores aos observados em sala de crescimento no laboratório. O mesmo foi observado por DIGNART (2006) que obteve resultados semelhantes, sendo o ambiente sala de crescimento mais eficiente no crescimento de parte aérea em plântulas de orquídeas cultivadas *in vitro*. Estes resultados podem ser explicados pela baixa luminosidade da sala de crescimento em relação a luz natural, caracterizando um crescimento estiolado dessas plântulas.

Porém, o T2, apresentou bons resultados, se aproximando dos valores obtidos em sala de crescimento, tornando o uso da luz natural uma alternativa viável para o desenvolvimento de *A. obesum in vitro*, podendo baratear os custos de produção da

técnica com o uso do ambiente telado. AHLOOWALIA & SAVANGIKAR (2004) afirmam que muitas plântulas cultivadas *in vitro* são capazes de tolerar altas flutuações de temperatura e se adaptam melhor às condições de campo, quando aclimatizadas, do que aquelas que são cultivadas sempre sob a mesma temperatura no ambiente de sala de crescimento dos laboratórios.

Na figura 5, verificam-se plântulas dos seis tratamentos aos 30 dias após a inoculação das sementes.

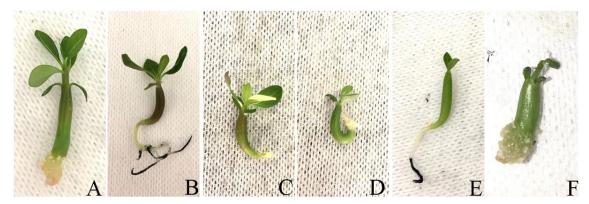


Figura 5: Plântulas de *Adenium Obesum* aos 30 dias de germinadas em diferentes ambientes de cultivo. A – Cultivo em sala de crescimento; B – Telado sem uso de sombreamento; C – Cultivo em telado com sombreamento de 25%; D - Cultivo em telado com sombreamento de 50%; E - Cultivo em telado com sombreamento de 75%; F - Cultivo em telado com sombreamento de 100%. Fonte: acervo pessoal.

O T6, devido ao sombreamento total (100%), apresentou desenvolvimento deformado em alguns indivíduos, VIEIRA *et al* (2004) observou com *Cryptostegia madagascariensis*, que o número de plantas deformadas atingiu 56% na ausência de luz e 0% em luz ambiente.

Poucos trabalhos foram realizados com o cultivo *in vitro* de *A. obesum*, os poucos existentes são com o objetivo de obter protocolos para meios nutritivos. Estudos sobre níveis de irradiância e uso de luz natural para o desenvolvimento *in vitro* da espécie precisam ser aprofundados.

6 CONCLUSÕES

A germinação *in vitro* de *Adenium obesum* ocorreu nos diferentes ambientes de cultivo;

O início da germinação *in vitro* ocorre de 2 a 4 dias em sala de crescimento e em ambiente de telado;

Sala de crescimento (T1) e ambiente telado sem sombreamento (T2), apresentaram as maiores percentagens de germinação e melhores médias no desenvolvimento das plântulas, sendo que, T2 foi o que mais se aproximou dos resultados de sala de crescimento (ambiente controlado), apontando o uso da luz natural como uma alternativa.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKA SINGH, SACHIN CHAVAN, A.J. BHANDARI, VIPUL PAREKH, H.P. SHAH AND PATEL, B.N. 2019. New Multipetalous Variety G. Ad.1 of Adenium obesum. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 8(07): 197-203

BANCO DO NORDESTE DO BRASIL – BNB, 2018. BNB Transparente. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/documents/80223/4049480/42_Flores_2018.pdf/022d87e8-c8db-1a98-b760-419661cf4e25 . Acesso em: 29 março de 2020.

BANCO DO NORDESTE DO BRASIL – BNB, 2019. BNB Transparente: FLORES E PLANTAS ORNAMENTAIS. Disponível em:

https://www.bnb.gov.br/documents/80223/5856103/95_Flores.pdf/9892c7f1-2a77-5de7-9fbd-4ddba3ed3b47. Acesso em: 29 março de 2020.

BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. Rodriguésia 66: 1085-1113.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination, 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRAGA, F.T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E.M. de; DIGNART, S.L.; BIAGIOTTI, G.; PORTO, J.M.P. Qualidade de luz no cultivo *in vitro* de *Dendranthema grandiflorum* cv. rage: características morfofisiológicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 502-508, 2009.

BRAGA, F.T. et al. Características morfofisiológicas de abacaxizeiro 'gomo de mel' enraizado in vitro sob luz natural e substrato vermiculita. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 551-557, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100- 29452011000200027

BRAGA, S. Substrato para Rosas-do-deserto. 2016. Disponível em: . Acesso em: 09 dez. 2019. SANTOS, M. M. et al. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (Adenium obesum). Multi-Science Journal, p. 79-82, 2015.

CARVALHO, A.C.P.P. et al. Glossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.7, p.30-60, 2011.

Carvalho, Irineide Teixeira de. Microbiologia básica / Irineide Teixeira de Carvalho. – Recife: EDUFRPE, 2010. 108 p.: il.

CARVALHO, J.M.F.C.; SILVA, M.M.A.; MEDEIROS, M.J.L. Fatores inerentes à micropropagação. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Documento 148. Campina Grande, PB. 2006.

CHEE, R.; POOL, R. M. Morphogenetic responses to propate trimming, spectral irradiance, and photoperiod of grapevine shoots recultured in vitro. Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria, v. 114, n. 2, p. 350-354, Mar. 1989.

COLOMBO, R. C.; FAVETTA, V.; YAMAMOTO, L. Y.; ALVES, G.A.C.; ABATI, J.; TAKAHASHI, A.L.S.; FARIA, R.T. Biometric description of fruits and seeds, germination and imbibition pattern of desert rose [Adenium obesum (Forssk.), Roem. & Schult. Journal of Seed Science, v.37, n.4, p.206-213, 2015.

DIGNART, S. L. Luz e sacarose na micropropagação de Cattleya walkeriana: alterações anatômicas e fisiológicas. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. Botanical Review 66: 1-56.

ENDRESS, M.E.; LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2014. An updated classification for Apocynaceae. Phytotaxa 159: 175-194.

ESTEVAM, J. T. Caracterização morfológica, germinação e vigor de sementes de rosa do deserto (Adenium obesum (Forssk.) Roem. and Schult.). Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO. 2014, 46p

FERREIRA, DANIEL FURTADO. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, M. E.; CALDAS, L. S.; PEREIRA, E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1998. p. 21-43.

GALDIANO JÚNIOR, R.F., MANTOVANI, C., PIVETTA, F.L. & LEMOS, E.G.M. 2012. Crescimento in vitro e aclimatização de Cattleya loddigesii Lindley (Orchidaceae) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. Ciência Rural 42(5):801-807

GEORGE, E.F. et al. **Plant Propagation by Tissue Culture**. Dordrecht: Springer, 2008. p.29-64.

KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation - Environmental control for promoting photosynthesis. **Propagation of Ornamental Plants**, v.10, n.4, p.188-204, 2010.

MANTOVANI N, GRANDO MF, SUZIN M, AUGUSTIN L & CALVETE EO (2008) Micropropagação de plantas ornamentais. *In*: Petry C (org.) Plantas ornamentais - aspectos para a produção. 2ª ed. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo. Pp.70-91.

MARKS, T. R.; SIMPSON, S. E. Effect of irradiance on shoot development in vitro. Plant Growth Regulation, Dordrecht, v. 28, n. 2, p. 133-142, June 1999.

MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (Org). Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde, v. 4. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2009.

MONTEIRO NETO, João Luiz Lopes et al. Uso de substratos e hidrogel na produção de mudas de rosa-do-deserto. *Ornam. Hortic.* [online]. 2019, vol.25, n.4, pp.336-344. Epub Jan 24, 2020. ISSN 2447-536X.

MORALES, J.F. 1999. A synopsis of the genus Odontadenia: series of revisions of Apocynaceae XLV. Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique 67: 381-477. Morales, J.F. 2005. Studies in the neotropical Apocynaceae XIX: the family Apocynaceae (Rauvolfioideae, Apocynoideae) in Costa Rica. Darwiniana 43: 90-191.

MORALES, J.F. 2007. Estudios en las Apocynaceae Neotropicales XXXI: el complejo de Mandevilla hirsuta y cuatro nuevas especies. Journal of the Botanical Research Institute of Texas 1: 859-869.

MORALES, J.F. 2009a. Estudios en las Apocynaceae neotropicales XXXIX: revisión de las Apocynoideae y Rauvolfioideae de Honduras. Anales del Jardín Botánico de Madrid 66: 217-262.

MORALES, J.F. 2009b. Apocynaceae Neotropicales XXXVII: Monografía del Género Rhabdadenia (Apocynoideae: Echiteae). Journal of the Botanical Research Institute of Texas 3: 541-564.

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

NOLETO, L.G. & SILVEIRA, C.E.S. 2004. Micropropagação de copaíba. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. Disponível em: http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio33/copaiba.pdf.

OLIVEIRA, A.B. et al. Multiplicação e enraizamento *in vitro* do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.4, n.1, p.48-54, 2008. OLIVEIRA, M.R.V. de. O emprego de casas-de-vegetação no Brasil: vantagens e desvantagens. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.30, n.8, p.1049-1060, 1995.

PAIVA, R.; GOMES. G. A. C.; SANTANA, J. R. F.; PAIVA, P. D. O. PARANJOTHY, K.; SAXENA, S.; BANERJEE, M.; JAIWAL, V. S.; BHOJWANI, S. S. Clonal multiplication of woody perennials. In: BHOJWANI, S. S. (Ed.). **Plant tissue culture:** applications and limitations. Amsterdam: Elsevier, 1990. p. 190-219.

PORTES R.G.R.; SILVA F.D, SILVA U.E.S.; SALVI J.S. curva de embebição e interferência da luz na germinação de sementes de rosa-do-deserto (adenium obesum (forssk.), roem. & schult.). South American Journal of Basic Education. V 5, n.1, 2018.

PREECE, F. E.; COMPTON, M. E. I. Problems with explant exudation in micropropagation. In: BAJAJ, Y. P. S. **Biotechnology in agriculture and forestry:** 17 – High-Tech and micropropagation I. Berlin: Springer Verlag, 1991. p.168-189.

RADMANN, E. B.; BRAGA, E. J. B.; KARAN, M. A. L.; POSADA, M. A. C.; PETERS, J. A. Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de Gypsophila paniculata L. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 171-175, 2001.

RASAD, F. M. et al. Micropropagation of Adenium obesum (Dessert Rose) in vitro. International Conference on Agricultural, Ecological and Medical Sciences (AEMS2015) April 7-8, 2015. p10-12.

REZENDE, R. K. S.; PAIVA, L. V.; PAIVA, R.; CHALFUN JÚNIOR, A.; TORGA, P. P.; CASTRO, E. M. DE. Organogênese em capítulos florais e avaliação de características anatômicas da folha de Gerbera jamesonni Adlam. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.32, n. 3, p. 821-827, maio/jun. 2008.

ROCHA, H. S.; SILVA, C. R. R.; ARAÚJO, A. G.; SILVA, A. B. Propagação in vitro de bananeira 'Prata anã (AAB)': Intensidades luminosas e concentrações de sacarose nas fases de multiplicação e enraizamento. Plant Cell culture and Micropropagation. Lavras, v.3, n.1, p. 10-17, 2007.

RODRIGUES BARROSO JUNIOR, LUIZ CARLOS. **Cultivo de rosa do deserto em diferentes** substratos / Luiz Carlos Rodrigues Barroso Junior. – 2017. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2017.

ROMAHN, V. Enciclopédia ilustrada das plantas & flores: suculentas, samambaias e aquáticas. Editora Europa, 2012.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. 1992. Plant Physiology. Belmont: Wadsworth Publishing Co, 682 p.

SANTOS, E.K. Totipotência celular e cultura de tecidos vegetais. In: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p.415-444.

SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI A. Tecnologias para produção de mudas de Rosa-do-Deserto (Adenium obesum). Multi-ScienceJournal; n. 1. v. 3: p. 79-82, 2015.

SANTOS, J. C. dos. Ambientes e meios alternativos para cultivo in vitro de violeta africana (saintipaulia spp.) e palma forrageira (Nopalea cochenilifera) / Joel Cabral dos Santos. –2014. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Areia, 2014.

SCHICK, B. Untersuchungen über die Biotechnik der Apocynaceenblüte. II. Bau und Funktion des Bestaübungsapparates. Flora 172: 347-371, 1982.

Segeren MI (2011) Micropropagação *in vitro* de flores e plantas ornamentais. *In*: Gerald LTS (org.) Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas *in vitro*. Antiqua, São Paulo. Pp. 134-147

SENNBLAD, B.; BREMER, B. Classification of Apocynaceae s.l. according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. Systematic Biology Journal, vol. 51, p. 389-409, 2002.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – Sebrae. Flores e plantas ornamentais do Brasil VOL 1, 2015. Disponível em: https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-brasileiro-de-flores-e-plantas ornamentais,456649f6ced44510VgnVCM1000004c00210aRCRD. Acesso em 29 de março de 2020

STREET, H.E.; OPIK, H. Fisiologia das angiospermas. Crescimento e desenvolvimento. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1974. 332p

VARELLA, T. M. et al. *In vitro* germination of desert rose varieties. Ornamental Horticulture, v. 1, n. 2, p. 227-234, 2015.

VARELLA, T.L., DA SILVA, G.M., MAXIMILIANO K. Z., MIKOVSKI, A. I., DA SILVA NUNES, J.R., DE CARVALHO, I.F. AND DA SILVA, M L. 2015. In vitro germination of desert rose varieties. Ornamental Horticulture 21(2), 227-234

VERDE, J. Plantas ornamentais: Rosa do deserto Adenium Obesum em Bonsai. 2015. Disponível em: <

http://www.paisagismodigital.com/noticias/default.aspx?codnot=399>. Acesso em: 14 abr. 2020

VIEIRA, Milene Faria; LEITE, Mauro Sérgio de Oliveira; GROSSI, José Antonio Saraiva and ALVARENGA, Eveline Mantovani. Biologia reprodutiva de Cryptostegia madagascariensis Bojer ex Decne. (Periplocoideae, Apocynaceae), espécie ornamental e exótica no Brasil. *Bragantia* [online]. 2004, vol.63, n.3 [cited 2020-05-01], pp.325-334.

VINCE-PRUE, D. 1975. Photoperiodism en plants. London: McGraw Hill Book Co., 444 p.

XAVIER, A., WENDLING, I. & SILVA, R.L. 2009. Silvicultura clonal: princípios e técnicas. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 272 p