

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

**ASPECTOS ANATÔMICOS DA FOLHA E DA ORGÂNOGÊNESE
ADVENTÍCIA EM *Phachyphytum hookeri* (CRASSULACEAE)**

ANNA MARIA SANTOS AGUIAR ABREU



Anna Maria Santos Aguiar Abreu

**ASPECTOS ANATÔMICOS DA FOLHA E DA ORGÂNOGÊNESE ADVENTÍCIA EM
Phachyphytum hookeri (CRASSULACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Agronomia do Instituto de Ciências
Agrárias da Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito final para o grau de
bacharel em Agronomia.

Orientadora: Clivia Carolina Fiorilo Possobom

Montes Claros

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ATA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COLEGIADO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Aos 24 dias do mês de janeiro do ano de 2025, às 09 horas, a estudante ANNA MARIA SANTOS AGUIAR ABREU, matrícula 2019064000, defendeu o trabalho intitulado "Aspectos anatômicos da folha e da organogênese adventícia em *Pachyphytum hookeri* (Crassulaceae)", tendo obtido a média 96 (noventa e seis).

Participaram da banca examinadora os abaixo indicados, que, por nada mais terem a declarar; assinam eletronicamente a presente ata.

Nota: 96 (noventa e seis)

Orientador: Clivia Carolina Fiorilo Possobom

Nota: 96 (noventa e seis)

Examinador: Claudineia Ferreira Nunes

Nota: 96 (noventa e seis)

Examinador: Elka Fabiana Aparecida Almeida

Nota: 96 (noventa e seis)

Examinador: Sara Malveira Costa Vieira

Este documento deve ser editado apenas pelo Orientador(a) e deve ser assinado eletronicamente por todos os membros da banca



Documento assinado eletronicamente por Claudineia Ferreira Nunes, Coordenador(a) de curso, em 31/01/2025, às 11:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Clivia Carolina Fiorilo Possobom, Professora do Magistério Superior, em 03/02/2025, às 09:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Sara Malveira Costa Vieira, Usuário Externo, em 03/02/2025, às 09:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

RESUMO

Entender o processo da organogênese adventícia das suculentas pode subsidiar o desenvolvimento de técnicas que otimizem sua propagação assexuada, já que estas plantas são muito valorizadas na jardinagem por serem diversas, fáceis de propagar e pouco exigentes em tratamentos culturais. Este estudo teve como objetivo caracterizar anatomicamente a folha da espécie *Pachyphytum hookeri* (Crassulaceae) e descrever o processo de organogênese adventícia via estaquia foliar. As análises anatômicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal e Dentreologia e no Laboratório de Microscopia, Microanálises e Biologia Vegetal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG). Folhas totalmente expandidas foram retiradas da base do caule da planta-mãe, dispostas horizontalmente em bandejas contendo areia grossa lavada e acondicionadas em ambiente arejado com incidência de luz solar difusa e irrigação diária. Três amostras foram obtidas no dia da coleta e aos 2°, 3°, 5°, 7°, 9°, 13° e 16° dias após o plantio (DAP), totalizando 24 estacas analisadas. O material coletado foi fotografado sob estereomicroscópio e, em seguida fracionado para fixação em FAA 70, seguido de desidratação em série etanólica, infiltração e inclusão em resina metacrilato. Secções transversais e longitudinais (3-6 µm) foram obtidas em micrótomo rotativo, coradas com Azul de Toluidina e observadas ao microscópio óptico. As folhas são verdes, carnosas e lanceoladas, com dimensões médias de 50 a 55mm de comprimento e 13 a 15 mm de largura. Em secção transversal observa-se epiderme unisseriada com cutícula de espessura mediana e complexos estomáticos com volumosas câmaras subestomáticas em ambas as faces; células subepidérmicas pouco volumosas com paredes delgadas e vacúolos com conteúdo fenólico, além de células de hidrênquima contendo cloroplastos e feixes vasculares colaterais dispersos, sendo o central de maior calibre. Na base da folha, na região da abscisão é possível visualizar um conjunto de células meristemáticas ao redor do feixe vascular central. Nos primeiros dias após o plantio instalou-se uma periderme de cicatrização na região de abscisão e as células meristemáticas subjacentes sofreram divisões e formaram uma protuberância, aqui caracterizada como um calo, onde foram visualizadas muitas células com conteúdo fenólico além de elementos traqueais diferenciados. Os primórdios foliares começaram a ser formados antes do 5° DAP, a partir da base da protuberância, abaixo da periderme de cicatrização. Os primórdios radiculares foram observados em regiões próximas aos feixes vasculares presentes no calo, sendo que a emissão das raízes observadas após o 9° DAP. Estacas no 16° DAP apresentaram um novo indivíduo formado, com folhas e raízes totalmente diferenciados. As características das folhas da espécie estudada podem ser consideradas estratégias para

sobrevivência em ambientes com escassez hídrica. A presença de um meristema intercalar na região de abscisão parece estar relacionada à rápida instalação da periderme de cicatrização e a formação do calo e regeneração de um novo indivíduo, estando o hidrênquima provavelmente associado à manutenção do vigor da estaca durante o processo de organogênese. Tais fatores podem contribuir para o sucesso da propagação dessas plantas, mesmo em condições naturais sem qualquer estímulo.

Palavras-chave: brotos adventícios, meristema intercalar, propagação assexuada, raízes adventícias.

ABSTRACT

Understanding the process of adventitious organogenesis in succulents enables the development of techniques that optimize their asexual propagation, as these plants are highly valued in gardening due to their diversity, ease of propagation, and low maintenance requirements. This study aimed to characterize the anatomy of leaves of *Pachyphytum hookeri* (Crassulaceae) and describe the process of adventitious organogenesis through leaf cutting. The anatomical analyses were conducted at the Laboratory of Plant Anatomy and Dendrology and the Laboratory of Microscopy, Microanalysis, and Plant Biology at the Institute of Agricultural Sciences of the Federal University of Minas Gerais (ICA/UFMG). Fully expanded leaves were collected from the base of the mother plant's stem, placed horizontally in trays containing washed coarse sand, and kept in a well-ventilated environment with diffused sunlight and daily irrigation. Three samples were collected on the day of planting and on the 2nd, 3rd, 5th, 7th, 9th, 13th, and 16th day after planting (DAP), totaling 24 cuttings. The material was photographed under a stereomicroscope and then sectioned for fixation in FAA 70, followed by ethanol series dehydration, infiltration, and embedding in methacrylate resin. Transverse and longitudinal sections (3-6 μm) were obtained using a rotary microtome, stained with Toluidine Blue, and observed under an optical microscope. The leaves of this species are green, fleshy, lanceolate, and covered by a waxy cuticle. The abscission zone is clear and well-defined, anatomically presenting a central vascular bundle surrounded by typical meristematic cells. The leaves are green, fleshy, and lanceolate, with an average length of 50-55 mm and a width of 13-15 mm. In cross-section, a uniseriate epidermis with a moderately thick cuticle and stomatal complexes with large substomatal chambers on both surfaces were observed. The subepidermal cells are small, with thin walls and vacuoles containing phenolic compounds, along with hydrenchyma cells containing chloroplasts and scattered collateral vascular bundles, with the central bundle being the largest. At the base of the leaf, in the abscission region, a group of meristematic cells surrounds the central vascular bundle. In the first days after planting, a wound periderm developed in the abscission region, and the underlying meristematic cells divided, forming a protuberance characterized as a callus, where numerous cells with phenolic content and differentiated tracheal elements were observed. Leaf primordia began forming before the 5th DAP at the base of the protuberance, beneath the wound periderm. Root primordia were observed near vascular bundles within the callus, with root emergence occurring after the 9th DAP. By the 16th DAP, the cuttings had developed into a new individual with fully differentiated leaves and roots. The characteristics of the leaves of the studied species

can be considered survival strategies in environments with water scarcity. The presence of an intercalary meristem in the abscission region appears to be related to the rapid formation of the wound periderm, callus development, and the regeneration of a new individual, with the hydrenchyma likely associated with maintaining the vigor of the cutting during the organogenesis process. These factors may contribute to the successful propagation of these plants, even under natural conditions without any external stimulation.

Keywords: asexual propagation, adventitious root, adventitious shoot, intercalary meristem.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
REFERENCIAL TEÓRICO	10
METODOLOGIA	12
RESULTADOS	14
Caracterização morfoanatômica da folha	14
Organogênese adventícia.....	16
DISCUSSÃO	20
CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

INTRODUÇÃO

Entender os processos anatômicos envolvidos na formação de novos indivíduos de uma determinada espécie é um importante passo para desenvolver práticas de propagação que possibilitem um desenvolvimento mais rápido e eficaz, o que é muito desejado para a maioria das espécies botânicas comercializadas, sejam elas para a fins agrônômicos ou ornamentais. A prática da jardinagem apresenta diversas vantagens para a população, destacando-se, especialmente, sua capacidade de melhorar a qualidade de vida e a estabilidade emocional dos indivíduos que a exercem (Pérez-Urrestarazu et al., 2021).

Dentre as plantas ornamentais apreciadas na jardinagem, as suculentas apresentam-se como uma excelente alternativa, pois são plantas de fácil propagação, pouco exigentes em tratos culturais e com uma vasta variedade de características botânicas (Cabahug et al., 2018; Oliveira, 2022). Estas plantas, originárias de diferentes lugares ao redor do mundo, classificam-se, em sua grande maioria, como xerófitas (Santos et al., 2021); são taxonomicamente diversas, correspondendo a pelo menos 12.500 espécies pertencentes a 690 gêneros e 83 famílias, sendo Crassulaceae uma das mais relevantes em número de representantes com suculência (Nyffeler & Eggli, 2010).

Para a propagação das suculentas o método mais utilizado é o vegetativo, principalmente através de estacas foliares, pois apresenta a vantagem de reproduzir um indivíduo idêntico à planta-mãe em um espaço de tempo reduzido (Cabahug et al., 2018). Na literatura é possível encontrarmos algumas justificativas para esta capacidade, como o conceito de célula totipotente, capaz de formar um novo indivíduo completo, e de célula pluripotente, capaz de se desdiferenciar e formar novos tecidos ou órgãos específicos (Fehér, 2019). Quando um novo indivíduo é formado a partir deste método de propagação, o processo recebe o nome de organogênese adventícia (Féher, 2019; Verdeil et al., 2007).

O ponto de origem exato dos novos tecidos formados pode variar de acordo com a espécie ou, até mesmo, com o órgão de onde se retirou a estaca para a propagação (Peixoto, 2017; Gonin et al., 2019). Para que seja possível entender os padrões relacionados a esse tipo de propagação, especialmente em relação à família Crassulaceae, faz-se necessário ampliar o conhecimento nas áreas de anatomia e fisiologia da formação de raízes e ramos adventícios. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi caracterizar as folhas da suculenta *Pachyphytum hookeri* (Salm-Dyck) A.Berger (1930), uma espécie de Crassulaceae originária da região nordeste do México (Engler & Prantl, 1930) frequentemente utilizada como ornamental, e

elucidar os aspectos celulares do processo de formação dos brotos e raízes a partir de estacas foliares (organogênese adventícia).

REFERENCIAL TEÓRICO

Plantas com suculência são taxonomicamente diversas, totalizam mais de 12.000 espécies distribuídas em aproximadamente 690 gêneros, 83 famílias e 32 ordens de angiospermas basais, monocotiledôneas e eudicotiledôneas (Nyffeler & Eggli, 2010). O termo “suculência” é utilizado como terminologia científica desde o final do século XIX e refere-se a tecidos vegetais que armazenam água, como o parênquima aquífero, também conhecido como hidrênquima (Santos et al., 2021). Essa e outras características, como a presença de cutícula foliar, parede celular espessa na epiderme e pequenos espaços intercelulares, são frequentemente observadas em espécies de plantas que sobrevivem em regiões de altas temperaturas, escassez hídrica e solos distróficos, e são classificadas como xerófitas (Santos et al., 2021).

Nesse contexto, Crassulaceae destaca-se como uma das principais famílias com 99% de suas espécies (1420 spp) apresentando suculência nas folhas, nos caules e/ou nos tubérculos (Nyffeler & Eggli, 2010). As espécies desta família apresentam distribuição cosmopolita, sendo especialmente encontradas no hemisfério norte e sul da África (Eggli, 2003). No geral, são plantas perenes ou anuais; com porte herbáceo a arbustivo; caules curtos, as vezes subterrâneos e/ou suculentos; folhas suculentas simples, opostas ou alternadas, frequentemente dispostas em roseta (Eggli, 2003). Apresentam inflorescências do tipo espiga ou panícula, flores bi ou unissexuais, actinomórficas, frequentemente pentâmeras, sépalas e pétalas livres ou basalmente conadas, androceu isostêmone ou diplostêmone, gineceu normalmente dialicarpelar, com ovário súpero contendo poucos ou muitos óvulos; frutos geralmente folículos deiscentes (Eggli, 2003).

A propagação das espécies crassuláceas pode ser realizada de maneira sexuada (Martínez-Peralta et al., 2024) e assexuada, a partir de estacas de ramos, folhas e raízes (Kaseker et al., 2023, Silva et al., 2022), sendo que esta segunda apresenta a vantagem de formar clones da planta-matriz com maior velocidade de formação de brotos e é o método mais utilizado (Cabahug et al., 2018). Este processo de formação de novos tecidos ou órgãos específicos a partir de células não embrionárias recebe o nome de organogênese adventícia (Fehér, 2019).

Alguns autores afirmam que o que possibilita a ocorrência da organogênese adventícia é o fato de que todas as células vegetais são totipotentes, mas esta é uma afirmação controversa (Condic, 2014). A definição mais aceita para totipotência, é a capacidade que uma célula tem

de se desenvolver para formar um novo indivíduo completo, sendo essa capacidade frequentemente associada a células embrionárias (Fehér, 2019). Este conceito é bastante utilizado em estudos de organogênese adventícia por meio da micropropagação, no entanto, nestes casos, é necessário que haja algum incentivo externo que induza a totipotência, como a aplicação dos reguladores de crescimento (Fehér et al., 2003). Outro conceito utilizado para justificar a organogênese é a pluripotência celular, que se refere à capacidade que uma célula possui de formar um novo tecido ou órgão específico (Fehér, 2019; Vedeil et al., 2007). Na literatura também é possível encontrar o primeiro protocolo relatado para a regeneração de órgãos adventícios da espécie crassulácea *Kalanchoe blossfeldiana* a partir do protoplasto do mesofilo foliar (Castelblanque et al., 2010). A formação dos órgãos adventícios depende, portanto, da presença de células com potencial meristemático, sejam elas totipotentes ou pluripotentes, e seu ponto de origem pode variar de acordo com a espécie vegetal ou o tipo de estaca, sendo este um tema ainda muito discutido entre anatomistas e fisiologistas (Peixoto, 2017; Gonin et al., 2019).

Ao contrário da maioria das plantas, as suculentas, especialmente as crassuláceas, são capazes de realizar propagação através de suas folhas, por meio da técnica conhecida como estaquia foliar (Cabahug et al., 2018), onde a formação de um novo indivíduo pode ocorrer devido à diferenciação das células do parênquima foliar ou através de atividade do meristema intercalar (Gorelick 2015). Apesar da facilidade e ampla utilização deste método, o sucesso da propagação de suculentas por meio da estaquia foliar pode sofrer a influência de diversos fatores (Cabahug et al., 2018), sejam eles externos, como luminosidade, umidade, temperatura, qualidade do substrato e condição do material vegetal coletado, ou internas, como fitormônios (Wendling, 2003). A maturidade, integridade e posição de plantio das estacas são alguns dos aspectos estudados por Cabahug et al. (2016) em sua pesquisa, onde observou que folhas retiradas da base da planta matriz, sem qualquer injúria, e plantadas na vertical favoreceram o enraizamento e produção de mudas em espécies pertencentes ao gênero *Echeveria* (Crassulaceae), enquanto que as estacas foliares plantadas na horizontal e com a face adaxial em contato com o substrato resultaram em brotos com caules retorcidos e estiolados (Cabahug et al., 2016). Uma pesquisa realizada por Paterson e Rost (1979) observou que a regeneração de folhas da espécie *Crassula argentea* (Crassulaceae) é fortemente influenciada pelo fotoperíodo, chegando a dobrar o potencial regenerativo das folhas sob o tratamento de dias curtos (Paterson & Rost, 1979). Kaseker et al. (2023) em sua pesquisa, concluiu que o uso de altas proporções de canela em pó adicionadas ao substrato, entre 3,0 e 6,0 %, reduzem o crescimento em estatura para a suculenta *Sedum rubrotinctum* (Crassulaceae), enquanto que

baixas proporções, entre 0,5 a 1,5 %, são favoráveis para o seu desenvolvimento (Kaseker et al., 2023). A crassulácea *Echeveria elegans*, por sua vez, tem melhor taxa de emissão de brotos e raízes quando imersas no fertilizante FORTH Enraizador® sob condições específicas de temperatura e luminosidade (Kaseker et al., 2022).

Desta forma, este estudo visa contribuir para o conhecimento a respeito deste tema através da caracterização morfológica e descrição dos aspectos celulares envolvidos na organogênese adventícia a partir de estacas foliares em *Pachyphytum hookeri* (Salm-Dyck) A.Berger (1930), uma espécie de Crassulaceae muito utilizada como ornamental originária da região nordeste do México (Engler & Prantl, 1930).

As espécies do gênero *Pachyphytum* geralmente se caracterizam como arbustos xerófitos e apresentam como características botânicas folhas lanceoladas, revestidas com um pó esbranquiçado, cera ou minúsculos tricomas e coloração variando de tons de verde a roxo, e inflorescência axilar com flores pendentes e suculentas (Vázques-Cotero et al., 2017). Este gênero parece ser o mais próximo de *Echeveria*, com base na corola ereta fundida na maior parte de seu comprimento (Eggli, 2003). A polinização das flores de *Pachyphytum* provavelmente se dá por beija-flores (Moran, 1989). *Pachyphytum hookeri* é uma planta suculenta de caule deitante que pode atingir até 50 cm de comprimento e apresenta rosetas densamente dispostas nos primeiros 17 cm superiores (Eggli, 2003). Suas folhas são lanceoladas, fusiformes e levemente teretes, medem de 2,5 a 5,0 cm de comprimento e apresentam coloração verde a glauco-pruinosa, ocasionalmente avermelhada (Eggli, 2003). As inflorescências, de 5 a 35 cm de comprimento, possuem de 4 a 9 brácteas estéreis em tons de rosa a vermelho e flores com pétalas oblongas, dispostas de forma espaçada na porção superior (Eggli, 2003). As brácteas férteis são elípticas, medindo de 5,0 a 8,0 mm de comprimento (Eggli, 2003).

METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais – ICA/UFGM, localizado no município de Montes Claros (MG), sendo as análises realizadas nos Laboratórios de Anatomia Vegetal e Dendrologia e de Microscopia, Microanálises e Biologia Vegetal.

As estacas foliares foram obtidas a partir de plantas ornamentais adultas de *P. hookeri* cultivadas em floreiras de 45,0 x 18,0 cm sob condições de alta exposição solar e irrigação semanal. Foram utilizadas folhas totalmente expandidas, sem injúrias e com comprimento entre 4 a 6 cm, retiradas da base do caule da planta matriz. O plantio foi realizado no mês de outubro,

durante a primavera, em bandejas de plástico do tipo “prato” com dimensões 31,0 x 31,0 cm por 4,0 cm de profundidade contendo areia grossa lavada. As bandejas foram acondicionadas ao ar livre, em ambiente arejado e sombreado por outras plantas, e receberam irrigação diariamente, em quantidades de água suficientes apenas para manter a umidade do solo. As estacas (n=45) foram dispostas horizontalmente com a margem de um dos lados da folha em contato com o substrato e foram acompanhadas diariamente até enraizamento e formação da parte aérea (Figura 1).

Para a caracterização da folha foram obtidas três amostras diretamente da planta matriz que foram processadas no mesmo dia da coleta, sendo denominadas de testemunhas. Para o estudo da organogênese adventícia foram coletadas amostras ao segundo, terceiro, quinto, sétimo, nono, décimo terceiro e décimo sexto dia após o plantio (DAP), sendo esses períodos definidos após testes preliminares. Em cada DAP três folhas eram selecionadas aleatoriamente, totalizando 24 amostras avaliadas.

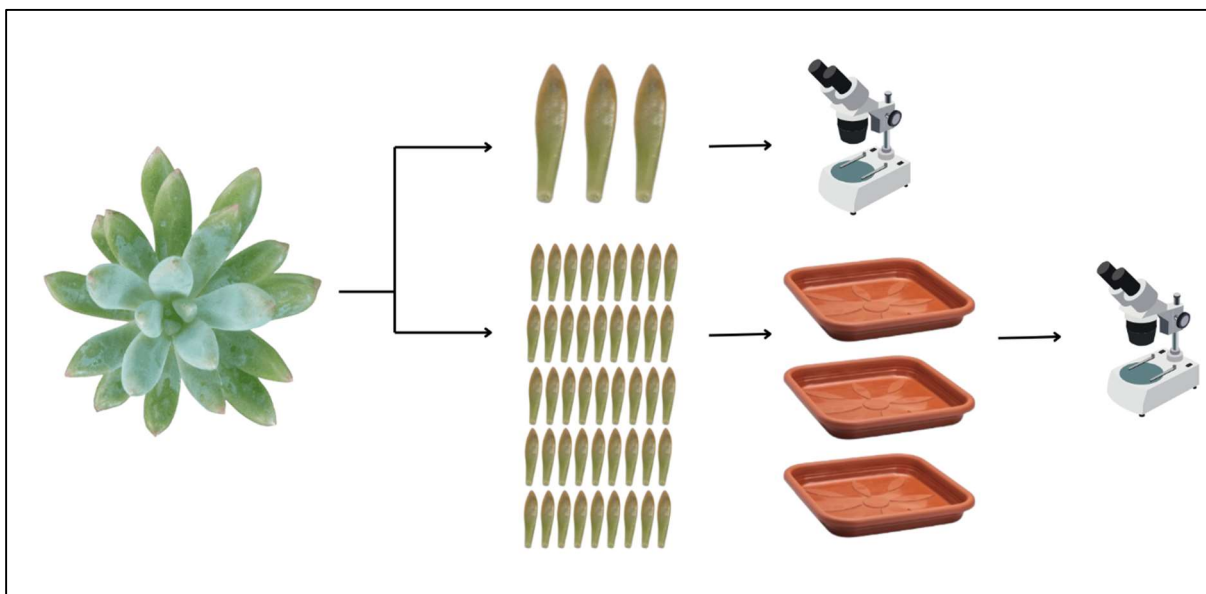


Figura 1. Esquematização da coleta e plantio das estacas foliares. Fonte: Autora, 2025.

Para registro macroscópico das principais modificações, os materiais coletados foram fotografados sob estereomicroscópio acoplado à câmera digital.

Para proceder com as análises anatômicas retirou-se o terço basal e mediano das folhas (testemunhas), além do terço basal das estacas após o plantio. Todas as amostras foram fixadas em FAA 70, solução constituída de formaldeído, ácido acético e etanol 70%, por 48 horas e posteriormente armazenadas em etanol 70%, procedimento necessário para a preservação da estrutura celular e a manutenção das características anatômicas dos tecidos. Em seguida, foram submetidas à desidratação em série etanólica crescente, infiltração e inclusão em resina

metacrilato (Leica®), seguindo as recomendações do fabricante, etapa essencial para obtenção de cortes histológicos de alta qualidade e produção de lâminas permanentes.

Secções transversais e longitudinais (3-6 µm) foram obtidas a partir de micrótomo rotativo e posteriormente coradas com azul de toluidina (O'Brien, 1964). O laminário foi observado e fotografado a partir de microscópio óptico.

RESULTADOS

Caracterização morfoanatômica da folha

As folhas maduras são predominantemente verdes, com nuances avermelhadas nas margens quando submetidas a maior exposição solar; carnosas; apresentam forma lanceolada, com a base arredondada e a ponta levemente afilada; possuem uma camada mediana de cutícula cerosa, que confere um aspecto liso à folha; a face adaxial é plana, enquanto que a face abaxial é convexa; e possuem dimensões médias entre 50 e 55 mm de comprimento e 13 a 15 mm de largura (Figuras 2B-C). Na região basal, no local de inserção da folha no caule, observa-se uma concavidade e a cicatriz de abscisão apresenta-se clara e bem definida no dia da coleta (Figura 2A).

Em secção transversal, na região mediana da folha, o limbo é constituído por epiderme unisseriada, composta por células achatadas periclinalmente, com paredes externas mais espessas do que as demais e revestida por cutícula de espessura mediana (Figura 2D). Complexos estomáticos ocorrem ao mesmo nível das células comuns, nas duas faces e exibem volumosas câmaras subestomáticas (Figura 2D-E). Na região subepidérmica, diferencia-se uma camada de células parenquimáticas pouco volumosas, com disposição compacta, paredes primárias delgadas e vacúolos com conteúdo fenólico (Figura 2D). O restante do mesofilo é formado por células parenquimáticas volumosas, com espaços intercelulares de tamanhos variáveis, paredes primárias finas, grandes vacúolos, citoplasma periférico, núcleo conspícuo e inúmeros cloroplastos, caracterizando o hidrênquima (Figura 2D, H,I). Inúmeras nervuras ocorrem dispersas no mesofilo, sendo uma central, de maior calibre que as demais (Figura 2H). Os feixes vasculares são colaterais, constituídos por xilema e floema em proporção similar, periciclo parenquimático, e numerosos idioblastos taniníferos (Figura 2H-I).

Na base do limbo, na região de abscisão, é possível evidenciar ao redor da nervura principal, um conjunto de células com características típicas de meristemas, sendo pouco volumosas, com paredes delgadas e conteúdo celular denso, algumas delas já diferenciadas, apresentando compostos fenólicos nos vacúolos (Figura 2F-G).

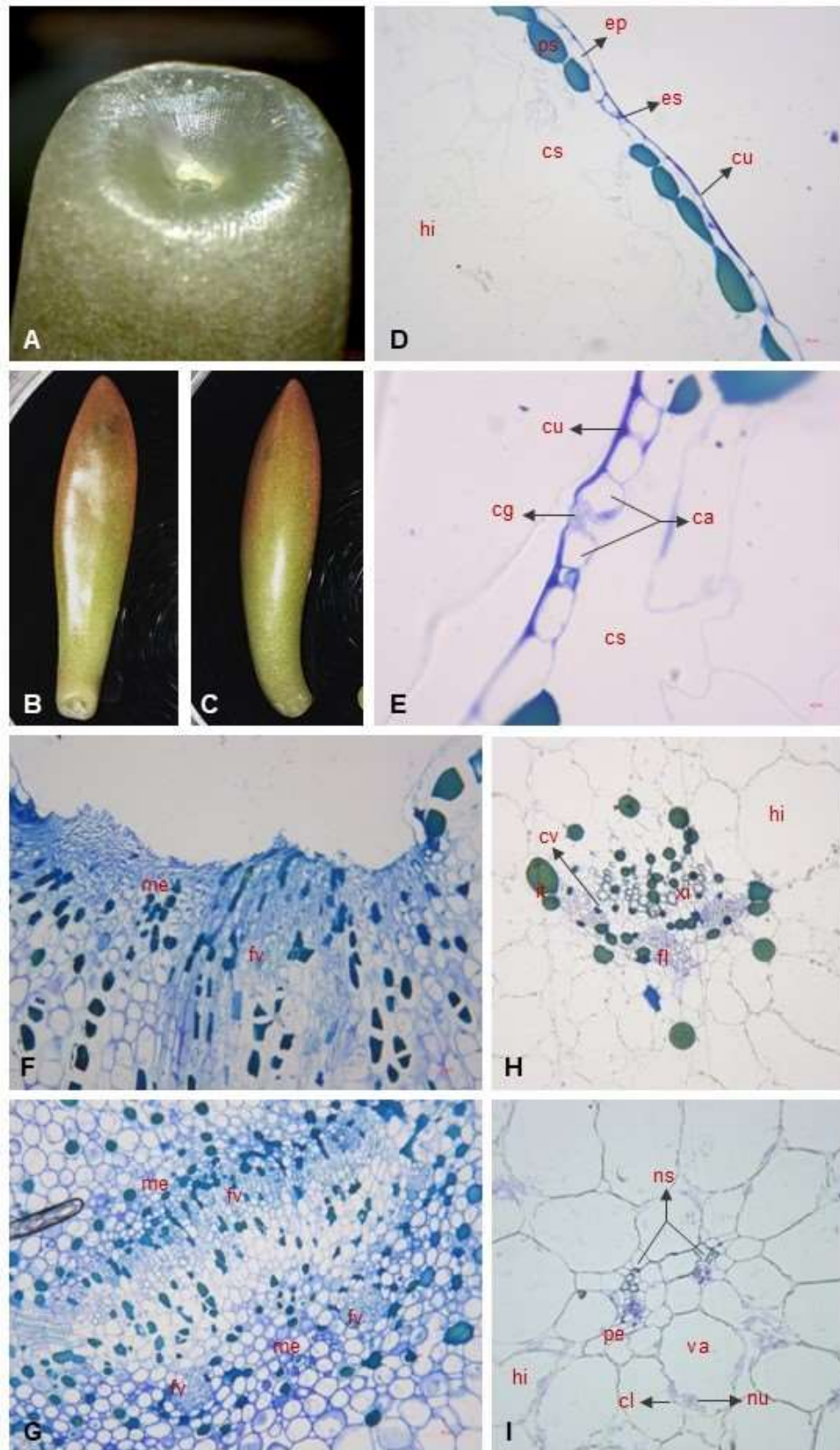


Figura 2. Caracterização morfoanatômica da folha (testemunha) – A-C) Estereomicrografias da região de abscisão (A); da face adaxial, plana (B) e da face abaxial, côncava (C); D-I) Fotomicrografias de secções transversais (D, E, G, H, I) e longitudinais (F). D) Epiderme unisseriada e mesofilo no terço mediano do limbo. E) Detalhe de um complexo estomático F-G) Região de abscisão na base foliar. Notar nervura principal rodeada por células meristemáticas; H) Detalhe da nervura principal; I) Detalhes das nervuras secundárias. ca: células subsidiárias; cg: células guarda; cl: cloroplasto; cs: câmara subestomática; cu: cutícula; cv: câmbio vascular; ep: epiderme; es: estômatos; fl: floema; fv: feixe vascular; hi: hidrênquima; it: idioblastos taniníferos; me: meristema; ns: nervuras secundárias; nu: núcleo; pe: periciclo; ps: parênquima sub-epidérmico; va: vacúolo; xi: xilema.

Organogênese adventícia

Durante o presente estudo, todas as estacas foliares acompanhadas mostraram evidências de início da formação de raízes e/ou brotos adventícios na região de abscisão foliar. Nas condições de cultivo tradicional, apenas um indivíduo foi regenerado por estaca.

Nas amostras coletadas até o 5º DAP foi possível observar a cicatrização da área exposta após abscisão foliar (Figura 3A). A partir do 7º DAP é possível observar uma protuberância recoberta pela periderme (Figuras 3B). Com o avanço do desenvolvimento, visualizam-se os primórdios foliares emergindo da base da protuberância, abaixo da periderme (Figura 3C-D), sempre em direção ao local que recebia maior incidência da luz solar, os quais gradualmente aumentam de tamanho e diferenciam-se originando as folhas do novo indivíduo (Figura 3E-F). Somente entre o 10º e 13º DAP foram emitidas as primeiras raízes adventícias, sempre opostas ao local de origem dos brotos, as quais aumentaram em número e comprimento ao longo do tempo (Figura 3E-F). Aos 16º DAP, o novo indivíduo apresentava-se completamente formado, com folhas e raízes diferenciados (Figura 3F).

Microscopicamente, as amostras da base do limbo coletadas entre o 2º e 5º DAP, evidenciaram que as células meristemáticas presentes nessa região antes do plantio sofrem divisão e originam o felogênio (Figura 4A), o qual, através de divisões periclinais, rapidamente origina inúmeras camadas de células de súber para o exterior e de feloderme para o interior, constituindo a periderme de cicatrização (Figura 4B-C). Posteriormente, as células meristemáticas localizadas abaixo da periderme sofrem intensas e desordenadas divisões, originando um acumulado de células com citoplasma denso, algumas apresentando vacúolos com conteúdo fenólico, evidenciado pela coloração azul esverdeada (Figura 4D-E). Esse conjunto de células sem uma organização definida, que aparece como uma protuberância revestida pela periderme (Figura 3B) pode ser interpretado como um calo.

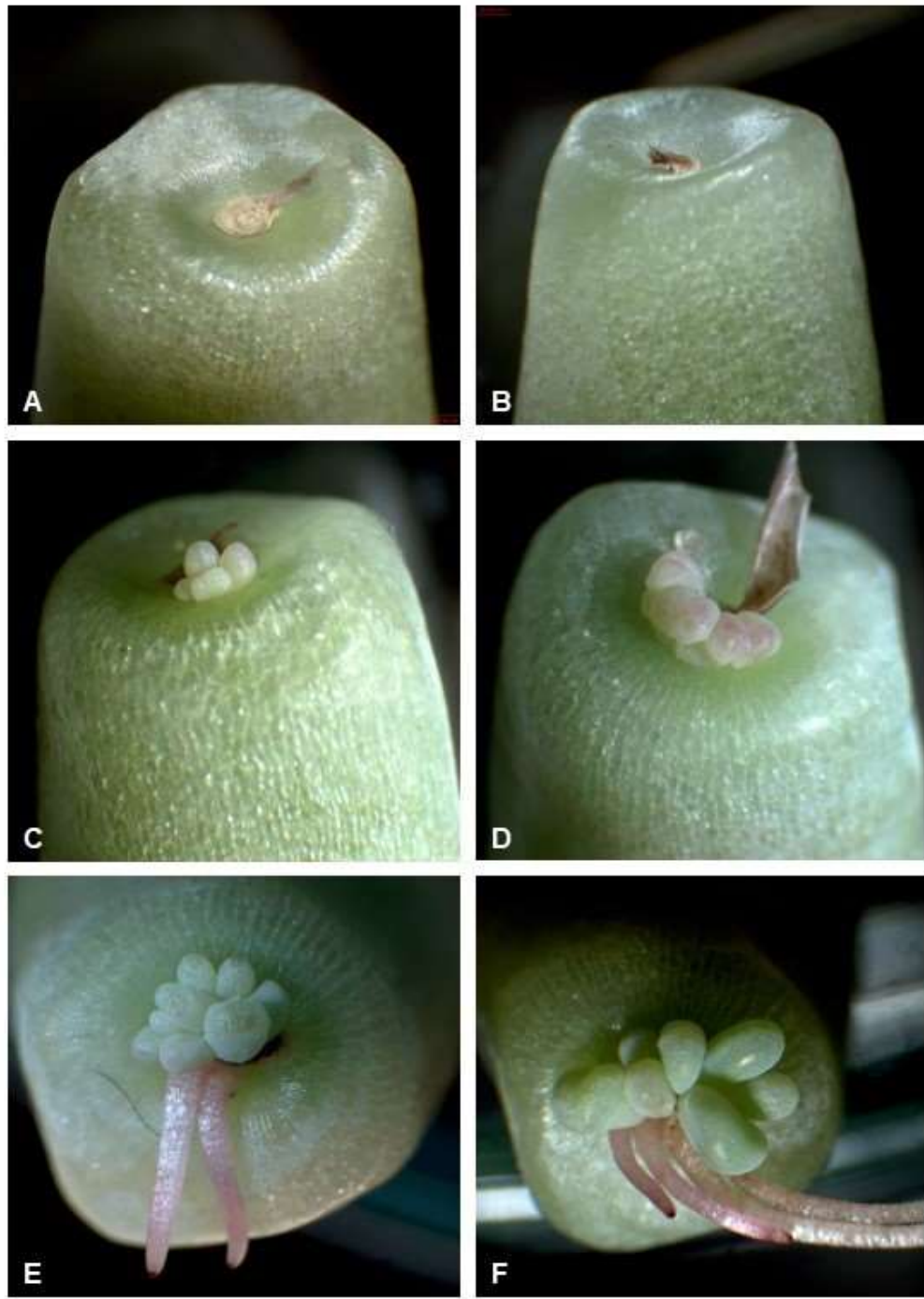


Figura 3. Desenvolvimento dos brotos e raízes adventícias - Estereomicrografias da região de abscisão foliar. A) 5° DAP – cicatrização da região de abscisão; B) 7° DAP – protuberância revestida pela periderme; C) 9° DAP – primórdios foliares; D) 10° DAP – primórdios foliares em desenvolvimento; E) 13° DAP – Primórdios foliares em desenvolvimento e raízes; F) 16° DAP – indivíduo completamente formado, com folhas e raízes diferenciadas.

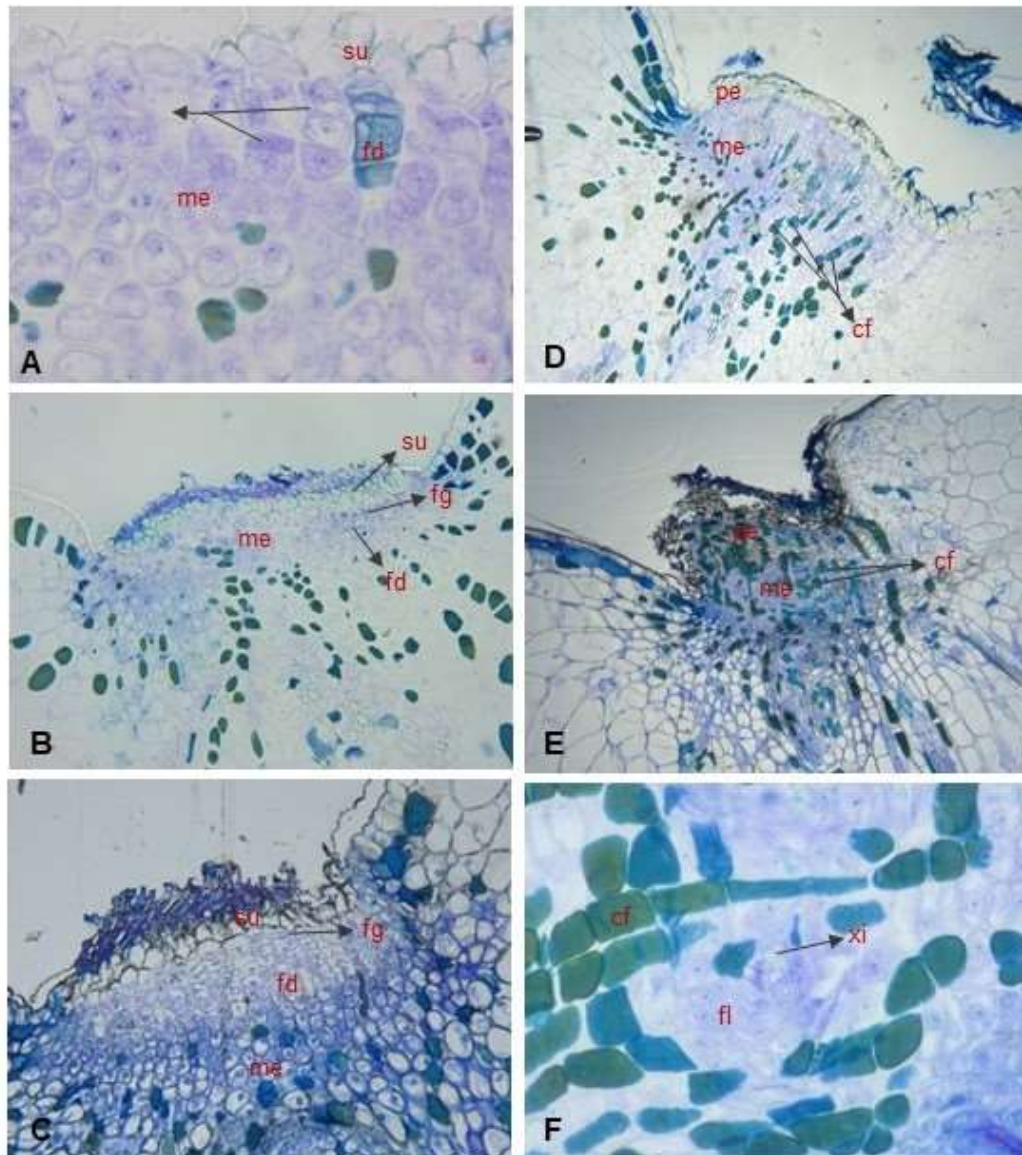


Figura 4. Instalação da periderme e desenvolvimento do calo – Fotomicrografias de secções longitudinais do terço basal da estaca foliar após plantio. A) 2° DAP – detalhe da instalação do felogênio; B) 2° DAP periderme de cicatrização em desenvolvimento; C) 3° DAP - periderme de cicatrização totalmente estabelecida; D) 5° DAP – intensa e desordenada divisão celular do meristema localizado abaixo da periderme; E) 9° DAP - protuberância (calo); F) 9° DAP – estrutura circular, semelhante ao cilindro vascular de uma raiz, presente no calo. cf: células com conteúdo fenólico; fd: feloderme; fg: felogênio; fl: floema; me: meristema; su: suber; xi: xilema.

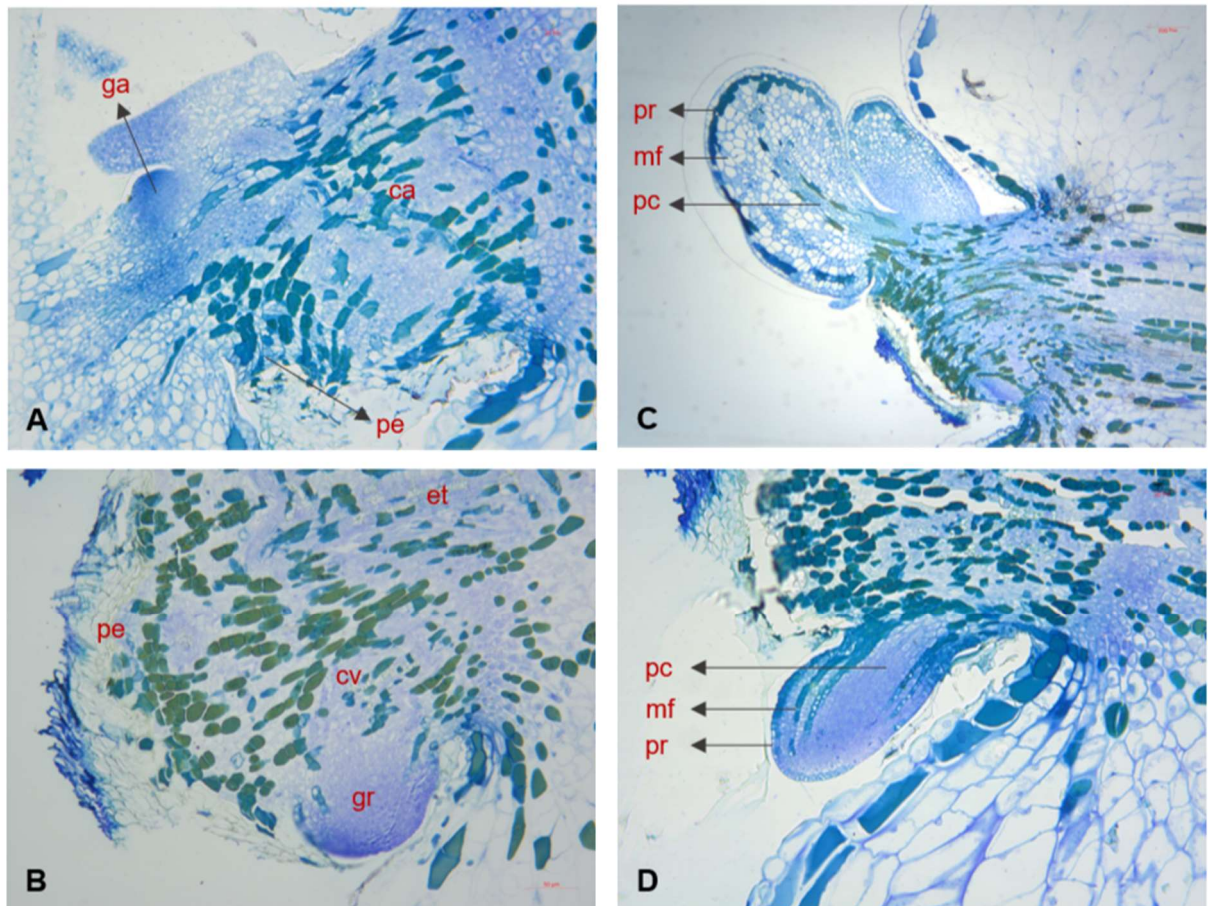


Figura 5. Desenvolvimento dos brotos e raízes adventícios - Fotomicrografias de secções longitudinais do terço basal da estaca foliar após plantio. A) 10° DAP - gema adventícia, de onde surgem os primórdios foliares; B) 9° DAP - primórdio radicular; C) 10° DAP - primórdios foliares em diferenciação; D) 13° DAP - emissão de raiz adventícia. ca: calo; cv: cilindro vascular; et: elementos traqueais; ga: gema apical; gr: primórdio radicular; mf: meristema fundamental; pc: procâmbio; pe: periderme; pr: protoderme.

Ambos os órgãos adventícios se formaram a partir da base do calo, abaixo da periderme, onde observou-se a proliferação de células meristemáticas, presença de elementos traqueais e estruturas circulares semelhantes ao cilindro vascular de raízes em corte transversal (Figura 4F). Primórdios foliares surgem gradualmente nessa região (Figura 5A). Primórdios radiculares foram observados a partir do 9° DAP (Figura 5B), quando os primórdios foliares já estavam em estágio avançado da diferenciação. Entre o 10° e o 13° DAP notou-se maior diferenciação dos primórdios foliares e radiculares, que em um estágio mais jovem eram constituídos por protoderme, meristema fundamental e procâmbio (Figura 5C-D).

Aos 16° DAP o novo indivíduo apresentava folhas e raízes bem desenvolvidos e um tecido vascular extenso, porém difuso, na região do calo, que conecta as raízes à parte aérea (Figura 6A). A raiz neste estágio de desenvolvimento já exibe epiderme, córtex, formado por células parenquimáticas de reserva e endoderme, além de cilindro vascular (Figura 6B). As folhas recém-formadas apresentam epiderme unisseriada com células achatadas

periclinalmente, uma camada subepidérmica com acúmulo de compostos fenólicos, mesofilo preenchido por parênquima do meristema fundamental em desenvolvimento e feixes vasculares principais e secundários compostos por protoxilema e protofloema, assemelhando-se à folha adulta (testemunha) analisada (Figura 6C).

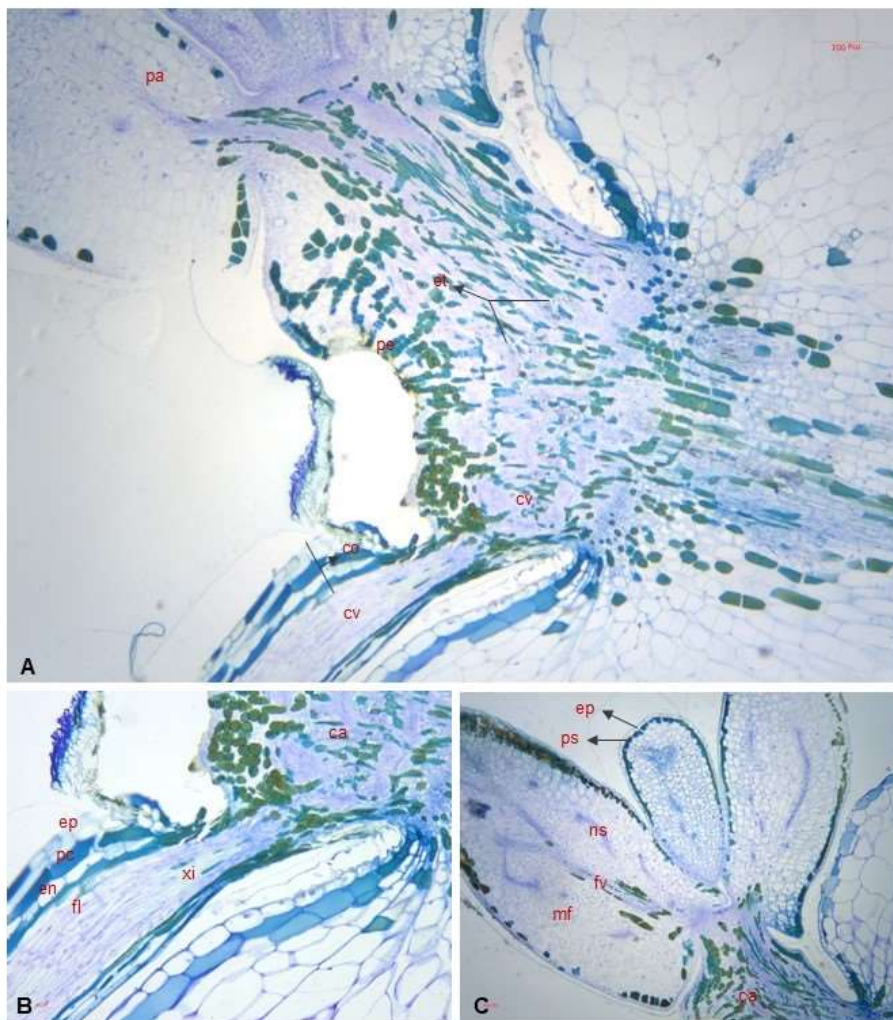


Figura 6. Caracterização do novo indivíduo formado. Fotomicrografias de secções longitudinais do terço basal da estaca foliar após plantio ao 16° DAP. A) conexão entre parte aérea e sistema radicular; B) Estrutura anatômica da raiz; C) Estrutura anatômica das folhas. Legenda: ca: calo; co: córtex; cv: cilindro vascular; ep: epiderme; et: elementos traqueais; fl: floema; fv: feixe vascular; mf: meristema fundamental; ns: nervura secundária; pa: parte aérea; pe: periderme; ps: parênquima sub-epidérmico com conteúdo fenólico; xi: xilema.

DISCUSSÃO

As espécies da família Crassulaceae são amplamente reconhecidas por suas características xerofíticas, que as tornam altamente adaptadas a ambientes secos. A espécie investigada neste estudo apresenta cutícula de espessura mediana, epiderme com paredes celulares mais espessas, grandes câmaras subestomáticas e um mesofilo predominantemente composto por hidrênquima, que além de armazenar água também é responsável pela fotossíntese. Algumas dessas características são também comuns a plantas que empregam o

metabolismo ácido das crassuláceas (MAC) (Gilman & Edwards, 2020). Todas essas características podem ser consideradas estratégias que permitem que esta espécie sobreviva em ambientes com escassez hídrica (Leverett, 2019). Tais características estruturais também podem ser relevantes para a propagação vegetativa desta espécie, já que a grande quantidade de água armazenada nos vacúolos das células do hidrênquima mantém o vigor das estacas foliares durante todo o processo de formação de um novo indivíduo (Gorelick, 2015).

A periderme de cicatrização se forma rapidamente em resposta à abscisão, sendo possível observar que o felogênio se encontra completamente instalado já no 2º DAP, formando súber e feloderme. Isto se deve à existência de células meristemáticas na base das folhas, o que caracteriza o meristema intercalar (Gorelick, 2015) e que pode explicar a facilidade com que esta espécie forma um novo indivíduo, mesmo sem a aplicação de qualquer regulador.

Depois de instalada a periderme de cicatrização, as células da região de abscisão se dividem em todas as direções e formam uma protuberância, aqui interpretada como um calo. Nessa região é possível observar uma concentração altíssima de células com conteúdo fenólico e alguns feixes vasculares dispersos. A família Crassulaceae apresenta uma ampla variedade de metabólitos secundários que estão envolvidos com diferentes atividades biológicas como antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória (Hassan et al., 2021). É necessário a realização de mais estudos sobre os fitoconstituintes que podem ser encontrados na espécie *P. hookeri*, mas o presente resultado nos leva a crer que os compostos fenólicos estejam diretamente ligados à cicatrização da região de abscisão e à formação do novo indivíduo.

Com o passar dos dias os feixes vasculares começam a se organizar melhor na região do calo e os órgãos adventícios iniciam a sua formação. A parte aérea tem o seu ponto de origem nas extremidades da base do calo formado, logo abaixo da epiderme. O ponto de origem exato do primórdio radicular, no entanto, não foi possível definir, mas há indícios de que ele tenha surgido próximo aos feixes vasculares presentes na protuberância.

Neste estudo apenas um indivíduo foi gerado por estaca foliar, diferindo do resultado de outras pesquisas realizadas com espécies crassuláceas, onde ocorreu a formação de mais indivíduos por estaca. Cabahug & Nam (2016) relataram que as estacas foliares de *Echeveria* plantadas na horizontal, com a face adaxial para baixo e sem a aplicação de reguladores de crescimento, deram origem a brotos separados em ambos os lados da folha (Cabahug & Nam, 2016). A pesquisa de Silva et al. (2022), testou o efeito de enraizadores comerciais na espécie *Echeveria lilicina* Kimn. E Moran (Crassulaceae) e concluiu que eles não aumentaram o número de brotações por estaca foliar (Silva et al., 2022).

Alguns fatores externos, como a posição da estaca, o meio de cultivo e a incidência de luz solar influenciam na organogênese das espécies (Blinstrubienè et al., 2020). As observações indicam que há uma relação entre a face de surgimento do broto e a incidência solar, mas é necessária a realização de novos estudos para verificar essa hipótese.

CONCLUSÃO

A estaca foliar de *Pachyphytum hookeri* apresenta características anatômicas típicas de plantas xerófitas, como paredes das células epidérmicas mais espessas e recoberta por cutícula de espessura mediana, complexos estomáticos com volumosas câmaras subestomáticas, espaços intercelulares pequenos e mesofilo constituído principalmente por hidrênquima. Este último, por apresentar cloroplastos, é também responsável pela fotossíntese, que provavelmente ocorre através do processo conhecido como metabolismo ácido das crassuláceas (MAC) o qual também representa uma estratégia de sobrevivência a ambientes secos e quentes. O hidrênquima também parece atuar no sucesso da propagação vegetativa desta suculenta, pois a grande quantidade de água armazenada em seus vacúolos garante o vigor das estacas foliares durante todo o processo de formação do novo indivíduo.

A existência de um meristema intercalar na região de abscisão parece ser responsável pela rápida instalação de uma periderme de cicatrização e a formação do calo, que antecede a regeneração do novo indivíduo. A alta concentração de compostos fenólicos nesta região indica algum envolvimento com o processo de organogênese. Novos estudos devem ser conduzidos para concluir se a face de surgimento do broto e da raiz está relacionado à incidência de luz solar, à posição da folha no momento do plantio ou a outro fator externo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLINSTRUBIENÈ, A.; BURBULIS, N.; JONYTIENÈ, V.; MASIENÈ, R. **Evaluation of factors affecting direct organogenesis in a somatic tissue culture of *Sinningia speciosa* (Lood.) Hiern.** Agronomy, v. 10 (1783), 2020.
- CABAHUG, R. A. M.; NAM, S. Y. **Growth of crassulaceae succulents as influenced by leaf cutting type and planting position.** Flower Reserarch Journal, v. 24 (4), p. 255-263, 2016.
- CABAHUG, R. A. M.; NAM, S. Y.; LIM, K.; JEON, J. K.; HWANG, Y. **Propagation techniques for ornamental succulents.** Flower Research Journal, v. 26(3), p. 90-101, 2018.
- CASTELBLANQUE, L.; GARCÍA-SOGO, B.; PINEDA, B.; MORENO, V. **Efficient plant regeneration from protoplasts of *Kalanchoe blossfeldiana* via organogenesis.** Plant Cell Tiss Organ Cult, v. 100, p. 107-112, 2010.

CONDIC, M. L. **Totipotency: what it is and what it is not.** Stem Cells and Development, v. 23 (8), 2014.

EGGLI, U.; HARTMANN, H. E. K. **Illustrated handbook of succulent plants: Crassulaceae.** Springer, 2003.

ENGLER, H. G. A. & PRANTL, K. A. E. *Pachyphytum hookeri* (Salm- Dyck) A. Berger. Nat. Pflanzenfam, v. 18 (2), p. 483, 1930.

FEHÉR, A.; PASTERNAK, T. P.; DUDITS, D. **Transition of somatic plant cells to an embryogenic state.** Plant Cell, Tissue and Organ Culture, v. 74, p. 201-228, 2003.

FEHÉR, A. **Callus, dedifferentiation, totipotency, somatic embryogenesis: what these terms mean in the era of molecular plant biology?** Frontiers in Plant Science, v. 10 (536), 2019.

GILMAN, I. S. & EDWARDS, E. J. **Crassulacean acid metabolism.** Current Biology Magazine, ed. 30, p. 57-62, 2020.

GONIN, M.; BERGOUGNOUX, V.; NGUYEN, T. D.; GANTET, P.; CHAMPION, A. **What Makes Adventitious Roots?** Plants, v. 8, p. 240, 2019.

GORELICK, R. **Why vegetative propagation of leaf cuttings is possible in succulent and semi-succulent plants.** Haseltonia, v. 20, p. 51-57, 2015.

HASSAN, M. H. A.; ELWEKEEL, A.; MOAWAD, A.; AFIFI, N.; AMIN, E.; AMIR, D. E. **Phytochemical constituents and biological activity of selected genera of family Crassulaceae: a review.** South African Journal of Botany, v. 141, p. 383-404, 2021.

KASEKER, J. F.; BATISTA, I. L.; NOHATTO, M. A.; WITTER, A. P. W.; ROSA, E. F. F.; BERETA, S. F. **Emergência de brotações e raízes de espécies suculentas em função da aplicação de fertilizante enraizador, em ambientes contrastantes.** Nativa, Sinop, v. 10 (2), p. 191-196, 2022.

KASEKER, J. F.; BATISTA, I. L.; NOHATTO, M. A.; LUZ, S.; ROSA, E. F. F.; OLIVEIRA, L. N. **Efeitos de doses de canela moída sobre o crescimento e enraizamento de estacas de *Sedum rubrotinctum*.** Ciência Agrícola, v. 21, 2023.

LEVERETT, A. P. **Succulence and crassulacean acid metabolism in the genus *Clusia*.** School of Natural and Environmental Sciences, 2019.

MARTÍNEZ-PERALTA, C.; ALTAMIRANO-VÁSQUEZ, H. G.; ROJAS-ARÉCHIGA, M.; MADUJANO, M. C.; GOLUBO, J. **Seed germination of the invasive succulent *Kalanchoe delagoensis* (Crassulaceae) under controlled conditions of seed age, temperature and light.** Management of Biological Invasions, v. 15, p. 289-300, 2024.

MORAN, R. *Pachyphytum bracteosum* Klotzsch. Cactus & Succulents Journal, v. 61 (3), p. 119-124, 1989.

NYFFELER, R.; EGGLI, U. **An up-to-date familial and suprafamilial classification of succulent plants.** Bradleya, v. 28, p. 125-144, 2010.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULL, M. E. **Polychromatic Staining of Plant Cell Walls by Toluidine Blue O**. Protoplasma, v. 59, p. 364-373, 1964.

OLIVEIRA, O. D. **Manejo de suculentas como alternativa a produção urbana – relato de experiência**. Universidade Federal da Paraíba: Centro de Ciências Agrárias, Areia – PB, 2022.

PATERSON, K. E.; ROST, T. L. **Effects of light and hormones on regeneration of *Crassula argentea* from leaves**. American Journal of Botany, v. 66 (4), p. 463-470, 1979.

PEIXOTO, P. H. P. **Propagação de plantas: princípios e práticas**. Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Botânica, 2017.

PÉREZ-URRESTARAZU, L.; KALTSIDI, M.P.; NEKTARIOS, P.A.; MARKAKIS, G.; LOGES, V.; PERINI, K.; FERNÁNDEZ-CAÑERO, R. **Particularities of having plants at home during the confinement due to the COVID-19 pandemic**. Urban For. Urban Green, v. 59, 2021.

SANTOS, T. V., EDSON-CHAVES, B., OLIVEIRA, F. M. C. **Xerofitismo e suculência**, Revista Ciência Elementar, v. 9 (02), p. 43-47, 2021.

SILVA, A. C.; CORREIA, T. D.; SOUZA, M. M.; FERREIRA, J. T.; ADÃO A. S.; ROBERTO, L. A.; RIBEIRO, C. H. M. **Influence of comercial on the vegetative propagation of *Echeveria lilicina* Kim. & Moran**. Ressearch, Society and Development, v. 11 (10), 2022.

VÁZQUES-COTERO, C.; SOSA, V.; CARRILLO-REYES, P. **Phylogenetc position of *Echeveria heterosepala* (Crassulaceae): a rare species with diagnostic characters of *Pachyphytum***. Botanical Sciences, v. 95 (3), p. 515-526, 2017.

VERDEIL, J.-L.; ALEMANN, L.; NIEMENAK, N.; TRANBARGER, T. J. **Pluripotent versus totipotent plant stem cells: dependence versus autonomy?** Trends in Plant Science, v. 12 (6), p. 245-252, 2007.

WENDLING, I. **Propagação Vegetativa**. Embrapa Florestas, 2003.