

Morfoanatomia e enraizamento de estacas caulinares de *Justicia wasshauseniana* Profice (Acanthaceae)

Morphology, anatomy and rooting of stem cuttings of *Justicia wasshauseniana* Profice (Acanthaceae)

Livia Zottele^{1*} e Elisa M Aoyama¹

1. UFES/CEUNES – Universidade Federal do Espírito Santo/Centro Universitário Norte do Espírito Santo. Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas - Rodovia BR 101 Norte km 60, Litorâneo, São Mateus, ES, Brasil, CEP 29932-540.

*Autor para correspondência: zottele.livia@gmail.com

Resumo Acanthaceae possui uma vasta distribuição no território brasileiro, onde cerca de 130 espécies são do gênero *Justicia* L. *Justicia wasshauseniana* Profice, espécie estudada no presente trabalho é nativa do Brasil, sendo endêmica do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Bahia. Está listada entre as espécies vulneráveis a extinção, por isso, há necessidade de estudos sobre a sua propagação. A forma ideal de propagação para esta espécie é através de estaquia, um meio rápido e econômico, podendo ser produzidas mudas de uma única planta matriz. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o enraizamento e estrutura anatômica das estacas caulinares de *J. wasshauseniana*. Foi avaliado o enraizamento das estacas submetidas ao substrato vermiculita, o comprimento e a quantidade de raízes, a mortalidade, a quantidade de brotações e folhas, além da análise anatômica da região do caule em que ocorreu a emissão das raízes. As análises dos resultados mostraram que a *J. wasshauseniana* é uma espécie de fácil enraizamento, por apresentarem baixo índice de mortalidade e não encontrarem barreiras anatômicas para o desenvolvimento das raízes adventícias.

Palavras chaves: estaquia, anatomia caulinar, propagação vegetativa, Reserva Natural Vale.

Abstract Acanthaceae has a wide distribution in Brazil, where about 130 species are of the genus *Justicia* L. *Justicia wasshauseniana* Profice, the species studied in this work is native from Brazil, being endemic in Espírito Santo, Rio de Janeiro and Bahia States. It is listed among the species vulnerable to extinction, for this reason it is necessary to study its way of propagation. This species ideal propagation form is through cuttings (rapid and economical means) and seedlings (from a single mother plant). Thus, the present study aimed to evaluate the anatomical structure of roots and cuttings of *J. wasshauseniana*. Rooting of cuttings was submitted to vermiculite

and the parameters analyzed were: length and quantity, mortality, number of shoots and leaves, in addition to anatomical analysis of the stem region in which the emission of roots occurred. The results showed that the *J. wasshauseniana* is an easy species to root, because it has a low mortality rate and find no anatomical barriers to the development of adventitious roots.

Keywords: cuttings, stem anatomy, vegetative propagation, Reserva Natural Vale.

Introdução

A família Acanthaceae possui uma distribuição pantropical, ocorrendo no Brasil cerca de 40 gêneros e 432 espécies (Profice *et al.* 2013). As flores de Acanthaceae muitas vezes apresentam corolas coloridas e, com frequência, brácteas vistosas e são polinizadas por abelhas, vespas, mariposas, borboletas e aves a procura de néctar (Judd *et al.* 2009), o que representa uma grande importância ecológica das espécies. Dentre essas espécies brasileiras, cerca de 130 pertencem ao gênero *Justicia* L., que ocorrem em praticamente todos os biomas, predominando maior diversidade de espécies na Mata Atlântica e Amazônia (Profice *et al.* 2013). Dentre os gêneros de Acanthaceae, *Justicia* é o maior e taxonomicamente mais complexo (Graham 1988), se destacando por apresentar grande importância ornamental (Souza e Lorenzi 2012), ecológica (Ezcurra 2002) e medicinal (Corrêa e Alcantara 2012).

A *Justicia wasshauseniana* Profice (Figura 1A e 1B), espécie estudada, vulgarmente conhecida como rabo de quati, é uma espécie herbácea que possui flores de coloração branca (Vale 2012). Segundo Profice *et al.* (2013) a espécie pode atingir até 1 metro de

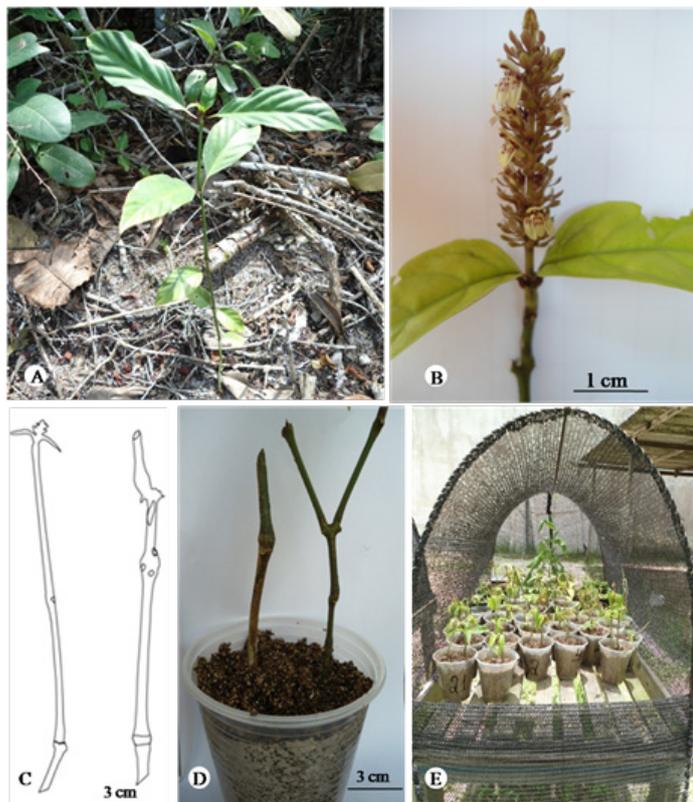


Figura 1 A: *Justicia wasshauseniana* Profice em seu habitat natural. B: Detalhe da inflorescência. C: Imagem ilustrativa do modelo da estaca caulinar, representando as estacas apicais e basais respectivamente. D: Copo plástico contendo as estacas basais e apicais no substrato vermiculita expandida. E: Estrutura coberta por sombrite 50% onde os copos plásticos contendo as estacas caulinares permaneceram durante 60 dias.

altura, apresentando caule subcilíndrico com entrenós espessados glabrescentes. É nativa do Brasil, sendo endêmica do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Bahia. No Rio de Janeiro se desenvolve nas formações florestais da Serra do Mar, onde é pouco frequente (Profice *et al.* 2013).

No Espírito Santo, um dos locais de ocorrência é na Reserva Natural Vale (RNV) (Vale 2012). A Reserva Natural Vale, junto à Reserva Biológica de Sooretama, representam um dos últimos remanescentes de floresta primária em toda a Mata Atlântica, sendo considerado um dos centros de alta diversidade biológica e de endemismo no Brasil (Peixoto e Silva 1997).

Segundo Kollmann *et al.* (2007) das cercas de 3.900 espécies de Angiospermas listadas para o Espírito Santo, cerca de 300 espécies estão vulneráveis a extinção, incluindo entre elas a *J. wasshauseniana*.

Tendo em vista essa vulnerabilidade, há necessidade de propagação dessa espécie, porém, como os frutos apresentam deiscência explosiva (Witzum e Schulgasser 1995), isso dificulta a propagação via sementes, além disso, em *Justicia* os frutos apresentam algumas modificações, onde a porção do terço médio-inferior é estéril, restando no máximo quatro sementes (Barroso *et al.* 1999). Uma alternativa para contornar essa dificuldade está no uso de propagação vegetativa, entre elas, a mais comum é a estaquia caulinar (Hartmann *et al.* 2002).

A estaquia é uma das técnicas de propagação vegetativa mais utilizada na área de plantas ornamentais, permitindo a obtenção

de grandes quantidades de mudas em um curto período de tempo (Read e Yang 1991), e para espécies florestais, visando um interesse ecológico (Hoppe *et al.* 1999). Essa propagação tem como vantagens a reprodução de todas as características da planta matriz, uniformidade nas populações, facilidade na propagação (Hartmann *et al.* 2002) e rápido incremento no número de plantas, já que se pode produzir inúmeras mudas a partir de uma planta matriz apenas (Ferri 1997).

Entretanto, uma das dificuldades do enraizamento é a característica anatômica do material vegetal a ser estudado. Dependendo da espécie, os tecidos mecânicos que a constituem podem atuar como uma barreira para a emissão dos primórdios radiciais, bloqueando sua formação (Write e Lovell 1984), por isso, conhecimentos da estrutura interna do caule permite entender a origem das raízes adventícias (Ferri 1997).

Os estudos anatômicos com espécies de *Justicia* se concentram nas características foliares, devido ao valor taxonômico das estruturas presentes neste órgão (Kumar e Paliwal 1978, Tavares e Neves 1993, Tavares e Viana 1995, Saritha e Brindha 2011, Aoyama e Indriunas 2012, Verdam *et al.* 2012, Aoyama e Indriunas 2013, Zottele e Aoyama 2013).

Porém, estudos feitos com *Odontonema strictum* Kuntze pertencente também a família Acanthaceae, mostraram que um dos fatores que facilitam o enraizamento da planta, é o reduzido crescimento dos tecidos mecânicos na região periférica do cilindro central das estacas (Zuffellato-Ribas *et al.* 2005), o que caracteriza uma vantagem para a utilização de estaquia como meio de propagação vegetativa.

Na literatura há poucos trabalhos sobre a espécie a ser estudada e a ausência de informações sobre sua propagação vegetativa. Dessa forma, considerando a estaquia como melhor viabilidade econômica para formação de mudas em um curto intervalo de tempo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o enraizamento e a estrutura anatômica de estacas caulinares de *Justicia wasshauseniana* Profice.

Métodos

A Reserva Natural Vale (RNV) está localizada ao norte do estado do Espírito Santo entre os municípios de Linhares e Jaguaré, com cerca de 22.000 ha, altitude variando entre 28-65 m, clima quente e úmido com estação chuvosa no verão e quente no inverno, vegetação composta por Florestas de Tabuleiros, em seu estado original (Fundação SOS Mata Atlântica 2002). Geograficamente a Reserva situa-se entre os paralelos 19° 06 – 19° 18 de latitude sul e os meridianos 39° 45 – 40° 19 de longitude W Gr. (Jesus 2001).

Os ramos caulinares herbáceos de *Justicia wasshauseniana* (Figura 1A) foram coletados em setembro de 2011 na Reserva Natural Vale, Linhares- Espírito Santo, na estrada Arlindinho, S-19 07°07.8" WO-40 02'58.5", onde se encontram nativas.

Dos ramos caulinares coletados, foram selecionadas 70 estacas com aproximadamente 15 cm de comprimento, sendo 35 obtidas da porção basal dos ramos, e 35 da porção apical. Cortadas em bisel

(Figura 1C) para aumentar o contato com o substrato e as folhas retiradas para evitar a desidratação.

O plantio foi realizado em copos plásticos de 500mL contendo duas estacas em cada copo, uma basal e uma apical, utilizando-se como substrato vermiculita expandida (Figura 1D). Foram mantidos por 60 dias em uma estrutura de madeira com cerca de 100 cm de comprimento e 60 cm de largura, coberta por sombrite a 50%, sendo irrigadas diariamente (Figura 1E). O experimento permaneceu em uma área residencial de São Mateus-ES.

Foram realizadas três avaliações (20, 45 e 60 dias), sendo observados o número de brotações, comprimento dos brotos, número de raízes, comprimento das raízes e o índice de mortalidade. Para a determinação do comprimento das raízes e brotos, utilizou-se uma régua graduada em centímetros. O índice de mortalidade foi determinado com base nas estacas que não apresentaram raízes e brotos.

Após cada avaliação foram retiradas cinco estacas caulinares e posteriormente fixados em FAA (formaldeído:ácidoacético:álcool etílico 50%, 2:1:18, v/v), de acordo com Johansen (1940), mantidas por 48 horas e posteriormente transferidas para etanol 70%. Secções transversais da região de emissão das raízes das estacas apicais foram obtidas à mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear. Posteriormente foram clarificadas com solução de hipoclorito de sódio a 50%, coradas com azul de Astra 1% e safranina1% (Bukatsch 1972), e montadas em lâminas semipermanentes com gelatina glicerínada. As lâminas foram analisadas ao microscópio e as ilustrações obtidas em microscópio Leica DM750, acoplada à câmera fotográfica Leica ICC50, com projeção de escalas micrométricas.

Para a análise dos dados obtidos, utilizou-se a estatística descritiva, calculando-se a média e o desvio padrão. Os dados de enraizamento das estacas foram submetidos ao teste de normalidade, à análise de variância (ANOVA) e ao teste Tukey em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT.

Resultados e discussão

Após as avaliações do enraizamento das estacas, tanto basais como apicais, foi constatado que os primórdios radiciais de *J. wasshauseniana* surgiram diretamente da região basal das mesmas, não havendo formação de calos, emitindo as raízes independentemente do nó, como foi observado em *Coffea arabica* L. (Bergo 1997). Uma série de mudanças morfológicas pode estar associada com a formação de raízes em estacas, como a formação ou não de calos, o desenvolvimento do primórdio radicular e a emergência da raiz (Thomas e Schiefelbein 2002). Segundo Hamann (1998) nas espécies consideradas de difícil enraizamento geralmente há formação de calos precedentes à formação de raízes, o que para a espécie em estudo não ocorreu.

Os ramos caulinares das porções basais e apicais obtiveram

Tabela 1 Parâmetros biométricos das raízes e brotos das estacas de *Justicia wasshauseniana* Profice.

Parâmetros	Posição	Período (dias)		
		20	45	60
Nº de Raiz	B	7,5±4,3 b	11,4±4,5 a	11,4±4,6 a
	A	6,0±3,2 b	7,8±2,6 a	8,7±3,2 a
Comprimento da Raiz (cm)	B	3,1±1,8 c	10,7±3,8 b	14,5±5,2 a
	A	3,6±1,8 b	10,8±3,9 a	12,6±4,6 a
Número de brotos	B	1,8±1,5 b	5,2±2,3 a	5,8±2,3 a
	A	3,2±1,9 b	3,0±1,6 a	2,7±1,5 a
Comprimento do Broto (cm)	B	0,5±0,5 b	3,8±1,2 a	4,0±1,2 a
	A	1,6±1,4 b	3,6±1,4 a	3,6±1,7 a

B- Estacas Basais, A- Estacas apicais. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si.

índices de mortalidade muito baixos, sendo uma taxa de 0,35% de ambos, podendo ser caracterizada como uma espécie de fácil enraizamento, uma vez que nenhum tipo de hormônio vegetal foi utilizado para estimulação da formação das raízes, tendo um bom desenvolvimento como mostrado na Figura 2A. Bezerra (2003) afirma que a espécie *Egletes viscosa* (L.) Less. é propagada facilmente por estacas caulinares herbáceas, sem a necessidade de aplicação exógena de auxinas e Ferriani *et al.* (2008) afirmam que para *Piptocarpha angustifolia* Dusén o enraizamento é maior sem o uso de regulador vegetal.

Segundo Hartmann *et al.* (2002) plantas de fácil enraizamento, possuem em seus tecidos substâncias endógenas necessárias à iniciação radicular e não é necessária a aplicação de qualquer substância exógena para que as estacas formem raízes. De acordo com Zuffellato-Ribas *et al.* (2005), a espécie *Odontonema strictum*, apresentou 100% de enraizamento das estacas caulinares, sendo considerada também uma espécie de fácil enraizamento, assim como *Psychotria nuda* que enraíza sem a necessidade de aplicação de regulador vegetal (Nery *et al.* 2014).

Com base no teste estatístico ANOVA, verificou-se que não houve diferenças significativas de enraizamento entre as estacas basais e apicais (tabela 1). Tavares *et al.* (2012) também não encontrou diferenças entre as estacas basais e apicais de erva cidreira (*Lippia alba* (Mill) N. E. Brown). Esses resultados se opõem aos resultados de Chagas *et al.* (2008) que obtiveram maior sucesso de enraizamento e maior número de brotos nas estacas apicais de *Mentha arvensis* L. Ramalho *et al.* (2007) verificaram o maior enraizamento em estacas basais de carqueja (*Baccharis trimera*). O número de raízes e brotos, assim como o comprimento dos mesmos, teve um aumento conforme o tempo em que ficou mantido no substrato vermiculita, tendo um menor desenvolvimento no tempo de 20 dias, como mostra a Figura 2B, não havendo diferenças significativas entre os tempos de 45 e 60 dias (Tabela 1 e Figuras 2C, 2D, 2E).

Vários fatores ambientais podem afetar a estaquia, tais como luz, temperatura, umidade, pragas, doenças e deficiências nutricionais do substrato (Rios *et al.* 2001). A qualidade do substrato

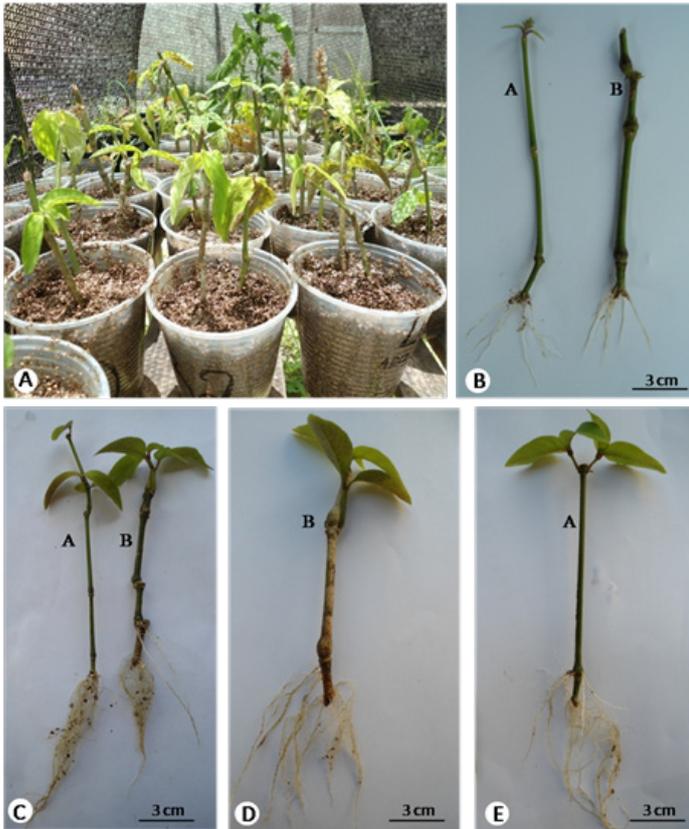


Figura 2 A: Aspectos gerais das estacas caulinares de *Justicia wasbaueriana* Profice no substrato vermiculita. B: Estacas caulinares apicais (A) e basais (B) após 20 dias. C: Estacas caulinares apicais (A) e basais (B) após 45 dias. D e E: Estacas caulinares basais (B) e apicais (A) após 60 dias.

é um fator determinante para o sucesso no enraizamento de estacas em muitas espécies (Lima *et al.* 2003), pois o crescimento depende de condições físicas e químicas do substrato utilizado e das substâncias de reserva que a planta utiliza para a divisão e alongação celular das raízes (Pescador *et al.* 2007).

O substrato vermiculita apresenta boa aeração e drenagem, elevada porosidade, com equilíbrio entre macro e microporos e alta capacidade de retenção de água (Kämpf 2000, Hartmann *et al.* 2002). Segundo Montanari *et al.* (2004) substratos com maior porosidade facilita o crescimento radicular. Segundo Landis (1990), a vermiculita é um substrato estéril, caracterizado pela falta de nutrientes, o que pode explicar a estagnação do crescimento, considerando que para o processo de crescimento das raízes é necessário que haja um equilíbrio de carboidratos e compostos nitrogenados (Ono e Rodrigues 1996).

Os resultados obtidos das análises anatômicas das estacas caulinares apicais mostraram estarem em crescimento primário em transição para o secundário, devido à ausência de floema secundário e periderme. Esta estrutura também foi observada em trabalho de Peichoto (1998) com 12 espécies do gênero no nordeste da Argentina, *J. brandegeana* Wash. & L.B. Sm. (O'Neil, 2010) e em *J. acuminatissima* (Miq.) Breck. (Verdam *et al.* 2012).

A estrutura caulinar é constituída de três sistemas de tecidos, sendo estes o dérmico, o fundamental e o vascular (Figura 3A). O sistema dérmico é composto por epiderme unisseriada, formada por células quadrangulares apresentando tricomas tectores

multicelulares, estruturas comumente observadas em Acanthaceae (Peichoto 1998, O'Neil 2010, Verdam *et al.* 2012).

Internamente à epiderme, situa-se o sistema fundamental, que é formado pelo córtex com cerca de seis camadas de células, apresentando colênquima angular e parênquima de reserva. O colênquima angular também pode ser observado no pecíolo e na região da nervura central em outras espécies da família (Monteiro e Aoyama 2012, Aoyama e Indriunas 2013, Zottele e Aoyama 2013).

O sistema vascular é formado pelo xilema primário, xilema secundário (Figura 3B), o câmbio vascular e floema primário, que é delimitado por fibras descontínuas (Figura 3C). Internamente ao xilema, encontra-se a medula parenquimática, composta por células isodiamétricas. Embora, comparando com as 12 espécies estudadas por Peichoto (1998) apenas *J. brasiliiana* apresenta camada contínua de fibras.

As fibras descontínuas que delimitam o floema fornecem sustentação e proteção e não atuam como barreira anatômica à emergência do primórdio radicular (Jesus *et al.* 2010). O insucesso do enraizamento em alguns casos pode ser causado pela presença de barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiciais (Ono e Rodrigues 1996), bem como o desenvolvimento de fibras e esclerídes no floema primário, características presentes na grande maioria de estacas coletadas de plantas adultas (White e Lovell 1984), porém, na espécie em estudo, as raízes adventícias não encontram barreiras estruturais para o seu desenvolvimento, o que pode explicar em parte a facilidade de enraizamento, assim como a presença de parede celular primária e não lignificada, como ocorre na maioria das plantas herbáceas (White e Lovell 1984, Hartmann *et al.* 2002).

Após a primeira avaliação das estacas, que apresentavam 20 dias de plantio, as raízes adventícias já estavam formadas, corroborando com Zuffellato-Ribas *et al.* (2005), onde as estacas de *Odontonema strictum* (Acanthaceae) apresentaram primórdios radiciais após 12 dias de plantio.

As seções da região de emissão das raízes das estacas apicais

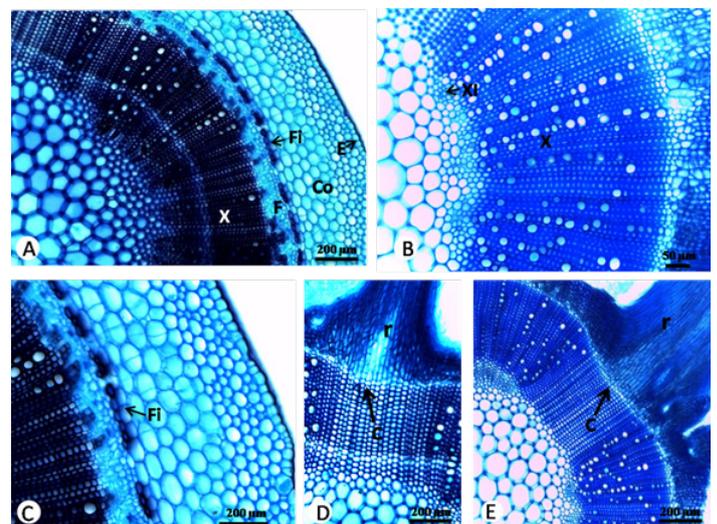


Figura 3 Seções transversais da base das estacas apicais de *Justicia wasbaueriana* Profice. A: Visualização da epiderme, córtex, fibras, floema e xilema secundário; B: Detalhe do xilema primário e secundário; C: Detalhe das fibras; D e E: Destaque para o câmbio vascular de onde emerge a raiz adventícia. E = epiderme; Co = Córtex; Fi = Fibras; F = Floema; X = Xilema Secundário; XI = Xilema primário; r = Raiz adventícia.

mostraram que tiveram origem a partir do câmbio vascular, próxima as células do floema (Figuras 3D e 3E). Segundo Hartmann *et al.* (2002), a formação de raízes adventícias pode ser de forma direta, pela diferenciação de células próximas ao sistema vascular como ocorre em *Justicia wasshauseniana*, ou indireta, quando as células de divisão não orientada formam calos que permanecem assim por um período e depois, ao se dividirem de forma organizada, iniciam a raiz primária.

A maioria das raízes origina-se de células que são capazes de tornarem-se meristemáticas. Nas estacas de plantas herbáceas, essas células encontram-se fora e entre os feixes vasculares (Alvarenga e Carvalho 1983). Esse padrão de origem das raízes adventícias também foi encontrado para *Mussaenda erythrophylla* (L.) Schum. & Thonn, onde, durante o enraizamento, foi verificada atividade meristemática nas células parenquimáticas do floema próximas ao câmbio vascular (Hilaire *et al.* 1996). Em *Odontonema strictum* Kuntze, Zuffellato-Ribas *et al.* (2005), verificaram que a maior atividade mitótica ocorre na região externa do floema primário.

Esse fato concorda com as observações de Esau (1993), que registra que a origem das raízes adventícias geralmente é endógena, formando-se junto aos tecidos vasculares, crescendo através dos tecidos localizados ao redor do seu ponto de origem.

Grande parte dos estudos de enraizamento diz respeito às espécies cultivadas, tais como acerola, café e maracujá (Lima *et al.* 2005, Bergo 1997, Junqueira *et al.* 2001). Visto que a espécie em estudo apresenta fácil enraizamento, sua utilização para fins ornamentais e de recuperação de áreas degradadas torna-se propícia. A propagação de espécies nativas é de suma importância, pois a utilização dessas espécies ameaçadas na ornamentação de jardins, parques, praças, ruas, residências mantém um banco genético muito maior que aquele de instituições de pesquisa, jardins botânicos e bancos de germoplasma (Barroso *et al.* 2007).

Agradecimentos

À Reserva Natural Vale pelo espaço cedido para realização das coletas. Ao Geovane de Souza Siqueira que colaborou imensamente para identificação e localização da espécie. Este trabalho faz parte do Programa Institucional de Iniciação Científica da Universidade Federal do Espírito Santo.

Referências

Alvarenga LR, Carvalho VD (1983) Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário** 9: 47-55.
Aoyama EM, Indriunas A (2012) Leaf anatomy of *Justicia brandegeana* Wash. & L.B. Sm. (Acanthaceae). **Communications in Plant Sciences** 2: 37-39.

Aoyama EM, Indriunas, A (2013) Morfoanatomia foliar de três espécies de *Justicia* L. (Acanthaceae). **Enciclopédia Biosfera** 9: 2833-2844.
Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF (1999) **Frutos e Sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa, UFV.
Barroso CM, Delwing AB, Klein GN, Barros IBI, Franke LB (2007) Considerações sobre a propagação e o uso ornamental de plantas raras ou ameaçadas de extinção no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agroecologia** 2: 426-429.
Bergo CL (1997) **Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) através do enraizamento de estacas**. Dissertação de Mestrado. Lavras, Universidade Federal de Lavras (UFLA).
Bezerra AME (2003) **Desenvolvimento de um sistema de produção para macela (*Egletes viscosa* (L.) Less)**. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Fortaleza, Universidade Federal do Ceará.
Bukatsch F (1972) Bemerkungen zum Doppelfarbung Astrablau-Safranin. **Mickrokosmos** 61: 255.
Chagas JH, Pinto JEBP, Bertolucci SKV, Nalon FH (2008) Produção de mudas de hortelã-japonesa em função da idade e de diferentes tipos de estaca. **Ciência Rural** 38: 2157-2163.
Corrêa GM, Alcântara AFC (2012) Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia* - a review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 22: 220-238.
Esau, K (1993) **Anatomia das Plantas com Semente**. São Paulo, Edgard Blucher.
Ezcurra C (2002) El género *Justicia* (Acanthaceae) em sudamérica austral. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 89:225-280.
Ferri CP (1997) Enraizamento de estacas de citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura** 19: 113-121.
Ferriani AP, Mayer JLF, Zuffellato-Ribas KC, Bona C, Koehler HS, Deschamps C, Carpanezzi AA, Oliveira MC (2008) Estaquia e anatomia de vassourão-branco. **Scientia Agraria** 9: 159-166.
Fundação SOS Mata Atlântica (2002) **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica 1995-2000**. Fundação SOS Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas espaciais, Relatório Final, São Paulo.
Graham VAW (1988) Delimitation an Infra-Generic Classification of *Justicia* (Acanthaceae). **Kew Bulletin** 43: 551-624.
Hamann A (1998). Adventitious root formation in cuttings of *Loblolly pine* (L.): developmental sequence and effects of maturation. **Trees** 12: 175-180.
Hartmann HT, Kester DE, Davis Jr FT (2002) **Plant Propagation: principles and practices**. 7 ed. New York, Englewood Clippis/Prentice Hall.
Hilaire RS, Berwart CAF, Pérez-Muñoz CA (1996) Adventitious root formation and development in cuttings of *Mussaenda erythrophylla* L. Schum. & Thonn. **Horticultural Science** 31: 1023-1025.
Hoppe JM, Schumacher MV, Miola AC, Oliveira LS (1999) Influência do diâmetro de estacas no desenvolvimento dos brotos de *Platanus acerifolia*. **Ciência Florestal** 9: 25-28.
Jesus RM (2001) **Manejo Florestal: impactos da exploração na estrutura da floresta e sua sustentabilidade econômica**. Tese de Doutorado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas.
Jesus MAS, Carvalho SP, Castro EM, Gomes CN (2010) Observações anatômicas em plantas de *Coffea arabica* L. obtidas por enraizamento de estacas. **Revista Ceres** 57: 175-180.
Johansen DA (1940) **Plant Microtechnique**. New York, Mc Graw Hill.
Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF (2009) **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. Porto Alegre, Artmed.
Junqueira NTV, Manica I, Chaves RC, Lacerda CS, Oliveira JA, Fialho

- JF (2001) Produção de mudas de Maracujá-Azedo por Estaquia em bandejas. **Recomendação Técnica Embrapa** 42:1-3
- Kämpf, A.N (2000) **Produção Comercial de Plantas Ornamentais**. Guaíba, Agropecuária, pp 45-73.
- Kollmann LJC, Fontana AP, Simonelli M, Fraga CN (2007) As Angiospermas ameaçadas de extinção no Estado do Espírito Santo. In: Simonelli M, Fraga CN (org) **Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção no Estado do Espírito Santo**. Vitória, Ipema, pp 108-112.
- Kumar S, Paliwal GS (1978) Foliar anatomy of the family Acanthaceae. The tribe Justiceae. **Bulletin of the Botanical Survey of India** 20:54-63.
- Landis TD (1990) Containers and growing media. In: **The Container Tree Nursery Manual**. Washington, USDA Forest Service, pp 41-85.
- Lima NP, Biasi LA, Zanette F, Nakashima T (2003) Produção de mudas por estaquia de duas espécies de guaco. **Horticultura Brasileira** 21: 106-109.
- Lima RLS, Siqueira DL, Weber OB, Bueno DM, Cecon, PR (2005) Enraizamento de estacas caulinares de acerola em função da composição do substrato. **Semina: Ciências Agrárias** 26: 27-32.
- Montanari RM, Sousa LA, Leite MN, Coelho AD, Vicini LF, Stefanini MB (2004) Plasticidade Fenotípica da Morfologia Externa de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britt. & Wilson (Verbenaceae) em Resposta a Níveis de Luminosidade e Adubação. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis** 6: 96-101.
- Monteiro MM, Aoyama EM (2012) Morfoanatomia foliar de *Ruellia furcata* (Nees) Lindau (Acanthaceae). **Enciclopédia Biosfera** 8: 735-750.
- Nery FSG, Zuffellato-Ribas KC, Koehler HS (2014) Enraizamento de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal** 24: 243-250.
- O'Neil CS (2010) Anatomy of the shrimp plant, *Justicia brandegeana* (Acanthaceae). **Studies by Undergraduate Researchers at Guelph** 3: 41-47.
- Ono EO, Rodrigues JD (1996) **Aspectos da Fisiologia do Enraizamento de Estacas Caulinares**. Jaboticabal, FUNEP.
- Peichoto MC (1998). Estudios morfo-anatómicos em espécies de *Justicia* (Acanthaceae) del nordeste argentino. **Darwiniana** 36: 13-28.
- Peixoto AL, Silva IM (1997) Tabuleiros forests of northern Espírito Santo, south-eastern Brazil. In: Davis SD, Heywood VH, Herrera-MacBryde O, Villa Lobos J, Hamilton AC (org) **Centres of Plant Diversity: a guide and strategy for their conservation**. WWF/IUCN, pp 369-372.
- Pescador R, Voltoni AC, Girardi CG, Rosa FAF (2007) Estaquia de Pariparoba-do-Rio Grande do Sul sob efeito do ácido indol-butírico em dois substratos. **Scientia Agraria** 8: 391-398.
- Profice SR, Kameyama C, Côrtes ALA, Braz DM, Indriunas A, Vilar TC, Ezcurra C, Wasshausen D (2013) Acanthaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000033>).
- Ramalho RIN, Nolasco MA, Carvalho T, Ripka M, Giublin LM, Negrello N, Scheffer MC (2007) Enraizamento de estacas de carqueja em função de diferentes substratos e posições do ramo em plantas masculinas e femininas. **Scientia Agrária** 8: 269-274.
- Read PE, Yang G (1991) Plant growth regulator effects on Rooting of forced softwood cuttings. **Acta Horticulturae** 300: 197-200.
- Rios MN, Ribeiro JF, Rezende ME (2001) Propagação vegetativa: enraizamento das estacas de espécies nativas de Mata de Galeria. In: Ribeiro JF, Silva JCS, Fonseca CEL (org) **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina, DF. EMBRAPA Cerrados. pp 455-491.
- Saritha B, Brindha P (2011) Microscopic standardization studies on *Justicia tranquebarensis* L. **Journal of Pharmacy Research** 4: 2897-2899.
- Souza VC, Lorenzi H (2012) **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG III**. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Tavares ES, Neves LJ (1993) Anatomia foliar de *Justicia cydoniifolia* (Nees) Lindau Acanthaceae. **Bradea** 6: 220-231.
- Tavares ES, Viana VRC (1995) Contribuição ao estudo de *Justicia pectoralis* Jacq. – anador. **Revista Brasileira de Farmácia** 76: 63-66.
- Tavares IB, Momtente VG, Barreto HG, Castro HG, Santos GR, Nascimento IR (2012) Tipos de estacas e diferentes substratos na propagação vegetativa da Erva Cidreira (Quimiotipos I, II E III). **Biosciencia Journal** 28: 206-213.
- Thomas P, Schiefelbein J (2002) Cloning and characterization of an actin depolymerizing factor gene from grape (*Vitis vinifera* L.) expressed during rooting in stem cuttings. **Plant Science** 162: 283-288.
- Vale (2012) **Herbário Virtual**. Disponível em <<http://www.vale.com.br/pt-br/sustentabilidade/Biodiversidade/reserva-natural-vale/herbario-virtual/Paginas/default.aspx>> Acesso em 3 de mai. 2012.
- Verdam MCS, Ohana DT, Araújo MGP, Guilhon-Simplicio F, Mendonça ASDe, Pereira MM (2012) Morphology and anatomy of *Justicia acuminatissima* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 22:1212-18.
- White J, Lovell PH (1984) The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. **Annals of Botany** 54: 7-20.
- Witzum A, Schulgasser K (1995) The mechanics of seed expulsion in Acanthaceae. **Journal of Theoretical Biology** 176: 531-542.
- Zottele L, Aoyama EM (2012) Morfo-anatomia foliar de *Justicia wassbauseriana* Profice (Acanthaceae). In: **II Simpósio sobre a Biodiversidade de Mata Atlântica**. Santa Teresa, Museu de Biologia Mello Leitão.
- Zuffellato-Ribas KC, Boeger MRT, Bona C, Paes EGB, Pimenta AC, Masuda ET (2005) Enraizamento e morfo-anatomia de estacas caulinares de *Odontonema strictum* Kuntze (Acanthaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental** 11: 57-61.