



UFG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

**ASPÉCTOS FENOLÓGICOS E CULTIVO IN
VITRO DE *Bromelia reversacantha* MEZ
(BROMELIACEAE)**

LUIZ VALÉRIO AFIUNE COSTA

Orientador:
Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov

JUNHO – 2009

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

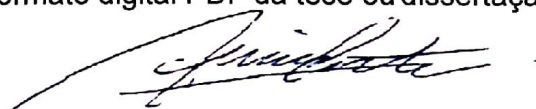
Nome completo do autor: Luiz Valério Afiune Costa

Título do trabalho: *ASPÉCTOS FENOLÓGICOS E CULTIVO IN VITRO DE Bromelia reversacantha* MEZ (BROMELIACEAE)

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do(a) autor(a)²



Assinatura do Orientador(a)²

Data: 15 /06 /2019

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

LUIZ VALÉRIO AFIUNE COSTA

**ASPÉCTOS FENOLÓGICOS E CULTIVO *IN VITRO* DE *Bromelia*
reversacantha MEZ (BROMELIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador:
Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov

Goiânia, GO - Brasil

2009

A257a Afiune-Costa, Luiz Valério.
Aspectos fenológicos e cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez (Bromeliaceae)[manuscrito] / Luiz Valério Afiune Costa - 2009.
80 f.: il., figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 2009.

Bibliografia: f. 73-79

Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

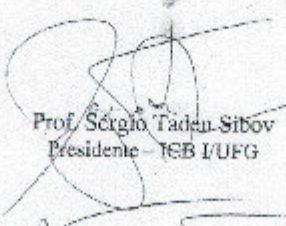
1. Bromélias 2. Cerrado 3. Fenologia 4. Propagação
3. Paisagismo I. Título.

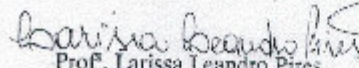
CDU: 582.548.1


 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
 ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE LUIZ VALÉRIO AFIÚNE COSTA - Aos quinze dias do mês de junho do ano de dois mil e nove (15/06/2009), às 14h00min, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Prof. Sérgio Tadeu Sibov - Orientador, Dr. Sebastião Pedro da Silva Neto e Prof^a. Larissa Leandro Pires, para, sob a presidência do primeiro, e em sessão pública realizada no auditório do PPGA da EA/UFG, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: "Aspectos fenológicos e cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez (Bromeliaceae)", em nível de **Mestrado**, área de concentração em **Genética e Melhoramento de Plantas**, de autoria de **Luiz Valério Afiúne Costa**, discente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora, Prof. Sérgio Tadeu Sibov, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da dissertação que, em 40 minutos apresentou o seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o examinando, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 658/2004 do CEPEC - Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura, que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Agronomia e procedidas às correções recomendadas, a dissertação foi **APROVADA** por unanimidade, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE EM AGRONOMIA**, na área de concentração em **GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS** pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega, na secretaria do PPGA, da versão definitiva da dissertação, com as devidas correções. A Banca Examinadora recomenda a publicação de artigo científico, oriundo dessa dissertação em periódicos de circulação nacional e, ou, internacional, depois de procedidas as modificações sugeridas. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16h50min a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação e, para constar, eu, Welinton Barbosa Mota, secretário do PPGA, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada pelos membros da Banca Examinadora, em quatro vias de igual teor.


 Prof. Sérgio Tadeu Sibov
 Presidente - IEB I/UFG


 Prof. Larissa Leandro Pires
 EA/UFG


 Dr. Sebastião Pedro da Silva Neto
 Pádua Cerrados

“Quando percebermos que nós e o planeta somos, na verdade, um só, uma realidade, uma só consciência, terá chegado ao ponto de descobrir que a nossa transformação não foi apenas uma atitude, mas uma mutação.”

(Do filme Ponto de Mutação, baseado
na obra de Fritjof Capra)

Aos meus irmãos Beth, Roberto, Cecília, Fernando,
Carlos e Alberto, pela dedicação à família, que me
proporciona a tranquilidade de ficar ausente...
Ao meu filho Thiago, presente de Deus...

DEDICO

Aos meus pais Luiz Otelo Costa (*na Vida Maior*)
e Maria Afiune Costa, por seu amor, abnegação e
exemplo de garra e vontade, que sempre
iluminaram e fazem clareira no caminho a seguir...

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

O Deus, pela bênção da Vida,... Por permitir que as portas se abram para a percepção de novos horizontes, pela oportunidade de continuar aprendendo e conhecendo mais um fragmento de Sua criação...

À Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade de ingressar ao Programa de Pós-Graduação e pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, nas pessoas da Coordenadora Professora Doutora Mara Rúbia da Rocha e Professora Doutora Patrícia Guimarães Santos Melo e do Secretário Senhor Welinton Barbosa Mota e demais funcionários, pelo apoio, simpatia e amizade.

Ao Professor Doutor José Ângelo Rizzo, pela autorização da pesquisa na Reserva e pelo apoio, consideração e amizade.

Ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, pela utilização de equipamentos e instalações.

Ao meu Orientador Professor Doutor Sérgio Tadeu Sibov, que efetivamente auxiliou na execução dos trabalhos, especialmente nas avaliações de campo, pelas sugestões, apoio e dedicação.

À Professora Doutora Larissa Leandro Pires, pelo auxílio, carinho e amizade, pelas sugestões que contribuíram para a melhoria da qualidade do trabalho e pela chama de incentivo constante.

Ao Professor Doutor Sebastião Pedro da Silva Neto, pela solicitude do apoio prestado em todos os momentos em que solicitado e pelas valiosas sugestões.

Aos seguranças da Reserva, Neilor de Oliveira Silva, Nilson Gonçalves da Cruz, Benedito José da Silva e José Modesto Filho, pelo apoio, companheirismo e presença sempre constantes.

Ao Senhor Eddie Esteves Pereira, pelo auxílio na identificação da espécie estudada.

Ao Professor Doutor Edson Ferreira Duarte, pelo apoio inestimável das sugestões valiosas no início do trabalho.

Ao Setor de Agricultura da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG, nas pessoas da Professora Doutora Magda Beatriz de Almeida Matteucci e do Técnico de Laboratório, Senhor Luis Mauro de Souza, pelo apoio e utilização de equipamentos e instalações.

Aos Professores Doutor Walter Alvarenga Rodrigues e Doutor Aristônio Magalhães Teles, do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pela solicitude do apoio

prestado e valiosas sugestões, sempre que solicitados.

À Professora Maria Tereza Faria, do Laboratório de Anatomia Vegetal, do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pela dedicação no auxílio da identificação dos processos propagativos e pela consideração e otimismo.

À Professora Doutora Maria Nazaré Stevaux, do Laboratório de Biogeografia e ao Senhor Max Vinícius Malmann Medeiros, do projeto FaunaCo, ambos do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pelo apoio em sugestões relevantes.

Ao Senhor Max Well de Oliveira Rabelo, da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG e ao Senhor Paulo Roberto Faria, do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pelas dicas de uso do GPS e de aplicativos computacionais relacionados.

Ao Professor Doutor Heleno Dias Ferreira, do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pelo auxílio prestado na descrição morfológica da espécie estudada, apoio de indispensável valia.

Ao Professor Doutor Benedito Baptista dos Santos, pelo auxílio na identificação dos insetos e a sua aluna Marília Porfírio Gualberto, pela identificação das formigas.

Aos amigos Fernanda Hiromi Sumihara Maeshima e Rangel Luiz de Carvalho (*in memoriam*), pelo auxílio, amizade e companheirismo.

Aos Professores Doutor Wilson Mozena Leandro e Doutor Lázaro José Chaves, da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG e Professora Lee Chen Chen, do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pelo auxílio e sugestões nas análises estatísticas.

À Professora Valéria Cristina Guimarães Rabelo, pelo precioso auxílio prestado e pela amizade constante.

Aos colegas Fábio José Gonçalves e Camila de Marilac Costa Nunes, pelos bons momentos vividos juntos, compartilhando sala de aula, laboratório e campo.

A SIMEHGO/SECTEC-GO e seus funcionários, nas pessoas da Senhora Rosidalva Lopes Feitosa da Paz e Senhor André Oliveira Amorim, pela cessão dos dados meteorológicos.

Ao Senhor Juliano Queiroz Santana Rosa, monitor em Ciência do Solo da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG, pelo auxílio na interpretação das análises de solo.

Ao Senhor Vinícius Yano Correa, pelo auxílio e inestimável apoio.

À professora Alessandra de Santana Braga Barbosa Ribeiro e Doutora Elisângela de Paula Silveira Lacerda, do Laboratório de Genética Molecular e Citogenética, do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, pelo auxílio e apoio inestimáveis.

A todos aqueles, que por um lapso não foram citados, mas que, com certeza contribuíram, de forma direta ou indireta, para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS.....	13
RESUMO GERAL	14
GENERAL ABSTRACT.....	16
1 INTRODUÇÃO GERAL	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 BROMÉLIAS	20
2.1.1 A família Bromeliaceae	20
2.1.2 Bromélias no Cerrado	21
2.1.3 A espécie <i>Bromelia reversacantha</i> Mez	22
2.2 O BIOMA CERRADO.....	23
2.2.1 Área e ocupação	23
2.2.2 Tipos fitofisionômicos.....	24
2.2.3 Classes de solos	24
2.2.4 Clima.....	25
2.2.5 Biodiversidade e conservação	25
2.3 GERMINAÇÃO DE SEMENTES	27
2.3.1 Fatores que influenciam a germinação de sementes	27
2.3.2 Análises de germinação e vigor de sementes	28
2.4 PROPAGAÇÃO <i>IN VITRO</i>	29
2.4.1 Histórico	29
2.4.2 Os hormônios vegetais.....	30
2.4.3 Aspectos gerais.....	31
3 ASPECTOS FENOLÓGICOS DE <i>Bromelia reversacantha</i> MEZ (BROMELIACEAE)	33
RESUMO	33
ABSTRACT	34
3.1 INTRODUÇÃO.....	Erro! Indicador não definido.
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.2.1 Local da população estudada	37

3.2.2	Descrição da espécie	41
3.2.3	Fenologia da fase vegetativa	42
3.2.4	Fenologia da fase reprodutiva	43
3.2.5	Germinação de sementes.....	45
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.3.1	Local da população estudada	46
3.3.2	Descrição da espécie	48
3.3.3	Fenologia da fase vegetativa	50
3.3.4	Fenologia da fase reprodutiva	55
3.3.5	Germinação de sementes.....	58
3.4	CONCLUSÕES	59
4	CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE <i>Bromelia reversacantha</i> MEZ (BROMELIACEAE)	61
	RESUMO	61
	ABSTRACT	62
4.1	INTRODUÇÃO.....	63
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	64
4.2.1	Multiplicação com ANA.....	65
4.2.2	Multiplicação com BAP e ANA	66
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.3.1	Multiplicação com ANA.....	68
4.3.2	Multiplicação com BAP e ANA	71
4.4	CONCLUSÕES	74
5	CONCLUSÕES GERAIS	76
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Datas das doze avaliações fenológicas (DA) de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez, números de dias decorridos entre avaliações (DD) e meses de referência (MR).	42
Tabela 3.2. Atributos físicos e químicos ⁽¹⁾ do solo amostrado, em novembro de 2008, em oito sub-áreas com população natural de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez, na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, Brasil.....	47
Tabela 3.3. Correlação simples de Pearson entre as variáveis avaliadas, em duas populações de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez, e os dados de precipitação pluvial (PP) e médias mensais da temperatura do ar máxima (Tmax) e mínima (Tmin), da Estação Meteorológica de Itaberaí, Goiás, Brasil, relativas aos meses de outubro de 2007 a agosto de 2008.	52
Tabela 3.4. Média, desvio padrão e amplitude de variáveis avaliadas em oitenta plantas de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez, localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	53
Tabela 3.5. Efeito da luz sobre o percentual de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes médias e teor de matéria fresca (MF) e seca (MS) de plântulas de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez, em ambiente controlado, sob temperatura constante de 30°C ± 2. ⁽¹⁾ Goiânia, UFG, 2008.	59
<u>Tabela 4.1.</u> <u>Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de plantas (desenvolvidas e brotações jovens) sob cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez, ao final de cada subcultivo ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.</u>	69
<u>Tabela 4.2.</u> <u>Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de brotos jovens (NB), número de plantas aptas à aclimatização (NP) e massa de matéria fresca acumulada por repetição (MF), após 315 dias de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.</u>	69
<u>Tabela 4.3.</u> <u>Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de plantas com comprimento da parte aérea de 16–30 mm (PP), de 31–60 mm (PM) e acima de 60 mm (PG) e número de plantas com uma folha (1F), duas a três folhas (2–3F) e acima de três folhas (4F), aos 315 dias de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.</u>	70
<u>Tabela 4.4.</u> <u>Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de plantas com comprimento da maior raiz até 5 mm (RC), de 6–20 mm (RM) e maiores que 21 mm (RL) e número de plantas com uma raiz (1R), duas a três raízes (2–3R) e acima de três raízes (4R), aos 315 dias de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.</u>	70

<u>Tabela 4.5.</u> <u>Efeito de diferentes combinações de ANA e BAPno número de gemas adventícias, brotos e plantas regeneradas, aos 260 dias de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez ⁽¹⁾.UFG, Goiânia, 2009.</u>	73
---	----

<u>Tabela 4.6.</u> <u>Efeito de diferentes combinações ANA e BAPno número de plantas com comprimento de 16-30 mm (PP), 31-60 mm (PM) e acima de 60 mm (PG) e com uma folha (1F), duas a três folhas (2-3F) e acima de três folhas (4F), aos 260 dias de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bromelia reversacantha</i> Mez ⁽¹⁾.UFG, Goiânia, 2009.</u>	74
--	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1.** Localização da área de estudo. A) Mapa de Goiás (mesorregiões), destacando os municípios de Mossâmedes, Goiás, Itaberaí e Goiânia. (adaptado de Wikipédia, 2009); B) Localização da Reserva e da Serra Dourada (terreno) (adaptado de GoogleMaps: Dados Cartográficos ©2009)..... 38
- Figura 3.2.** Mapa de localização das áreas e sub-áreas amostradas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes-GO, de setembro de 2007 a agosto de 2008. 39
- Figura 3.3.** Dados climáticos de setembro de 2007 a agosto de 2008, obtidos da Estação Meteorológica de Itaberaí. a: temperatura do ar (máxima, média e mínima); b: umidade relativa do ar (máxima, média e mínima); c: precipitação mensal (mês de dezembro: média de oito anos). 41
- Figura 3.4.** *Bromelia reversacantha* Mez. Padrão para contagem de folhas: A: primeira folha contada – extremidade livre da folha subsequente (seta); B: folha não contada (seta)..... 43
- Figura 3.5.** *Bromelia reversacantha* Mez. A: Habitat; B: Inflorescência; C: Folha; D: Címula; E: Bráctea primária; F: Bráctea floral; G: Flor; H: Pétalas com verticilos florais; I: Ovário (corte transversal); J: Infrutescência; K: Semente; *fî*: face interna; *fe*: face externa; *pe*: pétala; *se*: sépala; *bf*: bráctea floral. 49
- Figura 3.6.** *Bromelia reversacantha* Mez. A: Brácteas do escapo (be); B: Brácteas primárias (bp); C: Diferença entre brácteas (be x bp), evidenciada pela ausência ou presença de flores na base; D: Flores não subtendidas por brácteas primárias (fa). (*ba*: bainha; *bf*: bráctea floral; *bs*: basal; *di*: distal; *la*: lâmina; *me*: mediana). 50
- Figura 3.7.** Comportamento de *Bromelia reversacantha* Mez, expresso pelas médias das variáveis de crescimento (A, B, C, D e E), em duas áreas localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, nos meses de setembro de 2007 a agosto de 2008. 52
- Figura 3.8.** Número de brotações laterais e brotações mortas em oitenta plantas de *Bromelia reversacantha* Mez, localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes-GO, de outubro de 2007 a agosto de 2008. 55
- Figura 3.9.** Flor de *Bromelia reversacantha* Mez e verticilos reprodutivos. a) aspecto geral das flores; b) posição do estigma em relação às anteras (seta); c) detalhe da deiscência da antera..... 56

- Figura 4.1.** Plântulas de *Bromelia reversacantha* Mez aos 175 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ de ANA. UFG, Goiânia, 2009. 69
- Figura 4.2.** Calos e gemas adventícias em explantes de *Bromelia reversacantha* Mez aos 150 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ BAP e 1 mg.L⁻¹ de ANA. UFG, Goiânia, 2009. 71
- Figura 4.3.** Cortes transversais de explantes de *Bromelia reversacantha* Mez, aos 150 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ BAP e 1 mg.L⁻¹ ANA. A) Vista geral (*pf*: primórdio foliar; *tr*: traqueídeos); B) Detalhe evidenciando células parenquimáticas com paredes delgadas (*cp*), células em divisão (*cd*) e idioblasto (*id*) com ráfide (*ra*). UFG, Goiânia, 2009. 72
- Figura 4.4.** Explantes de *Bromelia reversacantha* Mez, aos 150 dias de cultivo *in vitro*, sob diferentes concentrações de BAP e ANA, onde observam-se diferentes respostas dentro dos tratamentos. UFG, Goiânia, 2009. 72

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

°' - Coordenadas geográficas, em graus e minutos, respectivamente

– – variando entre

% – Porcentagem

± - Amplitude de variação

μL – Microlitro

°C – Grau Celsius

°Brix – Graus Brix

ANA – Ácido naftaleno acético

BAP – 6-benzilaminopurina

ca. – Cerca de

cm – Centímetro

CV – Coeficiente de variação

e.g. – Exemplo

g – Grama

g.L⁻¹ – Grama por litro

h – Hora

ha – Hectare

is – Índice de seleção

km² – quilômetro quadrado

L – Litro

m – Metro

m² – Metro quadrado

mg.L⁻¹ – Miligrama por litro

mL – Mililitro

mm – Milímetro

MS – Meio Murashige & Skoog (1962)

n – Número de amostragem

pH – Potencial hidrogeniônico

sp. – Espécie

W – Watt

RESUMO GERAL

AFIUNE-COSTA, L. V. **Aspectos fenológicos e cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez (Bromeliaceae)**. 2009. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas)-Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.¹

Bromelia reversacantha é uma espécie da família Bromeliaceae que ocorre em áreas de Cerrado Rupestre. Caracteriza-se por ser terrestre, crescendo sobre solos arenosos, em ambientes secos e à meia-sombra. Apresenta características ornamentais interessantes para o paisagismo, tais como folhas persistentes, inflorescência vistosa e duradoura. Porém, esta espécie, como tantas outras do bioma Cerrado, está ameaçada pela expansão das atividades agropastoris e pelo extrativismo predatório. O conhecimento sobre seus estádios fenológicos e dos fatores de crescimento e desenvolvimento sob condições *in vitro* e *ex situ* permitiria obter protocolos de cultivo, possibilitando ações de preservação e manejo de tais espécies. O presente trabalho teve como objetivos apresentar os aspectos do crescimento e desenvolvimento vegetativo e da fase reprodutiva de conjuntos de plantas localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, município de Mossâmedes, Goiás. Além disso, sementes coletadas na Reserva foram germinadas e serviram de fonte de explantes para a obtenção de protocolos de propagação *in vitro*. Os resultados das variáveis de crescimento analisadas indicaram que deficiência hídrica e temperaturas mais baixas não favorecem o desenvolvimento da planta. A propagação vegetativa, a partir de brotações laterais, foi observada em quase todos os meses. O período de floração apresentou média de 11,70 dias, com média de 4,84 flores abertas/dia. O néctar apresentou volume médio de 29,73 μL , com média de 34,25° Brix, atraindo diversos insetos e beija-flores. Não houve produção de frutos nas inflorescências submetidas à autopolinização espontânea. Porém, testes de geitogamia e polinização cruzada propiciaram a produção de frutos indicando que a espécie possivelmente seja alógama. Sementes de *B. reversacantha* apresentaram alto percentual de germinação, com média de 98,13%. Nos experimentos para propagação *in vitro*, o meio utilizado foi o MS, suplementado com 30 g.L^{-1} de sacarose e 0,1 g.L^{-1} de inositol e 6,0 g.L^{-1} de ágar, além do fitorregulador ANA em três tratamentos: T1: sem fitorregulador; T2: 1 mg.L^{-1} ; T3: 2 mg.L^{-1} (experimento 1). Após 315 dias em cultivo, o tratamento com 2 mg.L^{-1} de ANA promoveu maior taxa de multiplicação *in vitro* pela indução de gemas adventícias. No experimento 2, os tratamentos envolveram

¹ Orientador: Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov. EA/UFG.

combinações dos fitorreguladores BAP e ANA, em três tratamentos: T1: 2,0 mg.L⁻¹ de BAP, 0,0 mg.L⁻¹ de ANA; T2: 2,0 mg.L⁻¹ de BAP, 1 mg.L⁻¹ de ANA; T3: 2 mg.L⁻¹ de BAP, 2,0 mg.L⁻¹ de ANA. Após 260 dias em cultivo, a combinação de 2 mg.L⁻¹ de BAP com 1 mg.L⁻¹ de ANA promoveu maior taxa de multiplicação, via organogênese indireta. Estes resultados indicam que a produção *in vitro* de mudas é uma atividade viável e que pode produzir grande quantidade de mudas em pouco tempo.

Palavras-chave: bromélias, Cerrado, fenologia, propagação, paisagismo.

GENERAL ABSTRACT

AFIUNE-COSTA, L. V. **Phenological aspects and *in vitro* culture of *Bromelia reversacantha* Mez (Bromeliaceae).** 2009. 80f. Dissertation (Master in Agronomy: Genetic and Plant Breeding)–Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.¹

Bromelia reversacantha is a species of the Bromeliaceae family which occurs in areas of Cerrado Rupestre. It is characterized for being a terrestrial species, growing on sandy soils, in dry and semi-shade environment. It presents interesting ornamental characteristics for the landscape gardening, such as persistent leaves, showy and lasting inflorescence. However, this species, like so many of Cerrado, is threatened by the expansion of the agricultural activities in this bioma and by the predatory extration. The knowledge on phenologic stages and of growth factors and the development of these plants under *in vitro* and *ex situ* conditions would allow to get *in vitro* culture protocols, enabling actions of preservation and management of such species. The present work had as objective to present the aspects of the growth and vegetative development and the reproductive phase of sets of plants located in the Biological Reserve Prof. Jose Ângelo Rizzo, city of Mossamedes, Goiás state. Moreover, seeds collected in the Reserve had been germinated and served of source of explants for the attainment of *in vitro* propagation protocols. The results of the analyzed variable of growth had indicated that hidric deficiency and more cold temperatures do not favor the development of the plant. The vegetative propagation, by lateral shoots, was observed in almost every months. The flowering period presents a average of 11.70 days with an average of 4.84 open flowers per day. The nectar presented an average volume of 29.73 μL with average of 34.25° Brix, attracting diverse insects and hummingbirds. It did not have production of fruits in the inflorescences submitted to spontaneous self-pollination. However, tests of geitogamy and xenogamy had produced fruits indicating that the species is possibly allogamous. Seeds of *B. reversacantha* had presented high percentage of germination, with an average of 98.13%. In the experiments for *in vitro* propagation, the used culture medium was the MS, supplemented with 30 g.L^{-1} of sacarose and 0.1 g.L^{-1} of inositol and 6 g.L^{-1} of agar, beyond the growth-phytoregulator NAA in three treatments: T1: growth-phytoregulator free; T2: 1 mg.L^{-1} ; T3: 2 mg.L^{-1} (experiment 1). After 315 days in culture, the treatment with 2 mg.L^{-1}

¹ Advisor: Prof. Dr. Sérgio Tadeu SiBov. EA/UFG.

¹NAA promoted higher rate *in vitro* multiplication by the adventitious shoots induction. In the experiment 2, the treatments involved combinations of the growth-regulators BAP and NAA, in three treatments: T1: BAP 2 mg.L⁻¹ and NAA free; T2: BAP 2 mg.L⁻¹ and NAA 1 mg.L⁻¹; T3: BAP 2 mg.L⁻¹ and NAA 2 mg.L⁻¹. After 260 days in culture, the combination of BAP 2 mg.L⁻¹ with NAA 1 mg.L⁻¹ promoted higher rate of *in vitro* multiplication, by indirect organogenesis. These results indicate that the *in vitro* production of plantlets is a viable activity and that can produce great amount of plantlets in short time.

Key words: bromeliads, Cerrado, phenology, propagation, landscape gardening.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Várias espécies da família Bromeliaceae são importantes para o homem devido ao potencial de uso como planta medicinal, alimentar, ornamental ou para a produção de fibras. Essa família é tipicamente americana, exceção feita à espécie *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbr., que é encontrada na África (Leme & Marigo, 1993; Paula & Silva, 2004; Moreira et al., 2006). Com a descoberta das Américas, a primeira espécie da família explorada foi o abacaxi (*Annanas comosus*) que, despertando a atenção pelo seu sabor exótico, foi levado para a Europa, e por lá disseminado (Benzing, 1980).

Bromelia reversacantha é uma espécie da família Bromeliaceae descrita pela primeira vez na *Flora Brasiliensis* em 1891 (Mez, 1891) e que, segundo os dados disponíveis até o momento, ocorre em áreas de Cerrado Rupestre. Caracteriza-se por ser terrestre, comumente crescendo sobre solos arenosos, em ambientes secos e à meia-sombra. Apresenta características interessantes, tais como folhas persistentes, inflorescência vistosa e duradoura e porte interessante para uso no paisagismo, tanto em maciços como em vasos.

Das fitofisionomias encontradas no Cerrado, os Campos e Cerrados Rupestres, em altitudes superiores a 900 metros, são considerados os mais importantes quanto à ocorrência, distribuição e diversidade de espécies desta família (Giulietti et al., 1987; Leme & Marigo, 1993). Além disso, o índice de endemismo é também elevado (Leme & Marigo, 1993).

O Cerrado é um bioma que se encontra distribuído em 24% do território brasileiro e, devido às características de seu solo e relevo, tornou-se capaz de gerar riquezas através da expansão das atividades agropastoris e da geração de produtos, em quantidade e qualidade adequadas às necessidades e exigências do mercado, como por exemplo, a soja (Ribeiro & Rodrigues, 2006). Todavia, para que o Cerrado atingisse o atual potencial, grande parte de suas áreas foi agredida e degradada pelos desmatamentos e pelo aumento da frequência dos incêndios no período da seca, fazendo com que diversos recursos genéticos que poderiam ser conservados, explorados ou até mesmo

melhorados, encontrem-se hoje em populações fragmentadas ou ameaçados de extinção (Clement, 2001).

Além da degradação do ambiente, a coleta inadequada dessas espécies, ou a simples supressão de muitos de seus indivíduos na natureza, perturba a biodiversidade do Cerrado, empobrecendo-o de forma gradativa, podendo chegar ao ponto de ser representado por poucas espécies de menor ou nenhum interesse comercial. Isto vem sendo motivo de discussão há bastante tempo, sem, no entanto, existirem estudos mais aprofundados e ações mais específicas de preservação destas espécies. Corre-se o risco de extinção de espécies endêmicas, mesmo antes de serem conhecidas (Costa et al., 1988; Mendonça et al., 2008; Reatto et al., 2008).

O conhecimento sobre o comportamento destas espécies na natureza poderia contribuir para a realização de intervenções mais seguras, assim como o conhecimento dos fatores de crescimento e desenvolvimento sob condições *in vitro* e *ex situ*, permitiria obter protocolos de cultivo, possibilitando a introdução de novas espécies de valor econômico e ornamental no mercado e, ainda, a recomposição de áreas degradadas.

Nas bromélias, a propagação clonal por divisão natural de brotações laterais é de baixa frequência, originando poucos afilhos/planta/ano. Já, a propagação por meio da cultura de tecidos apresenta muitas vantagens, proporcionando maior rapidez regenerativa em relação a outros métodos de propagação vegetativa convencionalmente utilizados, facilitando a propagação de materiais em que as tecnologias convencionais são difíceis ou até mesmo impossíveis de serem realizadas (George & Debergh, 2008).

Em função da preocupação com a preservação de *B. reversacantha* em seu *habitat* natural, do potencial ornamental e comercial desta espécie e da possibilidade de propagação em maior escala, evitando-se assim o extrativismo predatório, e, com vistas a futuro programa de melhoramento da espécie, este trabalho objetivou a sua caracterização fenológica, morfológica e reprodutiva e o estabelecimento de protocolos para a sua propagação *in vitro*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BROMÉLIAS

2.1.1 A família Bromeliaceae

A família Bromeliaceae constitui-se de um grupo natural dentro das monocotiledôneas, situada na ordem Poales (APG II, 2003). É considerada a maior família defanerógamas de distribuição neotropical (Gilmartin, 1973). De acordo com Leme & Marigo (1993), as espécies da família habitam praticamente todos os ecossistemas compreendidos entre a região da Virgínia e Texas (latitude 37° N) e a região central da Argentina e Chile (latitude 44° S). Ocorrem desde o nível do mar até altitudes de mais de 4.000 metros, habitam desde locais úmidos até desérticos e resistem a grandes amplitudes de temperaturas. A única exceção do padrão de distribuição americano é feita à espécie *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbr., que ocorre na Guiné, na África (Smith & Downs, 1974; Leme & Marigo, 1993).

As espécies da família Bromeliaceae podem ser plantas epífitas, terrestres ou rupículas; folhas alongadas, espiraladas, paralelinérveas, frequentemente formando densas rosetas, margens lisas ou com espinhos, geralmente recobertas por minúsculas escamas peltadas, bainhas foliares alargadas, densamente imbricadas na base; caule geralmente curto, envolto pelas bainhas foliares. Inflorescência cimosa ou racemosa, em geral com brácteas vistosas; flores normalmente hermafroditas, actinomorfas, ou, raramente ligeiramente zigomorfas, diclamídeas e heteroclamídeas; cálice trímero, dialissépalo ou gamossépalo, prefloração imbricada; corola trímera, dialipétala ou gamopétala, prefloração imbricada; estames 6, livres ou unidos entre si ou à corola; anteras rimosas, bitecas, deiscência longitudinal; gineceu gamocarpelar, estigma trifurcado; ovário súpero ou ínfero, trilocular; nectários septais geralmente presentes. Fruto tipo cápsula ou baga, às vezes formando sincarpo (Joly, 1979; Leme & Marigo, 1993; Souza & Lorenzi, 2008).

Tradicionalmente encontra-se dividida em três subfamílias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae (Smith & Downs, 1974, 1977, 1979; Moreira et al., 2006),

considerando-se os caracteres florais e morfologia de frutos e sementes. Conforme Leme & Marigo (1993), essas características são mais estáveis e determinam os graus mais primitivos ou evoluídos dos entes taxonômicos envolvidos.

A maioria das espécies da subfamília Pitcairnioideae é terrestre, apresentando ovário geralmente súpero e frutos secos, tipo cápsula deiscente. Possuem sementes nuas com apêndices não plumosos. As margens das folhas geralmente têm espinhos (Smith & Downs, 1974). As espécies da subfamília Tillandisioideae são essencialmente epífitas, exceto as do gênero *Alcantarea*, que são todas saxícolas. O ovário geralmente é súpero e o fruto é seco, tipo cápsula deiscente, com sementes plumosas. As margens das folhas são desprovidas de espinhos (Smith & Downs, 1977). As espécies da subfamília Bromelioideae são epífitas ou terrestres. O ovário é ínfero e o fruto, em forma de baga, contém sementes sem apêndices. As margens das folhas, em quase todas as espécies, apresentam espinhos (Smith & Downs, 1979). Dentre as três subfamílias, Bromelioideae possui maior diversidade morfológica, e possivelmente maior variabilidade genética, o que se reflete na inclusão de mais da metade dos gêneros nesta subfamília (Benzing, 1994).

Atualmente, a família Bromeliaceae está composta por 3.172 espécies distribuídas em 58 gêneros e 2 notogêneros (Luther, 2008). Contudo, como resultado de pesquisas e novos conhecimentos, esses números modificam-se constantemente devido a alterações dos limites conceituados para os gêneros, revalidações e sinonimizações (Leme & Marigo, 1993) e, principalmente pela inclusão de novas espécies (e.g. Luther, 2007; Versieux & Leme, 2007; Louzada & Wanderley, 2008; Ramírez-Morillo, 2008; Amorim & Leme, 2009).

A principal importância econômica na família é representada pelo abacaxi, *Ananas comosus* (L.) Merr., cuja produção brasileira em 2008 foi de 1,6 bilhão de frutos, cultivados em 80,6 mil hectares (IBGE, 2009). Outra importância relevante e crescente encontra-se no mercado florístico, destacando-se várias espécies com potencial ornamental. Os gêneros mais cultivados para esse fim, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, são *Aechmea*, *Alcantarea*, *Ananas*, *Cryptanthus*, *Guzmania*, *Neoregelia*, *Nidularium*, *Tillandsia* e *Vriesia* (Andrade & Demattê, 1999).

2.1.2 Bromélias no Cerrado

Segundo Carneiro (2002), as espécies nativas do Cerrado, das mais variadas famílias, têm sido pouco aproveitadas para ornamentação, sendo preteridas em função das exóticas. As bromélias desse bioma praticamente não são utilizadas na ornamentação de jardins e decoração de interiores. Em levantamento efetuado por essa autora, em trinta áreas de um hectare cada, distribuídas em dezenove municípios do Estado de Goiás, foi observada a ocorrência de dezenove espécies de bromélias, das quais seis são do gênero *Bromelia*. Foi observada uma espécie com hábito de crescimento epifítico, quinze terrestres e três apresentaram hábitos mistos, sendo uma terrestre, rupícola e saxícola e duas epífitas, rupícolas e saxícolas.

Miranda (2001) efetuou um levantamento na literatura e nos herbários sobre a flora Bromeliaceae que ocorre no Cerrado. Este trabalho resultou em uma relação de 190 espécies, sendo 17 do gênero *Bromelia*. Contudo, aponta para a dificuldade de se identificar as espécies que efetivamente compõem a diversidade florística desse bioma. Nas floras especializadas no Cerrado, a família aparece de forma incipiente, aquém da diversidade registrada na literatura taxonômica e, na literatura geral, as espécies aparecem de forma dispersa e não específica, com quantidade exígua de termos que podem efetivamente promover a sua associação ao bioma. Isto porque a família compartilha muitas espécies com outros ecossistemas. Além disso, a literatura consultada demonstrou que apenas 50% dos Estados têm sua flora Bromeliaceae levantada. Mais recentemente, Mendonça et al. (2008) apresentaram um *checklist* com 12.356 espécies da flora ocorrente no Cerrado, das quais 223 são dessa família.

O amplo conhecimento da flora do Cerrado é importante para delinear estratégias governamentais para preservação de áreas representativas desse bioma que devem ser priorizadas para conservação e manejo racional, pois muitas de suas tipologias são endêmicas da América do Sul e do Brasil (Mendonça et al., 2008).

2.1.3 *Bromelia reversacantha* Mez

B.reversacantha foi descrita pela primeira vez em 1891, por Carl Christian Mez, na obra de Carolus Fredericus Philippus de Martius, Augustus Guilielmus Eichler e Ignatius Urban, intitulada *Flora Brasiliensis* (Mez, 1891). Posteriormente, sua descrição foi publicada por Lyman Bradford Smith e Robert Jack Downs em outra grande obra,

destinada ao inventário publicado das plantas dos trópicos do Novo Mundo, a Flora Neotrópica, na monografia número 14, parte 3, como se segue:

“Folhas (internas) não estreitadas entre a bainha e o limbo foliar; bainha alongada, estreitamente lanceolada, densamente serreada, densamente branco-tomentosa; limbo linear, atenuado, sub-densamente serreado com espinhos curvados e finos, com 1-1,5 mm de comprimento. Escapo floral evidente, robusto, branco-tomentoso; brácteas do escapo floral semelhantes às folhas internas, densamente imbricadas. Inflorescência densamente paniculada, sub-globosa, muitas flores, 14 cm de comprimento; brácteas primárias semelhantes às brácteas do escapo floral mas, com ausência de limbo, levemente tomentosas próximo do ápice; ramificações com 6 flores, frouxamente racemosas. Brácteas florais ovais-lanceoladas, agudas e obliquamente “emarginadas”, envolvendo igualmente o ovário, 15-20 mm de comprimento, pálidas, sub-glabras, fortemente carinadas; flores com 25-30 mm de comprimento, curto-pediceladas. Sépalas sub-eretas, livres, sub-ovadas-lanceoladas, estreitadas a partir da base até o ápice, sub-agudas, 11 mm de comprimento, carinadas, curvadas, levemente tomentosas; pétalas estreitamente lanceoladas, agudas, 15 mm de comprimento, ligadas por 3 mm, espessas, glabras; estames presentes; ovário finamente cilíndrico, densamente branco-tomentoso” (Smith & Downs, 1979).

Embora há indícios de endemismo, a literatura consultada não cita a distribuição da espécie, indicando apenas Rio Bagagem, em Goiás (Smith & Downs, 1979) e no Brasil (Mez, 1891; Smith & Downs, 1979) como a localização da espécie tipo coletada.

2.2 O BIOMA CERRADO

2.2.1 Área e ocupação

De acordo com IBGE (2004), o Cerrado, segundo maior bioma brasileiro, ocupa área aproximada de 2.036.000 Km², correspondente a 23,92% do território nacional. Ocorre em doze unidades da Federação, com os seguintes percentuais de suas áreas: Distrito Federal 100%, Goiás 97%, Tocantins 91%, Maranhão 65%, Mato Grosso do Sul 61%, Minas Gerais 57%, Mato Grosso 39%, Piauí 37%, São Paulo 32%, Bahia 27%, Paraná 2% e Rondônia 0,2%.

2.2.2 Tipos fitofisionômicos

Ribeiro & Walter (2008) descrevem onze tipos fitofisionômicos gerais enquadrados em três categorias: formações florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão), formações savânicas (Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda) e formações campestres (Campo Sujo, Campo Limpo e Campo Rupestre).

Ainda de acordo com esses autores, o Cerrado Rupestre é um subtipo de vegetação arbóreo-arbustiva do Cerrado sentido restrito, que ocorre em ambientes rupestres. Com cobertura arbórea de 5% a 20%, atingindo em média de 2 m a 4m de altura e extrato arbustivo-herbáceo também destacado, pode ocorrer em trechos contínuos, mas geralmente aparece em mosaicos, incluído em outros tipos de vegetação. Indivíduos arbóreos, em densidade variável, concentram-se em fendas de rochas. Nessa fitofisionomia destacam-se espécies das famílias Asteraceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Eriocaulaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Rubiaceae, Velloziaceae, dentre outras.

2.2.3 Solos

Os solos do Cerrado apresentam fertilidade em geral muito baixa devido à intensa meteorização que prevaleceu durante sua formação, com dessilificação e lixiviação de nutrientes, juntamente com a remoção de minerais primários. Apresentam baixa saturação por bases, alta acidez acompanhada de elevada saturação por alumínio e manganês trocáveis (Malavolta & Kliemann, 1985).

Com base, principalmente, em suas características morfológicas, físicas e químicas é determinada a classe de um solo. Dessa forma, Reatto et al. (2008), apresentaram as principais classes de solos do bioma Cerrado assim distribuídas: Latossolo Vermelho-Amarelo 24,56%, Latossolo Vermelho 22,10%, Neossolo Quartzarênico 14,56%, Argissolo-Vermelho-Amarelo 7,20%, Neossolo Litólico 7,49%, Argissolo Vermelho 6,46%, Plintossolo Háplico 5,41%, Cambissolo 3,47%, Plintossolo Pétrico 2,91%, Gleissolo Háplico 1,41%, Nitossolo Vermelho 1,43 %, Latossolo Amarelo 2,00%, Gleissolo Melânico 0,20%, Chernossolo 0,08%, Planossolo 0,27%, Neossolo Flúvico 0,07% e Organossolo Mésico ou Háplico 0,01%.

2.2.4 Clima

De acordo com Silva et al. (2008), o clima do bioma, em quase toda sua extensão, é megatérmico ou tropical úmido, com o subtipo clima de savana, com inverno seco e chuvas máximas de verão, classificado como Aw pela classificação de Köppen. Grande parte desse bioma apresenta duas estações bem definidas: uma chuvosa, com início entre os meses de setembro e outubro e se estende até março e abril, com maior índice de precipitação nos meses de novembro a janeiro; e outra estação seca, com redução drástica da ocorrência de chuvas, com início entre os meses de abril e maio e estende-se até parte dos meses de setembro e outubro, registrando assim, de cinco a seis meses de deficiência hídrica climática. A distribuição do regime pluvial da estação chuvosa apresenta alta heterogeneidade espacial, com menores classes de precipitação na franja limítrofe com a Região Semi-Árida. A média anual de precipitação pode variar de 400-600mm até 2000-2200mm, à medida que se avança de leste para oeste. As temperaturas também apresentam variação espacial, observando-se aumento relativo no sentido sul-norte do bioma. Nos estados de Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul, as médias das temperaturas máximas variam entre 24°C e 36°C durante a primavera e verão e, no inverno, as médias das máximas variam de 20°C a 21°C. As médias das temperaturas mínimas, durante o verão, variam de 16°C a 20°C na maior parte do Cerrado e, durante o inverno, a temperatura cai significativamente para valores entre 8°C a 15°C, nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso.

A umidade relativa do ar, em mais de 90% do bioma, apresenta média anual entre 60% e 80%. Nos meses mais chuvosos, varia de 60% a 90%, com índices mais elevados ocorrendo nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, e no sul de Goiás e de Minas Gerais; enquanto nos meses mais secos há decréscimo significativo. Em agosto e setembro, os valores médios oscilam entre 40% e 60% no Distrito Federal e em partes dos estados de Goiás, Minas Gerais, Bahia e Piauí. Vale ressaltar que, nessa época do ano, mesmo que por poucas horas, a umidade relativa do ar atinge níveis muito baixos, entre 9% e 11% (Silva et al., 2008).

2.2.5 Biodiversidade e conservação

De acordo com Resende & Guimarães (2007), para o bioma Cerrado foram listados 13.171 táxons e 12.356 espécies de plantas, cuja riqueza florística ultrapassa em

muito as compilações pré-existentes. Número idêntico de espécies também foi listado por Mendonça et al. (2008).

Segundo Machado et al. (2004), a grande diversidade de espécies de animais e plantas do Cerrado está associada à diversidade de ambientes, que variam significativamente no sentido horizontal, podendo ocorrer ambientes diferentes em uma mesma região. Assim, espécies de animais e plantas apresentam grande associação com os ecossistemas locais, podendo ocorrer várias espécies muito ligadas aos ambientes naturais. Por isso, a importância de se manter o mosaico de vegetação natural do Cerrado como estratégia básica para garantir diversidade biológica expressiva. A biodiversidade do Cerrado possui significativo número de endemismos para vários grupos de animais e plantas. O nível de endemismo entre as plantas herbáceas pode chegar a mais de 70%, como é o caso das espécies da família Velloziaceae associadas aos campos rupestres (Filgueiras, 2002).

Machado et al. (2004) calcularam que a área desmatada para o Cerrado até o ano de 2002 era de 54,9% da área original (cerca de 1,58 milhões de hectares), ressaltando que as áreas com os mais expressivos blocos de vegetação nativa correspondiam a locais onde as características do terreno representavam um impeditivo à implantação de grandes projetos, tais como a Serra do Espinhaço no centro-leste do estado de Minas Gerais, a Serra da Mesa em Goiás e norte do Distrito Federal e a região da Ilha do Bananal na planície do rio Araguaia; ou a locais onde existiam boas condições de ampliação das áreas de agricultura, mas faltava infra-estrutura básica, como no oeste do estado da Bahia e sul dos estados do Piauí e Maranhão. Estes autores estimaram perda anual média de 1,1% das áreas de Cerrado, ou 2,2 milhões de hectares, com base nos próprios levantamentos e em outros trabalhos relacionados à cobertura vegetal nativa.

Em função dessa grande biodiversidade e da grande e crescente antropização, o Cerrado foi reconhecido internacionalmente como um dos 25 *hotspots* para conservação (Mittermeier et al., 1999). A Conservação Internacional, organização privada sem fins lucrativos, dedicada à conservação e utilização sustentada da biodiversidade, adotou o conceito de *Hotspot* em 1989, fazendo modificações e acréscimos ao longo dos anos seguintes. Qualifica-se como *Hotspot* uma região que abrigue no mínimo 1.500 espécies de plantas vasculares endêmicas e tenha 30% ou menos da sua vegetação original mantida (Mittermeier et al., 2004).

2.3 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

2.3.1 Fatores que influenciam a germinação de sementes

De acordo com Popinigis (1985), a disponibilidade de água é a primeira condição para a germinação de semente viável e não dormente. O aumento do seu grau de hidratação proporciona o aumento das atividades respiratórias a um nível capaz de sustentar o crescimento do embrião, com fornecimento suficiente de energia e de substâncias orgânicas. Com a embebição, a semente aumenta seu tamanho e há liberação de calor, por se tratar de processo exotérmico. A velocidade de embebição é variável entre as espécies e entre as diferentes partes das sementes, condicionada por vários fatores. O eixo embrionário absorve água mais rapidamente e de forma contínua, devido ao alongamento e multiplicação celular. Entre as espécies observam-se diferenças quanto ao volume do embrião e do eixo embrionário em relação ao tamanho total da semente. A permeabilidade do tegumento é regulada por sua estrutura ou devido a impregnações presentes nas paredes celulares (lignina, gordura, suberina ou tanino). Dentro de determinados limites, a elevação da temperatura da água aumenta sua energia resultando em aumento da sua pressão de difusão dentro da semente. Além disso, o consequente aumento das atividades metabólicas causa mais rápida utilização da água no interior da semente, reduzindo a pressão de difusão interna, propiciando aceleração da velocidade de embebição. Outros fatores, como pressão hidrostática, área de contato da semente com a água, forças intermoleculares, composição química e condições fisiológicas, também exercem influência na velocidade de embebição da semente.

Ferreira & Borghetti (2004), reportando a Bewley & Black (1994), apresentam a embebição dividida em três fases. A primeira é rápida, dirigida sobretudo, pelo potencial matricial da semente seca, até que todas as matrizes atinjam a hidratação plena, quando se inicia a segunda fase. O potencial osmótico, então, se torna a força que faz a água continuar se movendo para dentro da semente até que seja balanceada pelo turgor. Nessa fase, conhecida como intervalo de preparação e ativação metabólica, o conteúdo de água da semente é constante ou aumenta pouco e muito lentamente e são ativados os processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião. Até esta etapa, a germinação pode ser interrompida sem prejuízo. A terceira é marcada por aumento no seu conteúdo de água, devido à iniciação do crescimento do embrião, pela divisão celular e alongamento embrionário.

A temperatura afeta as diversas fases do complexo processo da germinação (Popinigis, 1985). Conforme Brasil (1992), a faixa de temperatura em que essa ocorre é variável para cada espécie, sendo identificados três pontos críticos, denominados “temperaturas cardinais de germinação”. A temperatura mínima é aquela abaixo da qual não há germinação visível, em período razoável de tempo; a temperatura máxima é aquela acima da qual não há germinação; e, a temperatura ótima é a que apresenta maior índice de germinação em menor período de tempo. Há, ainda, que se considerar que algumas espécies necessitam de temperaturas alternadas e, nesse caso, a temperatura menor deve permanecer por 16 horas diárias, período noturno. Porém, de acordo com Popinigis (1985), os valores das temperaturas cardinais variam de acordo com a duração do teste, quando de sua determinação, ou podem ser profundamente influenciados pela condição fisiológica da semente. Sementes recém colhidas, ainda com dormência residual, têm a temperatura ótima maior ou menor e aumento da amplitude entre as temperaturas máxima e mínima. A deterioração da semente aumenta a especificidade da temperatura e diminui a amplitude entre os limites máximo e mínimo.

2.3.2 Análises de germinação e vigor de sementes

As regras para análises de sementes (RAS), apresentadas por Brasil (1992), têm por objetivo padronizar os testes de germinação para que possam ser reproduzidos e comparados, dentro de limites por elas tolerados. Para isso, os testes são efetuados sob condições controladas. A percentagem de germinação de sementes corresponde à percentagem de plântulas normais obtidas sob condições e limites de tempo especificados. São consideradas plântulas normais aquelas que apresentam todas as estruturas essenciais para continuar seu desenvolvimento até tornarem-se plantas normais, apresentando sistema radicular e estrutura aérea bem desenvolvidos. Nos testes de germinação, geralmente são utilizados papel mata-borrão ou papel de filtro como substrato, embora também possam ser usados de pano, areia ou solo, todos de boa qualidade, isentos de impurezas e contaminantes. Os equipamentos utilizados para os testes podem ser do tipo germinador de câmara ou de sala, dotados de sistema de controle de temperatura e iluminação e, a umidade do ar é assegurada pelo uso de água destilada mantida em nível adequado dentro do germinador. A semeadura deve ser feita em espaçamento uniforme e suficiente para minimizar a competição e a contaminação entre as sementes e plântulas. Sempre que

possível, deve-se evitar a adição subsequente de água, para evitar variações entre as repetições e entre os testes. Entretanto, devem-se tomar precauções para garantir umidade suficiente durante todo o teste.

De acordo com Popinigis (1985), os testes para avaliar o vigor das sementes podem ser diretos ou indiretos. Os testes diretos simulam as condições adversas que a semente provavelmente encontrará no campo, contudo, apresentam a dificuldade de padronização como principal desvantagem. Dentre os mais usados estão: teste de frio, velocidade de emergência no campo, população inicial, e massa da matéria verde e seca das plântulas. Os testes indiretos medem determinados atributos fisiológicos da semente. Encontram-se agrupados em três classes, sendo mais utilizados os seguintes: bioquímicos (respiração, descarboxilase do ácido glutâmico, tetrazólio, condutividade elétrica e teor de ácidos graxos); fisiológicos (primeira contagem, velocidade de germinação, crescimento da raiz, crescimento da plântula e transferência de matéria seca) e de resistência (germinação à baixa temperatura, imersão em água quente, teste de submersão, imersão em soluções osmóticas, imersão em soluções tóxicas, teste de exaustão, teste de envelhecimento precoce e camada de resistência).

2.4 PROPAGAÇÃO *IN VITRO*

2.4.1 Histórico

Uma retrospectiva apresentada por Torres et al. (1998), mostra que, desde os primeiros trabalhos de Haberlandt, em 1902, com células de tecidos somáticos, etapas importantes se interagiram, descortinando horizontes e dando grande contribuição à área de cultura de tecidos e ao estudo da fisiologia do crescimento e desenvolvimento de plantas. Dentre essas etapas, foram relevantes e bastante diversificados os estudos voltados à composição orgânica e inorgânica dos meios de cultura. Porém, foi imprescindível a descoberta dos hormônios vegetais, com a identificação do primeiro fitormônio, a auxina ácido indolacético, e a descoberta da primeira citocinina, a cinetina. Vários outros estudos foram efetuados no desenvolvimento de técnicas de cultivo *in vitro*, como: cultivo de embriões, recuperação de plantas livres de vírus e viróides, embriogênese somática, polinização *in vitro*, alteração de ploidia, produção de híbridos somáticos, transformação genética de plantas, dentre outras.

2.4.2 Os hormônios vegetais

De acordo com Raven et al. (2001), numerosos fatores internos e externos se interagem para o desenvolvimento e crescimento das plantas. Os fatores externos compreendem luz, temperatura, disponibilidade de água, nutrientes minerais e dióxido de carbono. Os fatores internos referem-se a substâncias sintetizadas dentro das células e tecidos vegetais. Os hormônios vegetais ou fitormônios são substâncias orgânicas que funcionam como sinais químicos altamente específicos entre as células e estão envolvidos virtualmente em cada aspecto do crescimento e desenvolvimento vegetal. Ativos em quantidades muito pequenas, alguns hormônios agem dentro do próprio tecido onde são formados, enquanto outros são transportados para outros tecidos, onde produzem respostas fisiológicas específicas. Esses reguladores químicos podem produzir respostas diferentes em diferentes tecidos ou em diferentes fases de seu desenvolvimento. Dentre diversos compostos que sinalizam quimicamente, os cinco grupos de hormônios que têm recebido maior atenção são: auxinas, citocininas, etileno, ácido abscísico e giberelinas.

A principal auxina é o ácido indol-3-acético (AIA), ou simplesmente ácido indolacético, sendo a de ocorrência natural mais abundante e fisiologicamente relevante. Sua biossíntese ocorre primariamente em ápices caulinares e primórdios foliares, bem como em flores, frutos e sementes em desenvolvimento (Raven et al., 2001; Taiz & Zeiger, 2004). A auxina participa na diferenciação de tecidos vasculares, exerce papel na dominância apical e induz a formação de raízes adventícias e desenvolvimento de frutos (Raven et al., 2001).

A primeira citocinina de ocorrência natural descoberta foi a zeatina, a mais ativa e abundante nos vegetais. Porém, a cinetina, que provavelmente não ocorre naturalmente nos vegetais, foi a primeira a ser isolada, a partir da quebra do DNA autoclavado. As citocininas são encontradas primariamente em tecidos com alta atividade de divisão celular, incluindo sementes, frutos, folhas e ápices radiculares, e também em seiva exsudada de lesões em vários tipos de plantas (Raven et al., 2001; Taiz & Zeiger, 2004). De acordo com Taiz & Zeiger (2004), a citocinina é sintetizada principalmente nos meristemas apicais radiculares. Segundo Raven et al. (2001), a cinetina sozinha tem pouco ou nenhum efeito, contudo, o tratamento de gemas laterais com citocininas promove o seu desenvolvimento, com a superação da dominância apical. O balanço entre auxinas e citocininas induz a divisão celular em calos, promove a formação de brotos ou raízes,

retarda a senescência de folhas e promove a expansão de cotilédones (Raven et al., 2001; Taiz & Zeiger, 2004). A citocinina sintética 6-benzilaminopurina (BAP) é a mais amplamente utilizada e tem sido bastante eficiente para promover a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diferentes espécies (Santos-Serejo et al., 2006).

2.4.3 Aspectos gerais

As técnicas de propagação *in vitro* proporcionam várias vantagens em relação aos processos convencionais de multiplicação, tais como produção de mudas padronizadas com qualidade sanitária e maior vigor, produção comercial programada de grande quantidade de mudas em tempo relativamente curto, além de demandar menor espaço físico. Contudo, apresentam alguns inconvenientes, como a exigência de mão-de-obra especializada, alto custo de implantação do sistema e possibilidade de ocorrerem variantes somaclonais, que são indesejáveis a nível comercial (Souza et al., 2006). Por outro lado, variantes somaclonais ou mutações podem-se constituir em fontes de variabilidade genética com potencial para o aproveitamento em programas de melhoramento genético das espécies (Ferreira et al., 1998).

Fator relevante a ser considerado refere-se à grande especificidade do material a ser propagado *in vitro*, em relação à composição do meio nutritivo e à concentração de fitorreguladores. Souza et al. (2006) salientam que, na maioria das vezes, tornam-se necessários trabalhos para definição de processos de otimização de protocolos, pois respostas diferenciadas são encontradas não apenas entre espécies, mas também entre genótipos da mesma espécie e entre diferentes explantes do mesmo genótipo.

Vários estudos têm sido efetuados testando-se o balanço entre auxinas e citocininas, bem como diferentes concentrações e formulações de meios de cultura, com o objetivo de estabelecerem-se protocolos para propagação *in vitro* das mais variadas espécies da família Bromeliaceae.

Silva et al. (2005), trabalhando com *Dyckia maritima* Baker, testaram o uso de nitrato de amônia, em substituição ao regulador de crescimento cinetina e obtiveram resultados satisfatórios. A substituição de reguladores de crescimento por nitrato de amônia em protocolos de clonagem *in vitro* possibilita redução significativa nos custos, visto o alto preço desses hormônios.

No cultivo *in vitro* de abacaxizeiro, cultivar Smoot Cayenne (*Ananas comosus* (L.) Merrill), Tamaki et al. (2007) testaram diferentes concentrações de macronutrientes,

com diferentes diluições do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), sem uso de reguladores de crescimento. Os resultados obtidos sugeriram que, na diluição MS/5, as diferenças não foram significativas em relação ao desenvolvimento das plantas cultivadas no meio MS completo, possibilitando redução de custos, o que é bastante desejável em laboratórios de micropropagação. Porém, Naves et al. (2003), avaliando diferentes concentrações (50%, 100% e 150%) dos meios de cultura MS e Knudson, acrescidos de 2 mg.L⁻¹ de Thidiazuron (TDZ) para propagação *invitro* da bromélia imperial (*Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms), verificaram que, o meio Knudson apresentou resultado inferior em todos os parâmetros avaliados. O meio MS em sua concentração original proporcionou os melhores resultados, sendo que, para percentagem de explantes responsivos e com intumescimento, as diferenças entre as concentrações não foram significativas e, para número e altura de brotos, a diferença não foi significativa entre as maiores concentrações.

Na propagação *in vitro* das variedades branco e roxo de curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith), Santos et al. (2005) testaram diferentes concentrações de thidiazuron (TDZ) e 6-benzylaminopurina (BAP) no meio de cultura MS. Os resultados sugeriram a existência de diferenças genotípicas entre as variedades na resposta à indução morfogenética. O meio MS suplementado com TDZ, em todas as concentrações, revelou-se potente indutor de calogênese. O meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ de BAP apresentou a maior taxa de multiplicação de brotos por explante, comprimento dos brotos e produção de matéria fresca e seca.

3 ASPECTOS FENOLÓGICOS DE *Bromelia reversacantha* MEZ (BROMELIACEAE)

RESUMO

Muitas espécies de bromélias nativas do Cerrado possuem forte apelo estético. Tais características as tornam de grande interesse para paisagistas, decoradores e colecionadores. Entretanto, estas espécies estão em risco de extinção pela contínua alteração e destruição de seu *habitat* por ações humanas. Entre as espécies de bromélias com potencial ornamental, destaca-se a *Bromelia reversacantha*, espécie terrestre, de solos arenosos e ambientes secos e à meia-sombra. Considerando-se a intensa pressão antrópica nas áreas de ocorrências desta espécie, a compreensão de suas características fenológicas é de fundamental importância. O presente trabalho objetivou apresentar os estágios fenológicos e a biologia floral e reprodutiva de *Bromelia reversacantha*, em condições naturais. A coleta de dados foi realizada entre setembro/2007 a agosto/2008, com oitenta plantas selecionadas aleatoriamente em duas áreas de Cerrado Rupestre, localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, município de Mossamedes, Goiás. Amostragem de solos, dados de temperatura e umidade do ar e precipitação pluvial também foram coletados. Folhas, flores, frutos e sementes foram caracterizados morfolologicamente. A cada avaliação, foram realizadas mensurações e contagens relativas às variáveis de crescimento, além da observação da ocorrência de propagação vegetativa. Avaliações dos aspectos da fase reprodutiva e da germinação de sementes também foram feitas. Três tratamentos foram feitos para a avaliação do sistema reprodutivo: autopolinização espontânea, geitogamia e xenogamia. Os resultados das variáveis de crescimento analisadas não apresentaram o mesmo padrão de desenvolvimento em relação às estações do ano, seca ou chuvosa. O número de folhas novas apresentou correlação positiva com a precipitação pluvial e com a média mensal da temperatura mínima, evidenciando que deficiência hídrica e temperaturas mais frias não favorecem o desenvolvimento da planta. O número de folhas ativas, o comprimento da maior folha e o diâmetro médio da roseta foliar apresentaram correlação significativa negativa com a

temperatura máxima, indicando que sob maiores temperaturas ocorre a intensificação da senescência das folhas mais velhas. O comportamento das plantas nas duas áreas foi semelhante para o número de folhas ativas, altura da planta, comprimento da maior folha e diâmetro médio da roseta foliar, com pequenas diferenças para o número de folhas novas. A propagação vegetativa, a partir de brotações laterais, foi observada em quase todos os meses, exceto no mês de dezembro/2007. O período de floração das plantas foi bastante variável, apresentando média de 11,70 dias. O número de flores em antese por planta/dia apresentou média de 4,84 flores. O néctar em coleta única apresentou volume médio de 29,73 µl e teores de sólidos solúveis com média de 34,25° Brix. Entre os possíveis polinizadores, várias espécies de insetos foram observadas e coletadas além de três espécies de beija-flores. Não houve produção de frutos nas inflorescências submetidas à autopolinização espontânea. As flores submetidas à geitogamia produziram dois frutos; nas de polinização cruzada, doze frutos foram formados, indicando que a espécie possivelmente seja alógama. Sementes de *B. reversacantha* apresentaram alto percentual de germinação, com média de 98,13%, independentemente da presença ou ausência de luz.

Palavras-chave: Cerrado, desenvolvimento, floração, polinizadores.

ABSTRACT

PHENOLOGICAL ASPECTS OF *Bromelia reversacantha* Mez (BROMELIACEAE)

Many species of native bromeliads of the Cerrado have strong aesthetic appeal. They have characteristics of great interest for landscape gardener, decorators and collectors. However, these species are at risk of extinction by the continuous alteration and destruction of their *habitat* by human activities. Among bromeliad species, with ornamental potential, highlights *Bromelia reversacantha*, terrestrial species, of sandy soil, dry and half-shade environment. Thus, considering that the high anthropic pressure occurring in the areas of occurrences of this bromeliad species, the understanding of their phenological characteristics is of fundamental importance. The present work had as objective to present the phenologic stages and the floral and reproductive biology of *Bromelia reversacantha*, in natural conditions. The collection of data was carried from September/2007 to August/2008 with eighty plants selected randomly in two areas of

Campo Rupestre located in the Biological Reserve Prof. Jose Ângelo Rizzo, city of Mossâmedes, Goiás state. Sample of soil, temperature and humidity air and pluvial precipitation data had been also collected. Leaves, flowers, fruits and seeds had been morphologically characterized. To each evaluation, relative measurements and countings to the growth variable had been carried through, beyond the observation of the occurrence of vegetative propagation in the marked plants. Evaluations of the reproductive phase aspects and seeds germination had been also made. Three treatments had been made for the evaluation of the reproductive system: spontaneous self-pollination, geitogamy and xenogamy. The results of the growth variable analyzed had not the same standard of development in relation to year season, dry or rainy. The new leaf number presented positive correlation with the pluvial precipitation and the monthly average of the minimum temperature, evidencing that hidric deficiency and colder temperatures do not favor plant development. The active leaf number, the length of the biggest leaf and the average diameter of the foliar rosette had presented negative correlation with the maximum temperature. This indicated that, under bigger temperatures, it occurs the intensification of the senescence of older leaves. The plants behavior in the two areas was similar for the active leaf number, height of the plant, length of the biggest leaf and average diameter of the foliar rosette, with small differences for the number of new leaves. The vegetative propagation, from lateral shoots, was observed in almost every months, except in december/2007. The flowering period of the plants was quite variable, presenting a average of 11,70 days. The number of flowers in anthesis for plant/day presented an average of 4,84 flowers. The nectar in single sample presented an average volume of 29,73 µl and soluble solid with average of 34,25° Brix. Among possible pollinators, some species of insects had been observed and collected beyond three species of hummingbirds. It did not have production of fruits in the inflorescences submitted to the spontaneous self-pollination. The flowers submitted to the geitogamy had produced two fruits, in the ones of outcrossing, twelve fruits had been formed, indicating that the species is possibly alogamous. Seeds of *B. reversacantha* had presented high percentage of germination, with average of 98,13% in two tested treatments.

Keywords: Cerrado, growth, flowering, pollinators.

3.1 INTRODUÇÃO

No Cerrado, cerca de 1,8% da flora está representada por espécies da família Bromeliaceae (Rezende & Guimarães, 2007; Mendonça et al., 2008), podendo ser encontradas espécies epífitas, terrestres, rupícolas e saxícolas. As espécies terrestres podem ser encontradas em todas as formações vegetacionais desse bioma, mas apenas em populações raras ou em indivíduos dispersos (Eiten, 1972). Segundo esse mesmo autor, as bromélias ocorrem, geralmente, em solos pedregosos, não profundos, e poucas espécies em uma mesma área.

Carneiro (2002), em estudo realizado em trinta áreas amostrais no Estado de Goiás encontrou seis gêneros e 12 espécies, distribuídas em três formações vegetacionais estudadas: mata ciliar, Cerrado *stricto sensu* e Campo Rupestre. A autora afirma que, apesar das bromeliáceas ocorrerem de forma generalizada nas áreas, houve baixa diversidade de espécies. Estas apresentaram predominantemente hábito de crescimento terrestre no Cerrado *stricto sensu* (80%) e no Campo Rupestre (77%) e, na Mata de Galeria, a dominância foi de plantas epífitas (60%). A espécie *Dyckia pauciflora* foi a mais abundante e com a maior dominância relativa, contudo, *Dyckia brasiliiana*, com 22,60%, foi a espécie encontrada com maior frequência. Foram encontradas espécies dos gêneros *Aechmea*, *Ananas*, *Billbergia*, *Bromelia*, *Dyckia* e *Tillandsia* nas áreas levantadas, entretanto, em outras regiões do Estado, a autora encontrou, além destes, *Encholirium* e *Pitcairnia*. Todas as bromélias encontradas apresentaram continuidade de crescimento e desenvolvimento considerado bom em condições *ex situ*, fora de seu local de origem.

As bromélias são apreciadas como plantas ornamentais há décadas, especialmente nos Estados Unidos, Europa e Austrália. No Brasil, o seu uso no paisagismo teve início na década de 70, com trabalhos do renomado paisagista Burle Max (Paula & Silva, 2004). As bromélias do Cerrado são plantas que apresentam intenso colorido de suas inflorescências e, muitas vezes, da própria folhagem. Apresentam grande beleza, tanto pelo formato e tamanho da roseta foliar, como pela presença de escamas e espinhos nas folhas. Tais características impõem-lhes grande significado estético, fascinando e despertando interesse em incluí-las nas coleções e composições florísticas *ex situ*, principalmente no meio urbano, pelos paisagistas, decoradores e colecionadores.

Entre as espécies de bromélias com potencial ornamental, destaca-se a *Bromelia reversacantha*, descrita em 1891 (Mez, 1891). É uma planta terrestre, crescendo sobre solos arenosos, em ambientes secos e à meia-sombra em áreas de Cerrado Rupestre. Apresenta características interessantes, tais como folhas persistentes, inflorescência vistosa

e duradoura e porte interessante para uso no paisagismo, ou para formar maciços ou mesmo sozinha plantada em vasos.

Porém, alguns fatores contribuíram e ainda contribuem para o risco de extinção de muitas destas espécies de bromélias do Cerrado. A contínua expansão das fronteiras agrícolas e a implantação de pastagens, desde há muito, vêm consumindo o patrimônio natural. Estima-se que a taxa de desmatamento seja de 1,1% ao ano, causando perda anual de 2,2 milhões de hectares de áreas nativas do Cerrado (Machado et al., 2004), colocando em risco de extinção espécies endêmicas ainda desconhecidas ou pouco estudadas e promovendo a redução da diversidade genética de espécies generalistas.

Assim, considerando que a intensa pressão antrópica nas áreas de ocorrências destas espécies de bromélias, a compreensão das características fenológicas é de fundamental importância. Estudos de estádios fenológicos registram a variação de eventos biológicos e sua relação com mudanças no ambiente biótico e abiótico (Morellato-Fonzar, 1987). É importante para estudos mais detalhados sobre a ecologia, dinâmica e evolução de determinada espécie e de ecossistemas como um todo (Fournier, 1976). O registro da dinâmica fenológica reúne informações sobre o período de crescimento vegetativo, período reprodutivo (floração e frutificação), fluxo de pólen e dispersão de sementes (Fournier, 1976; Morellato, 1991). Estes conhecimentos, além de fornecer informações sobre épocas de crescimento e de reprodução da espécie estudada, também determinam suas necessidades básicas de temperatura, luminosidade e umidade (Mantovani et al., 2003).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivos apresentar aspectos fenológicos e da biologia floral e reprodutiva de *B. reversacantha*, incluindo aqueles relacionados à polinização e o seu sucesso reprodutivo em condições naturais, bem como a morfologia floral. Tais informações servirão como base para futuros programas de domesticação e manejo da espécie.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local da população estudada

As observações de campo, coleta de dados e de material para estudo foram realizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, localizada na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, com as coordenadas geográficas 16°04' de latitude sul e 50°11' de longitude oeste, e aproximadamente 1.000 m de altitude (Figura 3.1).



Figura 3.1. Localização da área de estudo. A) Mapa de Goiás (mesorregiões), destacando os municípios de Mossâmedes, Goiás, Itaberaí e Goiânia. (adaptado de Wikipédia, 2009); B) Localização da Reserva e da Serra Dourada (terreno) (adaptado de GoogleMaps: Dados Cartográficos ©2009).

Foram coletadas três plantas inteiras para o preparo de exsicatas, que foram depositadas no Herbário da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia, sob os números 42.219, 42.220 e 42.221.

Trabalhou-se com oitenta plantas de uma população natural de *B. reversacantha*, em duas áreas de Cerrado Rupestre. Em cada área, foram selecionadas aleatoriamente quarenta plantas, distribuídas em quatro agrupamentos (sub-áreas), com dez plantas cada (Figura 3.2). As áreas encontram-se a 500 metros uma da outra e, cada agrupamento de planta ocupou uma superfície em torno de 100 m².

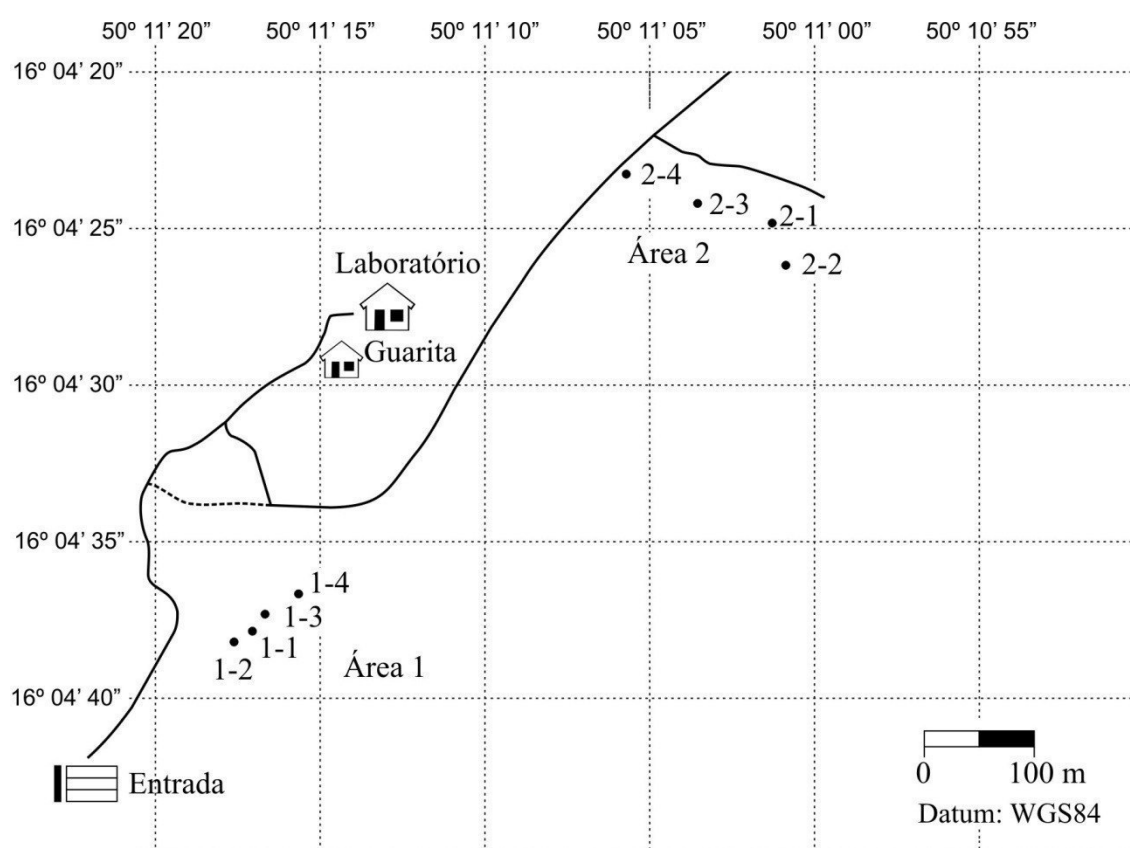


Figura 3.2. Mapa de localização das áreas e sub-áreas amostradas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes-GO, de setembro de 2007 a agosto de 2008.

Em novembro de 2008, procedeu-se à amostragem do solo, coletando-se, em cada um dos oito agrupamentos de plantas, uma amostra composta, obtida de dez sub-amostras. Cada sub-amostra foi retirada à distância de 20 cm das plantas selecionadas para o estudo, na profundidade de 0–20 cm, quando existente, visto que, na área 1 nem sempre

havia solo a essa profundidade. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análise de Solos e Foliar da EA/UFG para a sua caracterização física e química.

Os dados de temperatura e umidade do ar e precipitação pluvial (Figura 3.3), relativos aos meses de setembro de 2007 a agosto de 2008, foram obtidos da Estação Meteorológica de Itaberaí-GO, situada a 40 km do local de estudo, cedidos pelo Sistema de Meteorologia e Hidrologia do Estado de Goiás (SIMEHGO), vinculado à Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de Goiás (SECTEC). Ressalta-se que, devido a problemas técnicos na referida estação, o dado de precipitação relativo ao mês de dezembro de 2007 foi substituído pela média de precipitação de oito anos, 1999 a 2001, 2003 a 2006 e 2008.

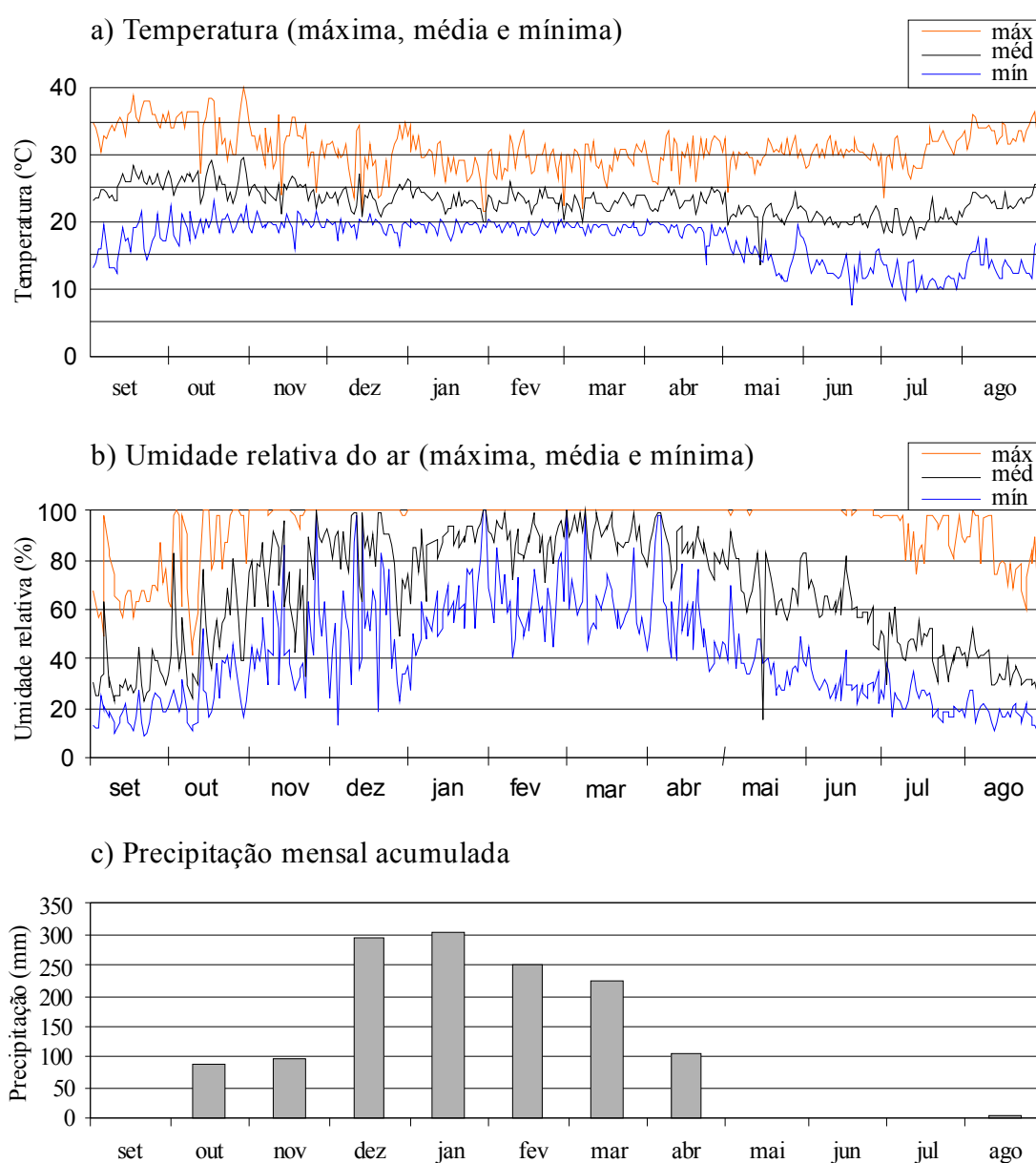


Figura 3.3. Dados climáticos de setembro de 2007 a agosto de 2008, obtidos da Estação Meteorológica de Itaberaí. a: temperatura do ar (máxima, média e mínima); b: umidade relativa do ar (máxima, média e mínima); c: precipitação mensal (mês de dezembro: média de oito anos).

3.2.2 Descrição da espécie

A descrição inicial da espécie foi realizada no campo, e, as complementações de medidas e análises no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, por meio de observação à vista desarmada e também com o auxílio de microscópio estereoscópio. Foi efetuado registro fotográfico *in situ* e *ex situ* utilizando-se câmera digital Sony H1. Foi utilizada terminologia conforme Angely (1959).

Para o estudo morfológico floral foram coletadas três inflorescências. Estas foram fixadas em FAA₇₀ (álcool etílico a 70%, ácido acético e formol) por 24 horas e após, transferidas para álcool 70%, para posterior análise em laboratório. A partir de cortes transversais e longitudinais, em material fixado e *in natura*, foram efetuados estudos e fotografias.

Para a descrição de frutos e sementes, foram coletadas trinta infrutescências, com seus escapos, que apresentaram características de maturação dos frutos, como maciez e soltura fácil dos tricomas presentes. Os dados obtidos foram também utilizados no estudo do sistema reprodutivo. Foram tomadas as medidas e o número de brácteas do escapo, o número de cúmulas por inflorescência e o número de frutos e de flores abortadas. Foram amostrados dez frutos de cada infrutescência da seguinte forma: a) os frutos foram ordenados por tamanho aproximado; b) calculou-se 10% do total de frutos da infrutescência, arredondando-se para o inteiro mais próximo, e determinando-se, assim, o índice de seleção (*is*); c) procedeu-se à amostragem selecionando-se um fruto a cada *is*, com contagem iniciada ao acaso. Destes frutos foram tomadas as medidas do comprimento e diâmetro e, contado o número de sementes. Os frutos foram espremidos em peneira fina para a extração das sementes, que foram lavadas em água corrente para a remoção da mucilagem característica da espécie e postas para secar à sombra, sobre papel, por uma semana. Estas foram classificadas por tamanho, com o auxílio de peneira de malha circular, sendo consideradas sementes grandes as que ficaram retidas em peneira de malha 3,9mm; médias, as que ficaram retidas em malha de 2,9mm e pequenas, as demais. A determinação da média de diâmetro e espessura das sementes foi efetuada em vinte

sementes de cada tamanho, tomadas ao acaso. Os frutos não amostrados foram utilizados como fonte de sementes para o teste de germinação.

3.2.3 Fenologia da fase vegetativa

As avaliações iniciaram-se em 29 de setembro de 2007, após a ocorrência de queimadas no local de estudo, no dia 14 de setembro do mesmo ano.

Foram efetuadas doze avaliações, em intervalos variáveis de 23 a 41 dias (Tabela 3.1), determinando-se na primeira, o estado inicial das plantas, em virtude da ocorrência da queimada. A cada avaliação, foram realizadas mensurações e contagens relativas às variáveis de crescimento, além da observação da ocorrência de propagação vegetativa nas plantas marcadas. Procedeu-se a análise de correlação simples de Pearson (Zimmermann, 2004) entre as médias mensais das variáveis de crescimento e dados meteorológicos, utilizando-se o aplicativo computacional Genes (Cruz, 2006).

Tabela 3.1. Datas das doze avaliações fenológicas (DA) de *Bromelia reversacantha* Mez, números de dias decorridos entre avaliações (DD) e meses de referência (MR).

	2007				2008							
DA	29	27	24	20	26	23	05	10	14	07	02	06
	set	out	nov	dez	jan	fev	abr	mai	jun	jul	ago	set
DD	-	28	28	26	37	28	41	35	35	23	26	35
MR	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago

As variáveis observadas foram:

Número de folhas novas (FN): considerou-se como folha nova aquela cuja extremidade apresentava-se visível quando observada a planta lateralmente e com sua extremidade livre da folha subsequente (Figura 3.4). Devido à conformação da roseta, marcou-se a quinta folha com etiqueta de identificação da planta, fixada com argola de arame encapado, sendo realocada, após a contagem, em cada avaliação;

Número total de folhas ativas (FA): foram consideradas folhas ativas aquelas que apresentavam pelo menos 50% de sua área viva;

Altura da planta (HP): medida a partir do solo até a extremidade da folha mais alta, conservada em sua posição original, não considerando o escapo floral quando existente;

Comprimento da maior folha (CF): medido a partir da base do limbo até o ápice da maior folha viva e inteira. As folhas que apresentavam a extremidade seca, porém ainda sem sinais de necrose, foram aqui consideradas;

Diâmetro médio da roseta (DM): obtido a partir de duas medidas: a primeira, tomada no sentido da maior folha e, a segunda, transversalmente a ela. Para essas medidas foram consideradas as posições originais das folhas, inclusive quando se apresentavam bastante deitadas, tocando o solo;

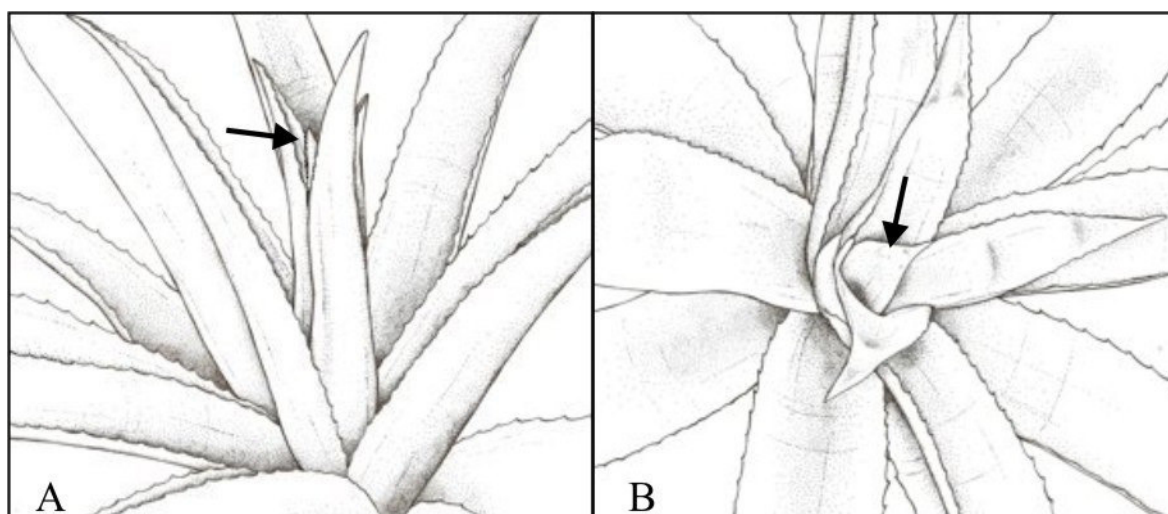


Figura 3.4. *Bromelia reversacantha* Mez. Padrão para contagem de folhas: A: primeira folha contada – extremidade livre da folha subsequente (seta); B: folha não contada (seta).

Número de brotações laterais (NB): brotações originadas na base da planta, ao longo do período avaliativo. As brotações já existentes foram consideradas na primeira avaliação;

Número de plantas na touceira (PT): foram consideradas as plantas agrupadas que evidenciavam pertencer ao mesmo sistema de ramificação, persistindo entre elas resquícios das bases de plantas que as deram origem, quando não a planta viva;

Número de plantas floridas (PF): foram consideradas desde a fase inicial de floração, marcada pela visualização das brácteas escapais semelhantes a folhas novas.

3.2.4 Fenologia da fase reprodutiva

Para a avaliação dos aspectos da fase reprodutiva, foram selecionados grupos distintos de flores e inflorescências para cada variável analisada. Assim, outras

inflorescências foram utilizadas, além das existentes nas oitenta plantas marcadas para o estudo da fenologia. Foram avaliadas as seguintes variáveis:

Antese e duração da flor: considerou-se antese o período compreendido entre o primeiro sinal, como a percepção visual de que as pétalas mostravam-se soltas, até a completa abertura da flor, quando as pétalas encontravam-se paralelas e os verticilos reprodutivos mostravam-se visíveis. As flores foram marcadas em pré-antese com etiquetas numeradas e as avaliações foram efetuadas em dois períodos: das 07:00 h às 12:00 h, com amostragem de 41 flores em sete plantas, e de 01:00 h às 08:40 h, com amostragem de trinta flores em nove plantas. Das 41 flores avaliadas no primeiro período, 21 foram acompanhadas até a senescência;

Duração da fase de floração: considerou-se o período da primeira à última antese na inflorescência. Foram marcadas 27 inflorescências em pré-antese com etiquetas numeradas e o acompanhamento foi diário;

Receptividade do estigma e viabilidade do pólen: as observações foram efetuadas em dez flores, coletadas ao longo de um dia, a partir da antese, e levadas imediatamente ao laboratório localizado na reserva. Para a receptividade do estigma foi verificada a presença de mucilagem indicativa. Para testar a viabilidade do pólen, foram preparadas lâminas com o pólen corado com carmim acético 2% e visualizado em microscópio;

Néctar – quantitativo e qualitativo: inflorescências com flores em pré-antese foram protegidas com saco de papel para evitar o contato com visitantes florais. A coleta do néctar foi feita com capilares calibrados ($15\text{ mm} = 10\text{ }\mu\text{L}$) em dois tratamentos: coleta única, entre 14:00 h e 16:30 h ($n = 24$), e a cada duas horas, no período de 07:00 h até 15:00 h ($n = 11$). Para a quantificação do teor de sólidos solúveis, foi utilizado refratômetro portátil (Impac, mod. IPB-32KT), com faixa de medição de 0~32 graus brix. As amostras de néctar foram diluídas em volume de água destilada idêntico ao de cada amostra e, posteriormente, os teores observados foram multiplicados por dois, para expressar o teor original;

Visitantes florais: as observações dos visitantes florais foram efetuadas oportunamente, durante a execução dos demais trabalhos. A identificação dos beija-flores foi realizada a partir de fotografias, pela Professora Dra. Anamaria Achtschin Ferreira, da Unidade Universitária de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis-GO e, a identificação dos insetos a partir de exemplares coletados no local, pelo

Professor Dr. Benedito Baptista dos Santos, do Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás e sua aluna de graduação, Marília Porfírio Gualberto;

Sistema reprodutivo: foram feitos três tratamentos para a avaliação do sistema reprodutivo: autopolinização espontânea, geitogamia e xenogamia. Para a autopolinização espontânea, dez inflorescências foram ensacadas em pré-antese, com saco de papel branco, assim permanecendo até a senescência da última flor. Para os demais tratamentos, as flores em pré-antese foram emasculadas, e, no dia seguinte, após a antese, 34 flores foram polinizadas manualmente com pólen de flores da mesma planta, para testar a ocorrência de geitogamia e, 35 flores foram polinizadas com pólen de plantas diferentes, para testar a ocorrência de xenogamia. As flores foram marcadas com etiquetas numeradas, ficando as inflorescências ensacadas desde a pré-antese até um dia após a realização da polinização. No mês seguinte foi verificada a formação ou não de frutos.

O estudo da polinização natural foi efetuado em trinta infrutescências coletadas, também utilizadas para o estudo da morfologia de frutos e sementes. Foram calculadas as médias do percentual de flores abortadas, do número de flores por planta, do número de frutos normais e atrofiados por planta, do número de sementes por fruto e a distribuição percentual das sementes, por tamanho.

A propagação sexuada foi estudada pela observação da ocorrência de plantas novas, originadas de germinação de sementes, nas áreas de estudo e adjacências.

3.2.5 Germinação de sementes

A análise da germinação das sementes foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes, Setor de Agricultura, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás. Foram utilizadas sementes de tamanho médio, classificadas de acordo com a metodologia utilizada para o estudo da morfologia de frutos e sementes, após um mês de acondicionamento em frascos de vidro com tampa, sob temperatura ambiente (25°C – 30°C) e ausência de luz. Antes da execução do teste, determinaram-se o teor de água na base úmida e a massa de matéria fresca e seca das sementes, pelo método da estufa a 105±3°C (Brasil, 1992), utilizando-se quatro repetições de 50 sementes do mesmo lote. As sementes foram colocadas para germinar em caixas Gerbox, sobre duas folhas de papel mata-borrão embebidos em volume de água destilada equivalente a 2,5 vezes sua massa (Brasil, 1992). As sementes foram incubadas em

germinador Biomatic mod. 4001, sob temperatura constante de $30^{\circ}\text{C} \pm 2$. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições de cinquenta sementes em dois tratamentos: T1: iluminação artificial constante fornecida por duas lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W, posicionadas a 30 cm acima das sementes; e T2: ausência de luz, simulada pelo envolvimento das caixas Gerbox com papel alumínio. A avaliação foi diária, sendo encerrada quando as percentagens de germinação se tornaram constantes pelo período de cinco dias consecutivos. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado conforme Maguire (1962), pela seguinte equação: $\text{IVG} = \sum(g_i : d_i)$, em que g_i : número de sementes germinadas na i -ésima contagem; d_i : número de dias decorridos desde a semeadura até a i -ésima contagem. Ao final do experimento, determinaram-se a massa de matéria fresca e seca em vinte plântulas de cada repetição, amostradas por sorteio.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

B. reversacantha Mez foi selecionada entre outras espécies dos gêneros *Aechmea*, *Bromelia*, *Dyckia*, *Pitcairnia* e *Tillandsia*, observadas na área de estudo, a partir de visitas de prospecção realizadas nos meses de maio a agosto de 2007, por apresentar características ornamentais potenciais para uso no paisagismo, como inflorescência vistosa e duradoura e folhagem exuberante. A identificação da espécie estudada foi efetuada por comparação com excidatas depositadas no Herbário da Universidade Federal de Goiás e, confirmada pelo Senhor Eddie Esteves Pereira (comunicação pessoal).

3.3.1 Local da população estudada

A reserva apresenta matriz rochosa constituída de arenito, com várias pontuações de óxido de ferro, com predominância de neossolos litólicos e neossolos quartzarênicos, apresentando de 10 cm a 40 cm de profundidade efetiva (horizonte A). As áreas estudadas encontram-se no topo da paisagem, apresentando relevo com baixa declividade.

A área 1 caracterizou-se por apresentar grandes afloramentos rochosos, com pequenos acúmulos de solo, superfície irregular e com poucas árvores de porte médio, com plantas de *B. reversacantha* mais concentradas em agrupamentos esparsos, às vezes ocorrendo entre fendas de rochas com acúmulo de solo; a área 2 apresentou relevo mais plano e uniforme, com maior densidade de vegetação herbáceo-arbustiva, com distribuição

mais regular da espécie sob estudo, constituindo uma população mais contínua e menos concentrada.

Os resultados da análise do solo (Tabela 3.2) foram interpretados de acordo com Sousa & Lobato (2004). A análise de solo indicou tratar-se de solo ácido, com pH 3,2 a 4,1, bastante arenoso, apresentando as médias de $87,75\% \pm 3,73$ de areia, $3,6\% \pm 3,04$ de silte e $8,63\% \pm 1,11$ de argila e elevada saturação por alumínio, com $64,04\% \pm 2,05\%$. O teor de matéria orgânica foi elevado, variando entre 1,90% a 4,50%, promovendo, dessa forma, o aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) com valores de $5,90\text{cmolc.dm}^{-3}$ a $15,90\text{cmolc.dm}^{-3}$ (Malavolta & Kliemann, 1985) e, conseqüentemente, minimizando o efeito tóxico do alumínio, com teores entre $0,80\text{cmolc.dm}^{-3}$ a $1,20\text{cmolc.dm}^{-3}$ e do baixo pH (Thomas, 1975). Além disso, as amostras analisadas apresentaram baixa saturação por bases, com médios teores de potássio, baixos teores de cálcio e magnésio e, teores muito baixos de fósforo.

Tabela 3.2. Atributos físicos e químicos⁽¹⁾ do solo amostrado, em novembro de 2008, em oito sub-áreas com população natural de *Bromelia reversacantha* Mez, na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, Brasil.

Sub- área	Argila	Silte	Areia	M.O.	pH	P (Mehl)	K	Ca	Mg	Al	CTC	M	V
	(%)				(CaCl ₂)	(mg.dm ⁻³)		(cmolc.dm ⁻³)				(%)	
1-1	8,0	1,0	91,0	3,5	3,7	2,9	41,0	0,3	0,1	1,0	7,8	66,5	6,5
1-2	8,0	1,0	91,0	3,1	3,4	2,3	41,0	0,4	0,1	0,9	10,6	59,8	5,7
1-3	8,0	1,0	91,0	4,5	3,2	2,6	43,0	0,4	0,1	1,1	15,9	64,3	3,8
1-4	8,0	9,0	83,0	2,6	3,5	3,5	38,0	0,3	0,1	0,9	8,6	64,4	5,6
2-1	10,0	7,0	83,0	1,9	3,9	3,5	32,0	0,4	0,1	1,0	5,9	63,2	9,9
2-2	8,0	3,0	89,0	3,8	3,9	4,8	42,0	0,5	0,1	1,2	6,0	62,9	11,8
2-3	8,0	1,0	91,0	2,2	4,1	2,9	37,0	0,3	0,1	0,9	4,8	64,5	10,3
2-4	11,0	6,0	83,0	2,0	4,0	2,3	39,0	0,2	0,1	0,8	4,7	66,7	8,5
Área	Médias												
1	8,0	3,0	89,0	3,4	3,5	2,8	40,8	0,4	0,1	1,0	10,7	63,8	5,4
2	9,3	4,3	86,5	2,5	4,0	3,4	37,5	0,4	0,1	1,0	5,4	64,3	10,1
Geral	8,6	3,6	87,8	3,0	3,7	3,1	39,1	0,4	0,1	1,0	8,0	64,0	7,8

⁽¹⁾ Al: alumínio. Ca: Cálcio. CTC: Capacidade de troca catiônica. K: Potássio. M: Saturação por alumínio trocável. Mg: Magnésio. M.O.: Matéria orgânica. P: Fósforo. pH: Potencial Hidrogeniônico. V: Saturação por bases.

No decorrer do presente trabalho, o período chuvoso iniciou-se em outubro de 2007 e estendeu-se até abril de 2008, com os maiores índices de precipitação nos meses de dezembro de 2007 e janeiro de 2008. A temperatura média desse mesmo período apresentou os maiores índices nos meses de setembro e outubro de 2007. Nos meses de maio a agosto de 2008 houve grande amplitude térmica diária, com temperaturas mínimas

inferiores a 15°C e temperaturas máximas superiores a 30°C. A umidade relativa do ar máxima situou-se na faixa de 100% de novembro de 2007 a junho de 2008 e a mínima em valores inferiores a 20%, nos meses de setembro de 2007 e agosto de 2008 (Figura 3.3).

3.3.2 Descrição da espécie

Erva terrestre, perene. **Caule** 4–5 cm compr. envolto por bainhas. **Bainha** 4–5 cm compr., ovadas, vilosas no terço superior em ambas as faces; **lâmina** 20–70 cm x 2–5 cm, linear-lanceoladas, ápice agudo, margem espinescente; espinhos 1–4 mm compr., antroversos e retroversos. **Escapo** 24–44 cm compr., 0,9–1,6 cm diâm., ereto, lepidoto. **Brácteas do escapo** 10–18; **bainha** lanceolada a ovada, margem espinescente, espinhos até 1 mm compr., encurvados, antroversos e retroversos, as vezes dicotômicos, lepidotas em ambas as faces; **lâmina** lanceolada, gradativamente menor em direção ao ápice, margem espinescente, espinhos 1–2 mm compr., encurvados, antroversos e retroversos, as vezes dicotômicos. **Inflorescência** 7–14 cm compr., cimoso, subgloboso, apical; **cúmulas** 9–18, 2–10 floras, subtendidas por brácteas primárias e mais 4–11 floras isoladas na extremidade da inflorescência, subtendidas por brácteas florais. **Brácteas primárias** 9–18; **bainha** 2,5–4,0 x 1,5–3,0 cm, ovadas, margem espinescente, espinhos até 1 mm compr., antroversos e retroversos, as vezes dicotômicos; **lâmina** inconspícua, gradativamente menor em direção ao ápice até tornar-se ausente, aguda. **Brácteas florais** ca. 2,5 x 0,5 mm, oblongas, margem esparsamente espinescente, paleáceas, lepidotas na face abaxial e glabras na face adaxial. **Flores** ca. 4–5 cm compr., curtamente pediceladas; **sépalas** livres, lanceoladas, ápices agudos, ca. 15–20 x 5–7 mm, margem com espinhos diminutos na metade superior, glabra em ambas as faces; **pétalas** imbricadas, glabras em ambas as faces, soldadas na base, ca. 20–25 x 5–7 mm; **estames** inseridos na base da corola, filetes glabros ca. 5–8 mm compr., antera basifixa, bífida, ca. 7–10 mm compr., deiscência longitudinal; **ovário** ínfero, lanoso externamente, ca. 20–25 mm compr., 4–5 mm de diâm., estilete glabro, 12–15 mm compr.; **estigma** trifurcado. **Frutos** tipo baga, ovados a elípticos, 20–50 mm compr., 10–20 mm diâm.; **sementes** orbiculares, achatadas, marrom, 2,5–4,5 mm diâm., 1–2 mm espess. (Figuras 3.5 e 3.6).

As brácteas basais do escapo assemelham-se às folhas centrais, diferenciando-se delas pelo aumento do tamanho da bainha e da distância entre as brácteas, que é maior até a proximidade da inflorescência. Apresentam bainhas bastante desenvolvidas, com até

9,0 cm de comprimento, representando de 25% a 30% do todo (Figura 3.6-A). Na região limítrofe com a inflorescência, esse índice atinge em torno de 50% e, a diferença entre as brácteas do escapo e as primárias é notada pela ausência ou presença de flores na sua base respectivamente (Figura 3.6-C). Ambas apresentam um gradiente de redução do tamanho da bainha e da lâmina à medida que avançam para o ápice. A lâmina sofre redução mais acentuada, chegando a ser ausente nas últimas brácteas primárias (Figura 3.6-B).

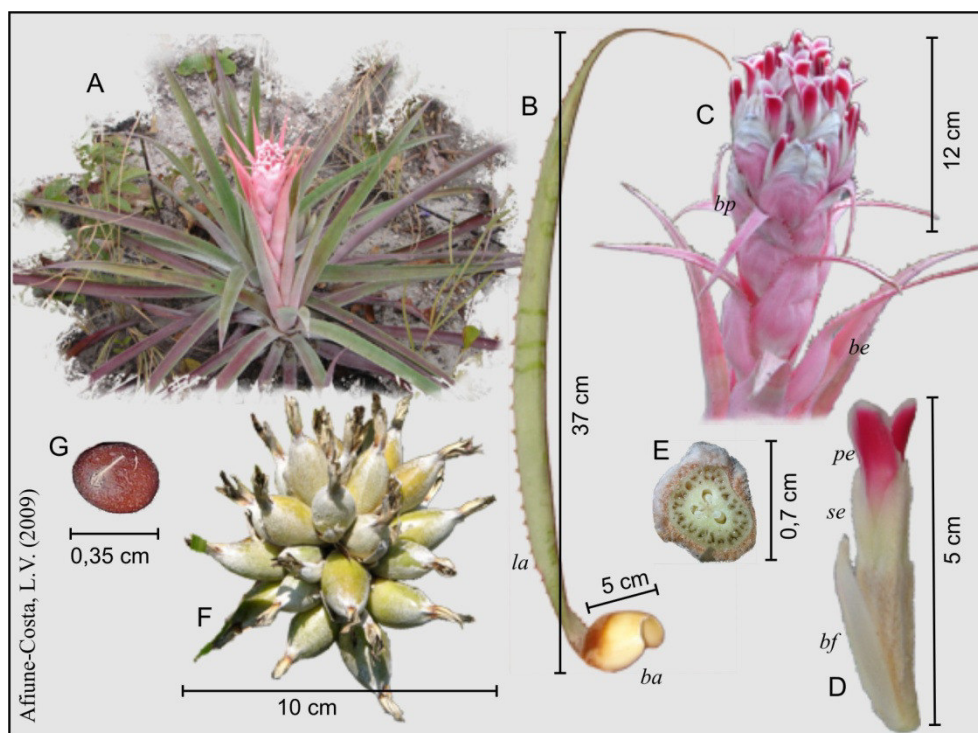


Figura 3.5. *Bromelia reversacantha* Mez. A: Habitat; B: Inflorescência; C: Folha; D: Címula; E: Bráctea primária; F: Bráctea floral; G: Flor; H: Pétalas com verticilos florais; I: Ovário (corte transversal); J: Infrutescência; K: Semente; fi: face interna; fe: face externa; pe: pétala; se: sépala; bf: bráctea floral.

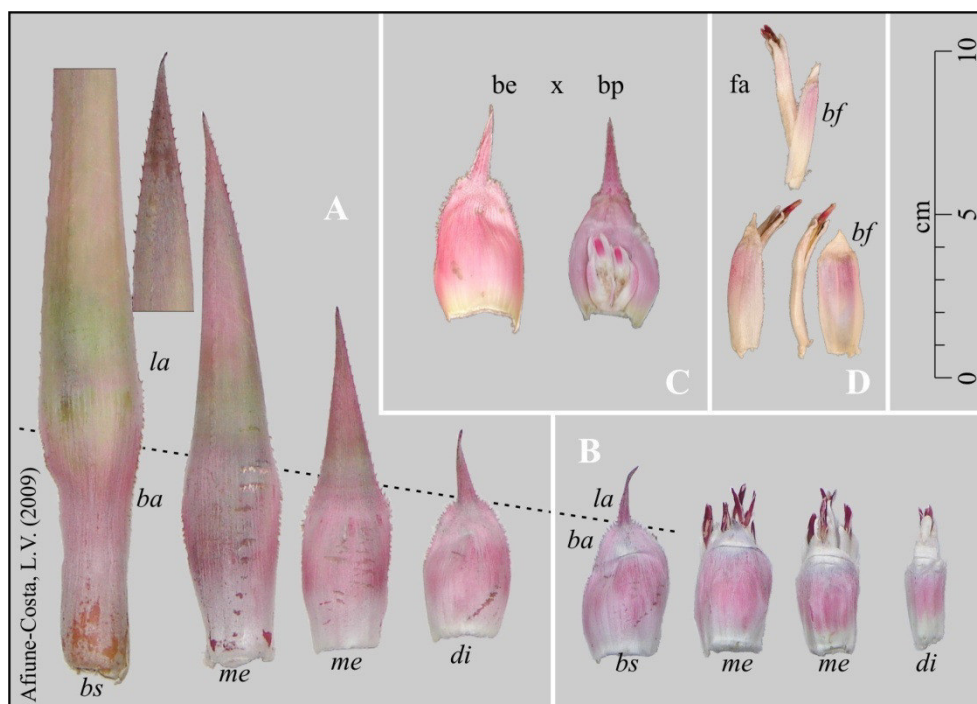


Figura 3.6. *Bromelia reversacantha* Mez. A: Brácteas do escapo (be); B: Brácteas primárias (bp); C: Diferença entre brácteas (be x bp), evidenciada pela ausência ou presença de flores na base; D: Flores não subtendidas por brácteas primárias (fa). (ba: bainha; bf: bráctea floral; bs: basal; di: distal; la: lâmina; me: mediana).

A redução do tamanho das brácteas primárias é acentuada na extremidade da inflorescência, até se tornarem ausentes. Nessa condição, observam-se de quatro a onze flores isoladas, dotadas apenas de brácteas florais, sendo as primeiras, assemelhadas à última bráctea primária (Figura 3.6-D).

3.3.3 Fenologia da fase vegetativa

As plantas apresentaram-se bastante danificadas pela ação da queimada ocorrida antes do início do estudo; contudo, as folhas centrais permaneceram vivas, com algumas folhas mais externas com um percentual variável de suas áreas queimadas. As folhas mais velhas, que certamente encontravam-se secas ou bastante desidratadas, foram totalmente consumidas pelas chamas, ficando as bainhas foliares preservadas. As bainhas foliares, embora se apresentassem com suas extremidades secas e queimadas, conservaram-se vivas e úmidas, exercendo proteção ao eixo central da planta, que permaneceu intacto. Leme & Marigo (1993) relatam que espécies dos gêneros *Cottendorfia*, *Dyckia* e *Encholirium*, subfamília Pitcairnioideae, desenvolvem uma base tuberosa recoberta por bainhas coriáceas que minimizam os efeitos térmicos das queimadas.

As variáveis de crescimento analisadas não apresentaram o mesmo padrão de desenvolvimento em relação às estações do ano, seca ou chuvosa (Figura 3.7) e quatro delas apresentaram correlação com algumas variáveis climáticas (Tabela 3.3). O número de folhas novas apresentou correlação significativa positiva com a precipitação pluvial e com a média mensal da temperatura mínima ($p < 0,01$), evidenciando que deficiência hídrica e temperaturas mais baixas não favorecem o desenvolvimento da planta. O número de folhas ativas ($p < 0,05$), o comprimento da maior folha ($p < 0,01$) e o diâmetro médio da roseta foliar ($p < 0,01$) apresentaram correlação significativa negativa com a temperatura máxima, indicando que sob maiores temperaturas ocorre a intensificação da senescência das folhas mais velhas. Porém, há de se considerar que, nos meses de outubro e novembro de 2007, as plantas encontravam-se, ainda, em recuperação dos efeitos da queimada, ocorrida no mês de setembro, e isto pode ter contribuído significativamente para a estimativa da correlação.

O comportamento das plantas nas duas áreas foi semelhante para o número de folhas ativas, altura da planta, comprimento da maior folha e diâmetro médio da roseta foliar, com pequenas diferenças para o número de folhas novas (Figura 3.7). Embora a semelhança dessas médias, observou-se grande amplitude entre os valores máximo e mínimo, nas duas áreas (Tabela 3.4).

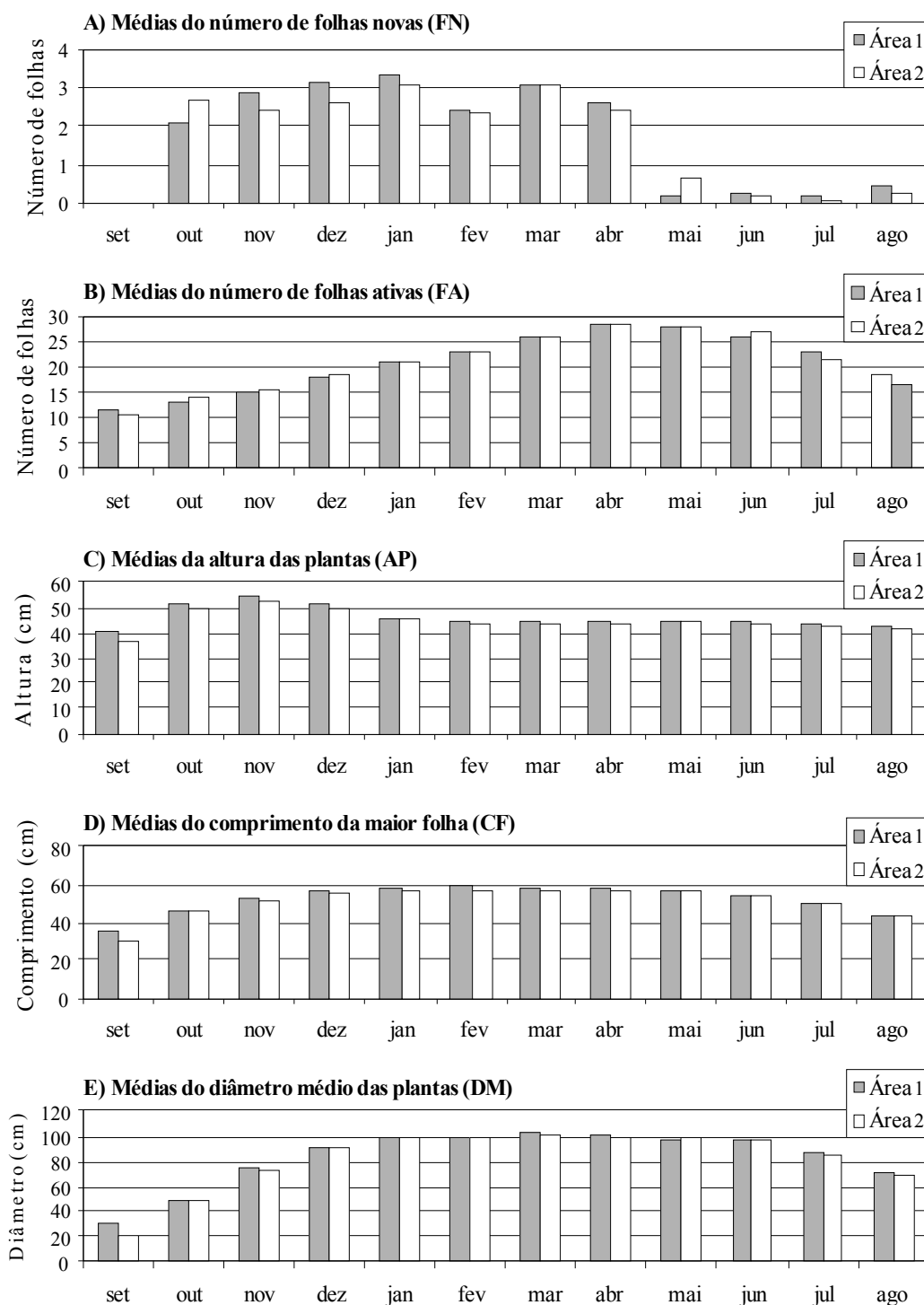


Figura 3.7. Comportamento de *Bromelia reversacantha* Mez, expresso pelas médias das variáveis de crescimento (A, B, C, D e E), em duas áreas localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, nos meses de setembro de 2007 a agosto de 2008.

Tabela 3.3. Correlação simples de Pearson entre as variáveis avaliadas, em duas populações de *Bromelia reversacantha* Mez, e os dados de precipitação pluvial (PP) e médias mensais da temperatura do ar máxima (Tmax) e

mínima (Tmin), da Estação Meteorológica de Itaberaí, Goiás, Brasil, relativas aos meses de outubro de 2007 a agosto de 2008.

Variáveis	PP	Tmax	Tmin
Número de folhas novas	0,8527 **	-0,2674	0,9517 **
Número de folhas ativas	-0,0974	-0,6434 *	-0,2843
Altura da planta	0,2374	0,2896	0,5901
Comprimento da maior folha	0,5514	-0,8875 **	0,3746
Diâmetro médio da roseta	0,3351	-0,9398 **	-0,0471

*, ** Resultados significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t (Student).

Tabela 3.4. Média, desvio padrão e amplitude de variáveis avaliadas em oitenta plantas de *Bromelia reversacantha* Mez, localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes, Goiás, de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Parâmetros	Variáveis				
	FN	FA	AP (cm)	CF (cm)	DM (cm)
Média	1,93	21,69	46,13	53,46	87,68
Desv. Padr.	1,53	6,63	8,01	8,79	21,05
Máximo	7,00	42,00	79,00	86,00	149,00
Mínimo	0,00	8,00	26,00	29,00	31,50

FN: número de folhas novas; FA: número de folhas ativas; AP: altura da planta; CF: comprimento da maior folha; DM: diâmetro médio da roseta.

Os estudos iniciaram-se com oitenta plantas, porém, ao longo das avaliações, cinco plantas morreram e foram excluídas, a cada evento, sendo verificada apenas a ocorrência ou não de brotações laterais. As dezoito plantas que emitiram floração, a partir daí, não foram consideradas na avaliação de folhas novas, pois com a emissão do escapo floral, a planta cessou seu crescimento vegetativo.

O número de folhas novas permaneceu relativamente estável até o mês de abril de 2008, oscilando entre valores médios de 2,10 a 3,37 em ambas as áreas. A partir de maio de 2008 apresentou acentuada redução para valores médios inferiores a 0,70, com os menores valores em agosto de 2008.

O número de folhas ativas por planta atingiu o seu pico em abril de 2008, quando apresentaram média de 28,36 folhas ($\pm 5,25$; 16,00 – 42,00). A partir do mês de junho de 2008, iniciou-se um declínio gradual, acentuado em agosto de 2008, com redução para 17,32 ($\pm 5,17$; 8,00 – 31,00), retornando, assim, a níveis próximos dos observados em

dezembro/2007. Vale ressaltar que, a cada avaliação, foram desconsideradas as folhas que apresentavam-se senescentes, com mais de 50% de área comprometida. Contudo, o incremento foliar promoveu a manutenção ou incremento do número de folhas ativas enquanto igual ou superior ao número de folhas senescentes, respectivamente.

As plantas apresentaram maior altura no mês de novembro de 2007, com média de 53,76 cm ($\pm 8,00$; 39,00 – 78,00). Essa maior altura pode ser atribuída à posição das folhas, que se encontravam mais eretas, pois em janeiro de 2008, observou-se um aumento no ângulo de abertura das folhas, com a respectiva redução na altura da planta para a média de 45,56 cm ($\pm 7,89$; 26,00 – 75,00). Tal fato pode ter-se iniciado a partir de dezembro, o que não foi percebido devido às condições de avaliação, sob intensa chuva. A partir de janeiro de 2008 até o final da avaliação, a altura da planta permaneceu estável, com pequena redução gradual até a média de 42,51 cm ($\pm 6,21$; 28,00 – 60,00).

O comprimento da maior folha foi crescente e gradual até o mês de janeiro de 2008, atingindo média de 57,12 cm ($\pm 6,95$; 45,00 – 85,00), mantendo-se em torno de 57,00 cm até maio de 2008. Com a senescência e morte das folhas mais velhas, em junho de 2008, iniciou-se declínio gradual, com acentuada redução em agosto de 2008 para a média de 43,28 cm ($\pm 8,96$; 28,00 – 68,00).

O diâmetro médio apresentou aumento gradual até janeiro de 2008, com média de 98,94 cm ($\pm 12,61$; 70,00 – 143,50), mantendo-se em valores próximos de 100,00 cm até maio de 2008. A partir de junho de 2008, como consequência da senescência das maiores folhas, observou-se início da redução, acentuada em julho e agosto de 2008, apresentando média de 70,23 cm ($\pm 18,89$; 33,50 – 112,50) ao final das avaliações.

A propagação vegetativa, a partir de brotações laterais, foi observada em quase todos os meses, exceto no mês de dezembro de 2007 (Figura 3.8). Na primeira avaliação, 16 plantas apresentaram brotações, estando algumas já desenvolvidas. A partir de outubro de 2007 foram registradas 43 novas brotações em 39 plantas, das quais, quatro foram rebrotações em plantas cujos brotos haviam morrido, e dessas rebrotações, uma encontrava-se morta na avaliação seguinte. No mês de outubro de 2007 foi registrado maior número de brotações, provavelmente consequência do estresse produzido pela queimada ocorrida. Duas, das cinco plantas que morreram ao longo das avaliações, não apresentaram brotação. Entre as dezoito plantas floridas, uma não apresentou brotação e, em outra, o broto morreu um mês após a brotação. Do total de 59 brotações observadas, nove morreram antes de se tornarem plantas adultas.

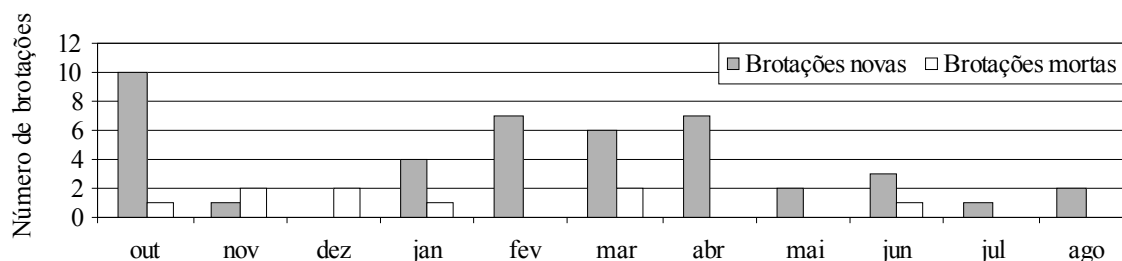


Figura 3.8. Número de brotações laterais e brotações mortas em oitenta plantas de *Bromelia reversacantha* Mez, localizadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, na Serra Dourada, município de Mossâmedes-GO, de outubro de 2007 a agosto de 2008.

3.3.4 Fenologia da fase reprodutiva

As plantas selecionadas para o estudo apresentaram floração nos meses de junho e julho de 2008, com pico em julho. Contudo, nas demais plantas foi observado o início de floração no final do mês de maio, com pico entre os meses de junho e julho, e, em agosto, ainda se observaram algumas plantas florescendo.

O escapo floral apresentou altura média de 37,63 cm ($\pm 5,74$; 26,00 – 48,00), medidos a partir de sua base até a região distal da inflorescência. As inflorescências, no início da antese das primeiras flores, apresentaram diâmetro médio de 39,74 mm ($\pm 4,43$; 30,00 – 48,00). As flores, em diversos tons de vermelho e com bordos brancos (Figura 3.9), apresentaram a partir da base, comprimento médio de 41,44 mm ($\pm 8,75$; 21,00 – 59,00), diâmetro médio do tubo próximo ao bordo de 6,07 mm ($\pm 0,74$; 5,00 – 8,00) e bordo com diâmetro médio de 7,30 mm ($\pm 1,22$; 8,00 – 11,00) ($n = 65$). As anteras, em número de seis, encontram-se ao nível do estigma (Figura 3.9), sendo observada sua deiscência simultaneamente à antese.

A duração da antese apresentou diferenças nos períodos avaliados. A antese diurna teve tempo médio de 2:38 horas ($\pm 00:42$; 1:25 – 3:50), enquanto a noturna foi mais lenta, demorando em média 4:25 horas ($\pm 00:52$; 3:10 – 6:20). As flores avaliadas em antese diurna permaneceram abertas por cerca de 23:24 horas ($\pm 01:24$; 20:40 – 26:25). Vale ressaltar que em observação de prospecção, percebeu-se a antese nas primeiras horas da manhã. Com isso, estabeleceram-se as avaliações nos dias 21 e 22 de junho a partir das 7:00 h. Nessa avaliação foram observadas oito flores que já se encontravam com 30% a 70% de antese completa. Nova tentativa de avaliação foi efetuada em 29 e 30 de junho, porém sem êxito, pois todas as flores marcadas em pré-antese já se encontravam em antese completa.

entre 7:00 h e 8:00h. Efetuou-se nova tentativa, com início às 4:00 h, também sem êxito, pois pelo menos 50% das flores marcadas já se encontravam com a antese iniciada. Antecipando ainda mais, nova avaliação foi efetuada, de 1:00 h às 8:40 h do dia 9 de julho, quando foram observadas oito flores com a antese iniciada. Não foi possível detectar a causa de alteração no horário de início e de duração de antese, contudo, observaram-se noites mais frias nas últimas avaliações. Com isso, não foi possível afirmar o período de início de antese, sugerindo-se que sejam efetuados mais estudos.

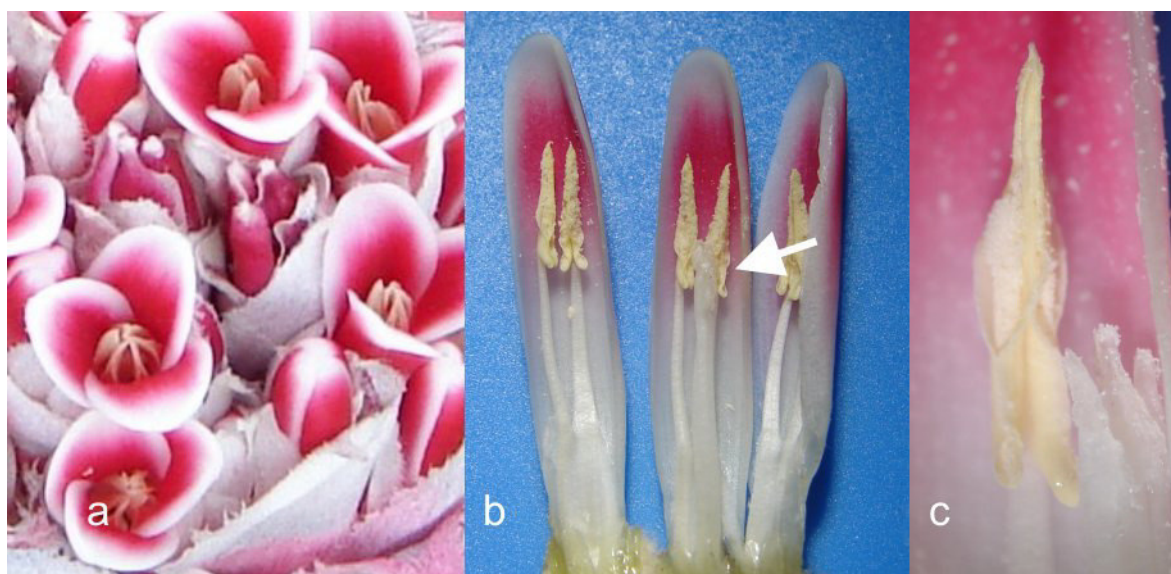


Figura 3.9. Flor de *Bromelia reversacantha* Mez e verticilos reprodutivos. a) aspecto geral das flores; b) posição do estigma em relação às anteras (seta); c) detalhe da deiscência da antera.

Operíodo de floração das plantas foi bastante variável, apresentando média de 11,70 dias ($\pm 2,13$; 8 – 16). O número de flores em antese por planta/dia apresentou média de 4,84 flores ($\pm 3,42$; 0 – 18).

O néctar em coleta única apresentou volume médio de 29,73 μl ($\pm 9,95$; 7,33 – 45,33), e teores de sólidos solúveis com média de 34,25° Brix ($\pm 4,41$; 26,00 – 41,00). A coleta a cada duas horas somou volume médio de 24,73 μL ($\pm 13,99$; 7,33 – 50,00). Observou-se que às 7:00 h, todas as flores já haviam iniciado a produção de néctar e, a partir das 11:00 h, houve declínio da produção, não sendo mais possível a coleta depois das 13:00 horas.

Logo após a antese, o estigma já se encontrava recoberto por uma camada úmida e viscosa, indicando estar receptivo, assim permanecendo até aproximadamente

16:00 h. Os grãos de pólen mostraram-se corados em todas as amostras, indicando 100% de viabilidade.

Das três espécies de beija-flores observadas visitando as flores de *B. reversacantha*, uma não foi identificada. Essa espécie apresentou comportamento marcadamente esquivo, afastando-se imediatamente a qualquer sinal de aproximação. *Eupetomena macroura* (Gmelin, 1788) e *Chlorostilbon aureoventris* (D'Orbigny & Lafresnaye, 1838) foram observadas especialmente na parte da manhã, estendendo o forrageamento até aproximadamente 16:00 h.

Insetos da ordem Hymenoptera tiveram grande presença nas flores. *Xylocopa* sp., da família Apidae, foram os primeiros visitantes, em todos os dias de observação, iniciando suas visitas a partir de 7:00 h, estendendo até aproximadamente 17:00 h. Outra espécie dessa família observada, durante quase todo o dia, foi uma abelha de aproximadamente 2 mm, não identificada. Esta espécie apresentou preferência por algumas inflorescências em detrimento de outras, mesmo nas horas de maior incidência, mas não foi possível identificar diferenças visíveis entre elas. Nas horas mais quentes do dia, esta pequena abelha infestava o corpo do observador, possivelmente atraídas pelo suor. *Apis melifera* L., 1758 foi mais frequente entre 8:00 h e 12:00 h, não sendo observada depois de 14:00 h. Desta família, apenas a espécie *Xylocopa* sp. foi observada forrageando o néctar das flores; as demais forrageavam pólen.

Espécies da Ordem Lepidoptera também foram frequentes entre 10:00 h e 17:00 h, sendo a maior ocorrência de *Phoebis sennae* (L., 1758), seguida de *Eurema elathea* (Cramer, 1775) e *Anteosclorinde* (Godart, [1824]). Foram raros os registros de uma espécie da família Lycaenidae no meio do dia. As espécies desta ordem pousavam no bordo das flores e introduziam suas probóides no tubo floral para buscar o néctar no fundo da corola.

Uma espécie (*Alydus* sp.) da ordem Hemiptera, família Alydidae, e duas (*Camponotus* sp. e *Solenopsis* sp.) da ordem Hymenoptera, família Formicidae, foram observadas nas inflorescências; contudo, não se verificou nenhuma atividade relacionada ao pólen ou ao néctar, sugerindo comportamento oportunista.

No período noturno, foram observadas inflorescências sendo predadas por formigas do gênero *Acromyrmex*. Elas atacaram as inflorescências, destruindo flores e botões florais, chegando, em alguns casos, a atingir os verticilos reprodutivos.

Não houve produção de frutos nas inflorescências submetidas à autopolinização espontânea. As flores submetidas à geitogamia produziram dois frutos, sendo um deles pouco desenvolvido em relação aos demais da mesma infrutescência e, nas de polinização cruzada, doze frutos foram formados. Percebeu-se a infestação de ácaros, especialmente nas flores manipuladas, o que pode ter prejudicado o seu desenvolvimento normal. Além disso, devido à forma da flor e disposição dos verticilos reprodutivos, podem ter ocorrido algumas lesões acidentais, durante a emasculação.

Das trinta infrutescências polinizadas naturalmente, observou-se média de 24,31% ($\pm 14,70$; 2,60 – 58,00) de flores abortadas em cerca de 58,10 ($\pm 14,58$; 39 – 93) flores por planta. Houve produção média de 41,33 ($\pm 15,89$; 16 – 79) frutos normais por planta e 2,90 ($\pm 3,76$; 0 – 18) frutos atrofiados, com uma a duas sementes. Nos trezentos frutos amostrados, o número médio de sementes por fruto foi de 10,25 ($\pm 6,03$; 1 – 25), sendo 24,68% de sementes pequenas, 74,12% de sementes médias e 1,20% de sementes grandes, totalizando 3.076 sementes.

Nas áreas de estudo não foram observadas plantas novas, originadas de germinação de sementes, naturalmente dispersas no campo. Contudo, em busca mais extensiva, localizaram-se três plantas, próximas entre si, entre as áreas 1 e 2 e, uma planta isolada, próxima à área 1.

3.3.5 Germinação de sementes

Quando da instalação do teste de germinação, as sementes apresentaram média de 10,72% de teor de água na base úmida e, em quatro repetições de cinquenta sementes, apresentaram média de 0,7088 g de massa de matéria fresca e 0,6328 g de massa de matéria seca. Ao final do experimento, as sementes apresentaram alto percentual de germinação, com média de 98,13% nos dois tratamentos. A germinação no escuro apresentou índice de velocidade de germinação (IVG) significativamente superior à germinação no claro (Tabela 3.5). As plântulas originadas da germinação no escuro encontraram-se bastante estioladas e de coloração clara, com diferença estatística significativa quanto à massa de matéria fresca, sendo superior a das plântulas originadas de germinação no claro. Já, a massa de matéria seca foi inferior, embora não tenha apresentado diferença estatística significativa. Isto já era esperado, visto que, no escuro, as plântulas absorvem maior volume de água e gastam energia metabólica, com consumo das reservas da semente, para a formação de células e seu alongamento (Taiz & Zeiger, 2004).

Tabela 3.5. Efeito da luz sobre o percentual de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes médias e teor de matéria fresca (MF) e seca (MS) de plântulas de *Bromélia reversacantha* Mez, em ambiente controlado, sob temperatura constante de 30°C ± 2. ⁽¹⁾ Goiânia, UFG, 2008.

Tratamento	G (%)	IVG	MF (g)	MS (g)
Claro	98,25 a	3,8077 b	0,0813 b	0,0105 a
Escuro	98,00 a	4,3786 a	0,0938 a	0,0092 a

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O percentual de germinação foi superior aos valores encontrados em várias espécies da subfamília Bromelioideae. Em sementes de *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb., Anacleto et al. (2008), testando diversos substratos, obtiveram taxas de germinação de 79% em serrapilheira e 78% em pó de xaxim, diferindo estatisticamente dos demais substratos testados. Pinheiro & Borghetti (2003), testando luz e temperatura para germinação de sementes de *Ae. nudicaulis* (L.) Grieseb. e *Streptocalyz floribundus*, obtiveram as maiores taxas, em torno de 90%, sendo que sementes de *Ae. nudicaulis* não germinaram no escuro. Santos et al. (2004) testaram a germinação de sementes de 45 matrizes de *Bromelia antiacantha* Bertol. e obtiveram ao final do experimento, aos 65 dias após a semeadura, taxa média geral de 79,74 % de germinação, variando de 55,5% a 94,5% entre as matrizes avaliadas.

3.4 CONCLUSÕES

Bromelia reversacantha Mez ocorre naturalmente em solos com pH ácido, muito baixo teor de fósforo, baixa saturação por bases e elevada saturação por alumínio.

Em condições naturais, plantas adultas de *B. reversacantha* apresentam reduzido incremento anual em seu crescimento, que é diretamente influenciado pela precipitação pluvial e temperatura.

B. reversacantha apresenta pico de floração nos meses de junho e julho, cujas inflorescências apresentam duração de uma a duas semanas.

O sistema reprodutivo é tipicamente alogâmico, com a formação de grande quantidade de frutos e elevado número de sementes viáveis.

São raras as observações de plantas propagadas sexuadamente, pela germinação de sementes dispersas naturalmente, enquanto a propagação vegetativa, por brotações laterais, ocorre ao longo de quase todo o ano.

4 CULTIVO *IN VITRO* DE *Bromelia reversacantha* MEZ (BROMELIACEAE)

RESUMO

A falta de informações básicas sobre espécies de bromélias do Cerrado é preocupante face a crescente e contínua destruição de seu habitat. Muitas destas espécies possuem alto potencial ornamental e entre elas destaca-se a *Bromelia reversacantha* por suas belas folhagens e pelo colorido de sua inflorescência. Espécie terrestre, característica de Cerrado Rupestre, cresce em solos arenosos, secos e à meia-sombra. Entretanto, para uma exploração racional da espécie, são necessários estudos sobre seu comportamento em condições de cultivo e protocolos de propagação, destacando-se a propagação *in vitro*. Técnicas de micropropagação proporcionam grande quantidade de mudas uniformes, de alta qualidade, evitando o extrativismo predatório e preservando a espécie tanto *in situ* quanto *ex situ*. Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade morfogênica e propagativa *in vitro* de *B. reversacantha*, contribuindo para um futuro programa de melhoramento genético da espécie. Sementes de *B. reversacantha* foram coletadas na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, localizada na Serra Dourada, município de Mossâmedes – GO. A germinação ocorreu em placas de petri, e as plântulas obtidas foram submetidas à desinfestação e usadas como explantes em dois experimentos. No experimento 1, o meio utilizado foi o MS, suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 0,1 g.L⁻¹ de mio-inositol e 6,0 g.L⁻¹ de ágar, além do fitorregulador ANA em três tratamentos: T1: sem fitorregulador; T2: 1 mg.L⁻¹; T3: 2 mg.L⁻¹. O pH do meio foi ajustado para 5,8 e o meio autoclavado por 20 minutos a 121°C. Após 300 dias em cultivo, o tratamento com 2 mg.L⁻¹ de ANA promoveu maior taxa de multiplicação *in vitro* pela indução de gemas adventícias em plântulas de *B. reversacantha*. As mesmas condições do experimento 1 foram seguidas no experimento 2, porém, os tratamentos envolviam combinações dos fitorreguladores BAP e ANA, em três tratamentos: T1: 2 mg.L⁻¹ de BAP, 0 mg.L⁻¹ de ANA; T2: 2 mg.L⁻¹ de BAP, 1 mg.L⁻¹ de ANA; T3: 2 mg.L⁻¹ de BAP, 2 mg.L⁻¹ de ANA. Ao final do primeiro subcultivo, aos 150 dias, os três tratamentos apresentaram a formação de calos na base dos explantes, com desenvolvimento de gemas adventícias. Após 260 dias

em cultivo, a combinação de 2 mg.L⁻¹ de BAP com 1 mg.L⁻¹ de ANA promoveu elevada taxa de multiplicação, via organogênese indireta. Estes resultados indicam que a espécie adapta-se bem às condições de cultivo *in vitro* produzindo grande quantidade de mudas em pouco tempo.

Palavras-chave: Bromélias, Cerrado, propagação *in vitro*.

ABSTRACT

The lack of basic information on bromeliads species of the Cerrado is worrying due to the increasing and continuous destruction of its habitat. Many of these species have high ornamental potential and among them, it highlights *Bromelia reversacantha* for its beautiful foliage and the coloring of its inflorescence. Terrestrial species, characteristic of Cerrado Rupestre, grows in sand, dry soil and semi-shade environment. However, for a rational exploration of the species, studies are necessary on its behavior in *ex situ* conditions and protocols of propagation, being distinguished *in vitro* propagation. Techniques of micropropagation provide great amount of plantlets uniform, of high quality, preventing the predatory exploitation and preserving the species as much *in situ* as *ex situ*. This study had as objective to evaluate the morphogenetic and propagative capacity *in vitro* of *B. reversacantha*, contributing for a future genetic improvement program of this species. Seeds of *B. reversacantha* were collected at Biological Reserve Prof. Jose Ângelo Rizzo, located in Serra Dourada, city of Mossamedes, Goiás state. The germination occurred in Petri plates, and obtained plantlets were subjected to disinfection and used as explants in two experiments. In experiment 1, the culture medium used was the MS, supplemented with 30 g.L⁻¹ of saccharose and 0.1 g.L⁻¹ of inositol and 6 g.L⁻¹ of agar, beyond the growth-regulator NAA in three treatments: T1: growth-regulator free; T2: 1 mg.L⁻¹; T3: 2 mg.L⁻¹. pH medium was adjusted for 5.8 and this was autoclaved per 20 minutes 121°C. After 300 days in culture, the treatment with 2 mg.L⁻¹ de ANA promoted greater rate of multiplication *in vitro* for the adventitious shoots induction in plantlets of *B. reversacantha*. The same conditions of experiment 1 had been followed in experiment 2, however, the treatments involved combinations of the growth-regulators BAP and NAA, in three treatments: T1: BAP at 2 mg.L⁻¹ and NAA free; T2: BAP at 2 mg.L⁻¹, NAA 1 mg.L⁻¹; T3: BAP at 2 mg.L⁻¹, NAA at

2 mg.L⁻¹. To the end of the first subculture, at 150 days, the three treatments had presented the formation of *callus* in the base of the explants, with adventitious shoots development. After 260 days in culture, the combination of 2 mg.L⁻¹BAP with 1 mg.L⁻¹NAA promoted high rate of multiplication, by indirect organogenesis. These results indicate that the species well adapt to the *in vitro* culture conditions producing great amount of plantlets in short time.

Key words: Bromeliads, Cerrado, *in vitro* propagation.

4.1 INTRODUÇÃO

Dentre as diversas famílias botânicas encontradas no bioma Cerrado, as bromeliáceas formam um grupo que compõem o estrato herbáceo. Essa família é subdividida em três subfamílias: Bromelioideae, Tillandsioideae e Pitcairnioideae; sendo que esta última contém a maioria das espécies presentes nos cerrados, pertencentes principalmente ao gênero *Dyckia* (Carneiro, 2002). Entretanto, os conhecimentos sobre as espécies desta família são escassos, exigindo maiores esforços para sua preservação e exploração, uma vez que as áreas recrutadas para agricultura e pecuária têm avançado rapidamente sobre áreas com vegetação nativa.

As bromélias são importantes para o homem devido ao potencial de uso como planta medicinal, alimentar, ornamental e para a produção de fibras. Apesar de espécies nativas do Cerrado serem pouco exploradas para finalidades ornamentais, estas apresentam grandes potencialidades, conforme relatado por Carneiro (2002). Entre as espécies com potencial ornamental e de interesse para estudos detalhados, destaca-se a *Bromelia reversachanta* pela sua beleza estética, tanto de suas folhagens, como de sua inflorescência, as quais possibilitam múltiplos usos no paisagismo. Trata-se de espécie terrestre, característica de Cerrado Rupestre, crescendo em solos arenosos, secos e à meia-sombra. Esta espécie foi descrita pela primeira vez em 1891 (Mez, 1891). Porém, desde sua descrição, nenhuma informação a seu respeito foi publicada.

Entretanto, para exploração racional da espécie, visando sua utilização em larga escala, são necessários maiores conhecimentos de suas características, fenologia, comportamento em condições de cultivo e condições de propagação, destacando-se a propagação *in vitro*. Nos últimos quarenta anos, as técnicas de cultura de tecidos vegetais *in*

*vitro*se constituíram em um importante conjunto de tecnologias em todas as áreas da biologia vegetal, auxiliando na compreensão dos processos da biologia do desenvolvimento e para a utilização e conservação dos recursos genéticos vegetais (Withers & Williams, 1998). A aplicabilidade das técnicas de cultura de tecidos associadas à micropropagação relaciona-se principalmente com a obtenção de mudas uniformes, de alta qualidade e livres de doenças, permitindo multiplicação rápida e geneticamente confiável, preservação e propagação de espécies ameaçadas de extinção.

Uma das principais vantagens da micropropagação é a maior rapidez regenerativa em relação a outros métodos de propagação vegetativa convencionalmente utilizados, facilitando a propagação onde as tecnologias convencionais são difíceis ou até mesmo impossíveis de serem realizadas (George & Debergh, 2008).

Nas bromélias, a propagação clonal por divisão natural de brotações laterais é de baixa frequência, originando poucos afilhos/planta/ano; já, a propagação por meio da cultura de tecidos apresenta muitas vantagens, proporcionando o desenvolvimento de protocolos para a conservação do germoplasma e para a micropropagação massal que podem ser utilizados em escala comercial, diminuindo a pressão de extração destas espécies do seu *habitat* natural.

Diversos estudos têm mostrado a obtenção de protocolos de micropropagação bem estabelecidos para várias espécies de bromélias nativas do Brasil, como os estabelecidos para *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms (Naves et al., 2003), *Ananas erectifolius* L.B. Smith (Santos et al., 2005), *Dyckia maritima* Baker (Silva et al., 2005), *Vriesea gigantea* e *V. philippocoburgii* (Droste et al., 2005), *Ananas lucidus* Miller (Oliveira et al., 2007) e para o abacaxi *Ananas comosus* L. (Moreira et al., 1999; Macedo et al., 2003; Santos et al., 2007; Tamaki et al., 2007). Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade morfogênética e propagativa *in vitro* de *B. reversacantha*, como contribuição a um futuro programa de melhoramento genético da espécie e ao desenvolvimento de protocolos para sua propagação em escala comercial.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. As sementes de *B. reversacantha*, que deram origem aos explantes utilizados, foram extraídas de frutos coletados na Reserva Biológica Prof. José Ângelo Rizzo, Serra Dourada, município de

Mossâmedes-GO, em setembro de 2007. Logo após a colheita, os frutos foram espremidos em peneira fina e as sementes lavadas em água corrente, para a retirada da mucilagem. As sementes foram colocadas sobre folhas de papel e postas para secar à sombra, em temperatura ambiente, por uma semana e, logo após, acondicionadas, em frascos de vidro com tampa, até a semeadura.

Para avaliar a resposta da espécie ao fitorregulador ácido naftaleno acético (ANA) e este em combinação com 6-benzilaminopurina (BAP), foram efetuados dois experimentos.

4.2.1 Multiplicação com ANA

Os explantes de *B. reversacantha* foram obtidos de plântulas com 2-3 cm de comprimento, aos 45 dias após a semeadura em placa de petri, sobre papel toalha umedecido, sob temperatura ambiente e iluminação natural indireta (luz difusa).

As plântulas foram submetidas à desinfestação em câmara de fluxo laminar, sendo imersas em álcool 70% por um minuto, depois enxaguadas em água destilada autoclavada. Em seguida, foram imersas em hipoclorito de sódio 2% por dez minutos e enxaguadas em água destilada autoclavada por cinco vezes, sob agitação manual.

Plântulas com uma folha foram utilizadas como explantes, tendo sido excisadas as raízes e resquícios de sementes. O meio utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 0,1 g.L⁻¹ de inositol e 6,0 g.L⁻¹ de ágar, além do fitorregulador ANA em diferentes concentrações, estabelecendo-se assim, três tratamentos: T1: sem fitorregulador; T2: 1 mg.L⁻¹ de ANA; T3: 2 mg.L⁻¹ de ANA. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da adição de ágar. O meio foi autoclavado por 20 minutos a 121°C.

A cultura foi estabelecida em tubos de ensaio de 2,5 cm x 16 cm, contendo 20 mL do meio de cultura e mantidas no escuro por 75 dias, em sala de crescimento, sob temperatura de 25°C ± 1. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e quinze repetições, com um explante por tubo.

A partir da primeira repicagem, foram utilizados frascos com capacidade para 400 mL, com 40 mL do meio de cultura, sendo as culturas mantidas em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 1°C. A cada repicagem, foram excisadas as folhas e raízes e efetuadas as possíveis individualizações de brotos e conjuntos de gemas adventícias. Os brotos foram subcultivados aos 75 e 175 dias, mantendo-se as concentrações de fitorreguladores. Aos 255 dias, o fitorregulador foi

suprimido visando a preparação das brotações para a avaliação e aclimatização, efetuando-se a individualização de todas as plantas.

A cada repicagem, foram avaliados o número total de brotos gerados e de plantas desenvolvidas e, ao final do experimento, aos 315 dias, procedeu-se à avaliação final, determinando-se o número de brotos e massa de matéria fresca acumulada por repetição e o número de plantas aptas à aclimatização; para estas últimas, foram determinadas classes independentes para as variáveis comprimento da parte aérea, número de folhas, comprimento da maior raiz e número de raízes, considerado-se o número de ocorrências em cada classe.

Os dados de contagem foram transformados para $\sqrt{X + 0,5}$ (Zimmermann, 2004). As análises estatísticas foram efetuadas utilizando-se o aplicativo Genes (Cruz, 2006), sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após as avaliações, as mudas foram transplantadas para bandejas de isopor de 128 células, utilizando-se uma mistura do substrato comercial Plantmax HT e vermiculita expandida, na proporção de 3:1. A aclimatização foi efetuada em casa de vegetação, com 50% de sombreamento. A irrigação foi diária, mantendo-se o substrato sempre úmido. Ao final de 45 dias procedeu-se a avaliação do percentual de sobrevivência de plantas.

4.3.2 Multiplicação com BAP e ANA

Os explantes de *B. reversacantha* foram obtidos de plântulas com 2-3 cm de altura, germinadas *in vitro*. Para a germinação, as sementes foram postas sob embebição, por três horas, em água mineral autoclavada, antes de serem submetidas à desinfestação. Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram imersas em álcool 70% por um minuto e enxaguadas em água destilada autoclavada; logo após, em hipoclorito de sódio 2% por dez minutos e enxaguadas em água destilada autoclavada por cinco vezes, sob agitação manual. Em seguida, foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 20 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962). As culturas foram mantidas no escuro por quarenta dias, e após, sob fotoperíodo de 16 horas a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. Aos sessenta dias, as plântulas foram retiradas dos tubos e utilizadas como fonte de explantes.

Foram utilizados como explantes os eixos caulinares das plântulas, sendo excisadas as folhas, raízes e resquícios de sementes. O meio utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 30 mg.L^{-1} de sacarose; $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de inositol e 6 g.L^{-1}

¹de ágar, além de combinações dos fitorreguladores BAP e ANA, em diferentes concentrações, estabelecendo-se assim, três tratamentos: T1: 2mg.L⁻¹ de BAP, 0 mg.L⁻¹ de ANA; T2: 2 mg.L⁻¹ de BAP, 1 mg.L⁻¹ de ANA; T3: 2 mg.L⁻¹ de BAP, 2 mg.L⁻¹ de ANA . O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da adição de ágar. O meio foi autoclavado por 20 minutos a 121°C.

A cultura foi estabelecida em tubos de ensaio de 2,5 cm x 16 cm, contendo 20 mL do meio de cultura e mantidas sob fotoperíodo de 16 horas à temperatura de 25°C ± 1. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e vinte repetições, com um explante por tubo.

Aos 150 dias de cultura, procedeu-se a repicagem e transferência dos explantes para frascos com capacidade para 400 mL, com 40 mL do meio de cultura MS, sem adição de fitorreguladores. Foram efetuadas as possíveis individualizações de plantas e brotos e o fracionamento das massas de gemas adventícias. Com o objetivo de identificar o processo propagativo, também foi efetuada análise histológica amostral em explantes excedentes, produzidos nas mesmas condições deste experimento.

As amostras foram fixadas em FAA₇₀ (álcool etílico a 70%, ácido acético e formol) por um período de 24 horas e posteriormente armazenadas em álcool etílico 70%. A confecção das lâminas histológicas foi realizada a partir de secções transversais, à mão livre. As secções foram clarificadas com hipoclorito de sódio a 6%, lavadas em água destilada e em seguida submetidas à dupla coloração com fucsina básica 0,1% e azul de Astra 0,3% na proporção 1:3, sendo posteriormente montadas entre lamina e lamínula utilizando-se glicerina a 50% (Johansen, 1940).As preparações foram efetuadas no Laboratório de Anatomia Vegetal e, as fotomicrografias referentes às estruturas anatômicas foram efetuadas em microscópio estereoscópio e fotomicroscópio Leica DM2000, do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Goiás. As escalas encontram-se registradas nas fotos.

Ao final do primeiro subcultivo, avaliou-se a responsividade dos explantes, aplicando-se notas de zero a cinco, sendo zero para explantes menos desenvolvidos e cinco para os mais desenvolvidos e com maior quantidade de gemas adventícias. Após 110 dias de cultura sem fitorreguladores, foram avaliados o número de gemas adventícias, brotos jovens e plantas regeneradas; para estas últimas, foram determinadas classes independentes para as variáveis comprimento da parte aérea e número de folhas, considerado-se o número de ocorrências em cada classe. O sistema radicular não foi avaliado por encontrar-se em

conjuntos de plantas e gemas, sem distinção do indivíduo a que pertencia, além de se fragmentar durante o processo de individualização.

Os dados de contagem foram transformados para $\sqrt{X + 0,5}$ (Zimmermann, 2004). As análises estatísticas foram efetuadas utilizando-se o aplicativo Genes (Cruz, 2006), sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Multiplicação com ANA

Inicialmente, o objetivo foi promover o estiolamento caulinar, para posterior indução do desenvolvimento de gemas axilares. Contudo, ao final do primeiro subcultivo observou-se estiolamento de folhas, intumescimento na base das plantas e raízes e surgimento de brotações. A partir do segundo subcultivo, o trabalho foi conduzido no claro, objetivando a propagação vegetativa.

Os explantes cultivados sem o fitorregulador não apresentaram brotação lateral ou quaisquer formas de propagação vegetativa, além de apresentarem somente plantas com duas a três folhas e a maioria das plantas com parte aérea variando de 3 cm a 6 cm.

Os tratamentos suplementados com ANA apresentaram propagação tanto pelo desenvolvimento de gemas axilares, quanto de gemas adventícias originadas por organogênese direta, predominando esta forma de propagação (Figura 4.1). Contudo, observou-se elevada heterogeneidade de resposta dos explantes nos dois tratamentos, provavelmente devido à heterogeneidade do material inicial utilizado (Grattapaglia & Machado, 1998). O surgimento de brotações iniciou-se no subcultivo de estabelecimento, acentuando-se a partir da segunda repicagem. No último subcultivo, mesmo com a supressão do fitorregulador, observou-se ainda o surgimento de novas brotações nos tratamentos T2 e T3, provavelmente devido ao efeito residual do fitorregulador, especialmente no tratamento T3, com maior concentração (Tabela 4.1).

Aos 315 dias de cultivo, o tratamento T3 proporcionou o maior número de plantas aptas à aclimatização e maior massa de matéria fresca acumulada por repetição, diferindo estatisticamente dos demais. Neste tratamento, observaram-se, ainda, os melhores resultados na obtenção de plantas com duas a três folhas, tamanho da parte aérea a partir de 30 mm e sistema radicular com maior número e comprimento de raízes (Tabelas

4.2 e 4.3). O tratamento T1, embora não tenha apresentado diferença estatística significativa entre o tratamento T2, apresentou o menor desempenho quanto ao comprimento da parte aérea e de raízes e ao número de folhas e raízes.



Figura 4.1. Plântulas de *Bromelia reversacantha* Mez aos 175 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ de ANA. UFG, Goiânia, 2009.

Tabela 4.1. Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de plantas (desenvolvidas e brotações jovens) sob cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez, ao final de cada subcultivo ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.

ANA (mg.L ⁻¹)	Subcultivos			
	1	2	3	4
0 (T1)	1,00 a	1,00 b	1,00 c	1,00 c
1 (T2)	1,40 a	6,13 a	10,27 b	12,47 b
2 (T3)	1,80 a	12,60 a	25,80 a	34,40 a
CV ⁽²⁾	16,21	57,55	66,71	74,55

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

⁽²⁾ Coeficiente de Variação relativo aos dados transformados para $\sqrt{X+0,5}$.

Tabela 4.2. Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de brotos jovens (NB), número de plantas aptas à aclimatização (NP) e massa de matéria fresca acumulada por repetição (MF), após 315 dias de cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.

ANA(mg.L ⁻¹)	NB	NP	MF
0 (T1)	0,00 b	1,00 b	0,33 b
1 (T2)	2,67 ab	9,80 b	3,82 b
2 (T3)	5,93 a	28,47 a	9,87 a

CV ⁽²⁾	83,43	68,95	126,12
-------------------	-------	-------	--------

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

⁽²⁾ Coeficiente de Variação relativo aos dados transformados para $\sqrt{X+0,5}$.

Tabela 4.3. Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de plantas com comprimento da parte aérea de 16–30 mm (PP), de 31–60 mm (PM) e acima de 60 mm (PG) e número de plantas com uma folha (1F), duas a três folhas (2–3F) e acima de três folhas (4F), aos 315 dias de cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.

ANA (mg.L ⁻¹)	Comprimento parte aérea			Número de folhas		
	PP	PM	PG	1F	2–3F	4F
0 (T1)	0,13 b	0,73 b	0,13 b	0,00 b	1,00 b	0,00 a
1 (T2)	2,00 ab	5,53 ab	2,27 b	0,40 ab	7,93 b	1,47 a
2 (T3)	4,13 a	15,20 a	9,13 a	1,47 a	25,60 a	1,40 a
CV ⁽²⁾	62,90	75,75	54,27	51,57	69,27	61,83

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

⁽²⁾ Coeficiente de variação relativo aos dados transformados para $\sqrt{X+0,5}$.

O sistema radicular esteve presente em todos os subcultivos, independentemente da concentração do fitorregulador. Inicialmente as raízes apresentavam-se intumescidas e bastante pilosas. O último subcultivo, sem fitorregulador, foi eficiente para promover o enraizamento dos explantes em todos os tratamentos (Tabela 4.4). Macedo et al. (2003) promoveram o enraizamento de explantes de abacaxizeiro cv. Pérola em meio MS sem reguladores de crescimento, obtendo maior número médio de raízes em explantes oriundos de tratamentos com concentrações de BAP e ANA de 0,5 + 0,25 mg.L⁻¹ e 0,25 + 0,12 mg.L⁻¹, respectivamente.

Aos 45 dias de aclimatização, as mudas apresentaram 100% de sobrevivência, independentemente do tratamento. Contudo, as plantas oriundas do tratamento T3 (2,0 mg.L⁻¹ ANA) mostraram-se mais vigorosas.

Tabela 4.4. Efeito de diferentes concentrações de ANA no número de plantas com comprimento da maior raiz até 5 mm (RC), de 6–20 mm (RM) e maiores que 21 mm (RL) e número de plantas com uma raiz (1R), duas a três raízes (2–3R) e acima de três raízes (4R), aos 315 dias de cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.

ANA (mg.L ⁻¹)	Comprimento de raízes			Número de raízes		
	RC	RM	RL	1R	2-3R	4R
0 (T1)	0,00 a	0,73 b	0,27 b	0,00 b	0,47 b	0,53 b
1 (T2)	1,20 a	5,80 ab	2,80 b	0,33 b	5,67 ab	3,80 b

2 (T3)	1,07 a	13,00 a	14,40 a	2,00 a	15,20 a	11,27 a
CV ⁽²⁾	53,70	76,76	66,09	55,74	75,66	61,35

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

⁽²⁾ Coeficiente de variação relativo aos dados transformados para $\sqrt{X+0,5}$.

4.3.2 Multiplicação com BAP e ANA

Ao final do primeiro subcultivo, aos 150 dias, os três tratamentos apresentaram formação de calos na base dos explantes (Figura 4.2), evidenciados pela análise histológica. Os explantes apresentaram aumento de volume, com proliferação de tecido parenquimático, característico de calos (George, 2008), evidenciado pela expressiva presença de células indiferenciadas e com paredes primárias (Figura 4.3). A concentração de $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP, isolado ou em combinação com ANA, foi eficiente para formação desses calos e para a indução e proliferação de gemas adventícias. Contudo, foram observadas diferentes respostas dentro dos tratamentos e, também entre os tratamentos, em relação às concentrações de ANA, quando combinados (Figura 4.4).



Figura 4.2. Calos e gemas adventícias em explantes de *Bromelia reversacantha* Mez aos 150 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS suplementado com 2 mg.L^{-1} BAP e 1 mg.L^{-1} de ANA. UFG, Goiânia, 2009.

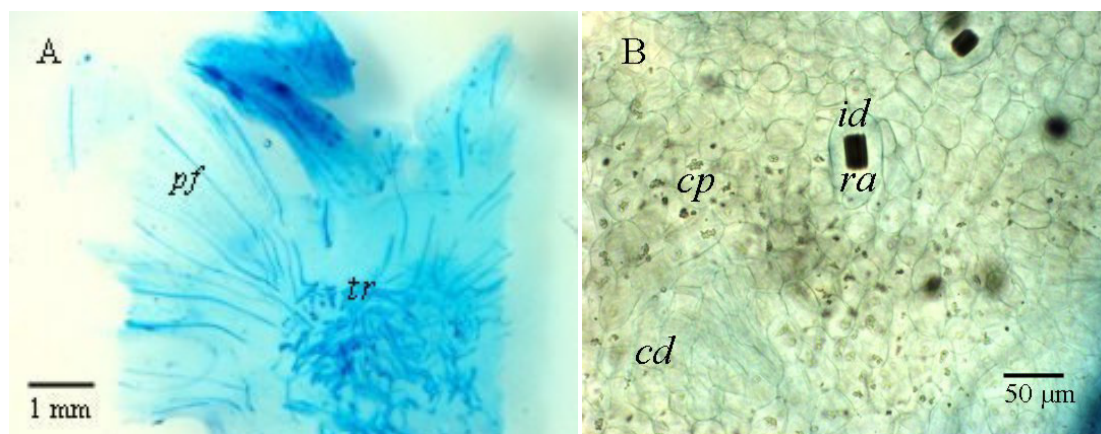


Figura 4.3. Cortes transversais de explantes de *Bromelia reversacantha* Mez, aos 150 dias de cultivo *in vitro*, em meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ BAP e 1 mg.L⁻¹ ANA. A) Vista geral (pf: primórdio foliar; tr: traqueídeos); B) Detalhe evidenciando células parenquimáticas com paredes delgadas (cp), células em divisão (cd) e idioblasto (id) com ráfide (ra). UFG, Goiânia, 2009.

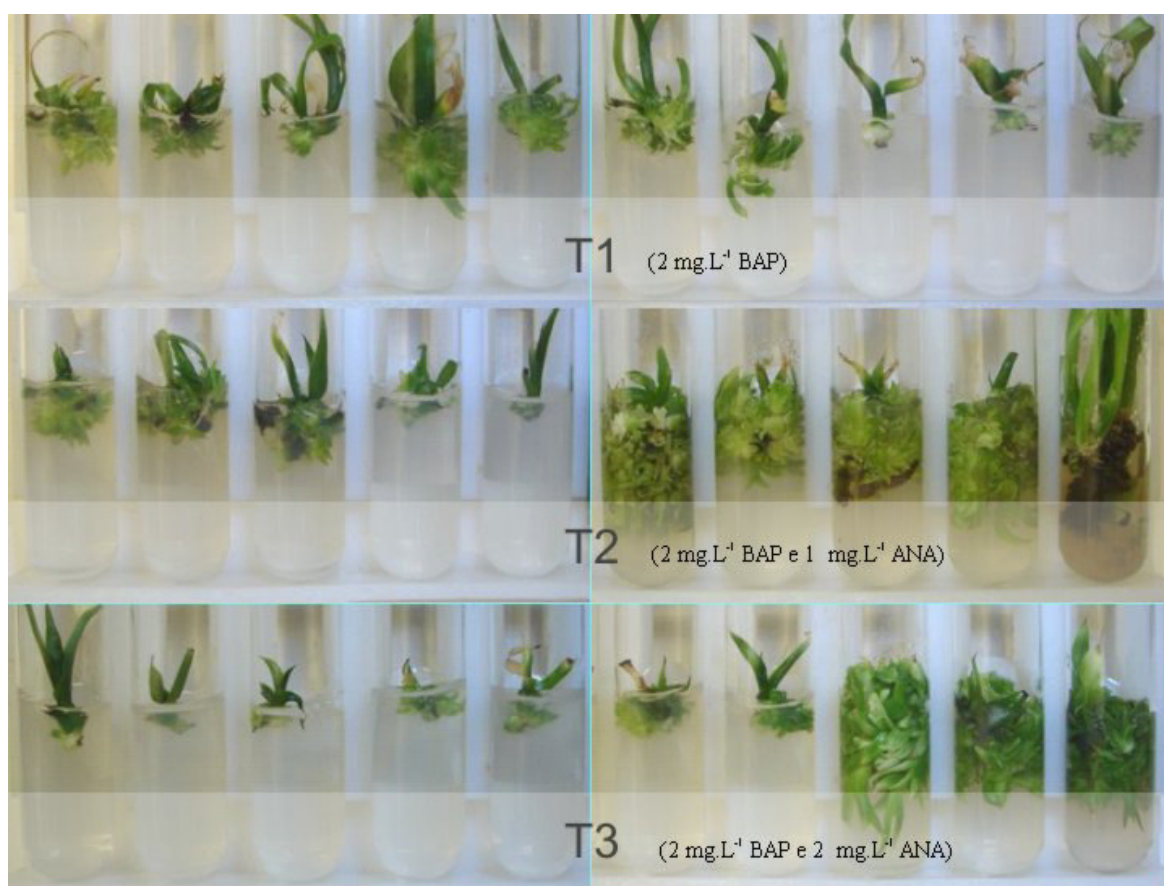


Figura 4.4. Explantes de *Bromelia reversacantha* Mez, aos 150 dias de cultivo *in vitro*, sob diferentes concentrações de BAP e ANA, onde observam-se diferentes respostas dentro dos tratamentos. UFG, Goiânia, 2009.

Moreira et al. (1999) observaram a expressiva presença de calos em explantes de abacaxizeiro cv. Pérola, sob cultivo para a indução ao estiolamento *in vitro*, quando cultivados em meio MS suplementado com 1,8 mg.L⁻¹ de ANA e 2,0 mg.L⁻¹ de BAP. Santos et al. (2007) relataram que, com o aumento das concentrações desses fitorreguladores na multiplicação de brotos em seções caulinares de abacaxizeiro cv. Imperial, ocorreu a formação de massas de gemas por nó, indicando a formação de gemas adventícias e proporcionando incremento nas taxas de multiplicação. Utilizando a concentração de 2,0 mg.L⁻¹ de BAP e 1,86 mg.L⁻¹ de ANA, esses autores observaram incremento de aproximadamente 68% na taxa de multiplicação média por nó, em relação aos valores obtidos com a metade da concentração desses fitorreguladores.

A responsividade dos explantes foi mais acentuada na combinação com 1,0 mg.L⁻¹ de ANA ($p = 0,0161$), não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. O desenvolvimento de gemas dispostas em grupamentos não ocorreu de maneira homogênea em nenhum dos tratamentos, sendo encontrados, no mesmo agrupamento, diversos comprimentos de brotos, demonstrando que continuavam a se multiplicar. As diferentes respostas dos explantes provavelmente devem-se à variabilidade genética do material utilizado (Grattapaglia & Machado, 1998), pois, além de a espécie ser nativa e alógama, foram utilizadas sementes de diversas matrizes.

Ao final do experimento, aos 260 dias de cultivo, o tratamento T2, originado da combinação de 2,0 mg.L⁻¹ de BAP e 1,0 mg.L⁻¹ de ANA, proporcionou os melhores resultados em todas as variáveis (Tabelas 4.5 e 4.6), observando-se, ainda, a formação de novas gemas adventícias.

Tabela 4.5. Efeito de diferentes combinações de ANA e BAP no número de gemas adventícias, brotos e plantas regeneradas, aos 260 dias de cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.

BAP-ANA (mg.L ⁻¹)	Gemas adventícias	Brotos	Plantas
2-0 (T1)	21,15 b	8,85 b	7,90 b
2-1 (T2)	113,20 a	35,55 a	57,15 a
2-2 (T3)	47,90 b	13,40 b	25,05 b
CV ⁽²⁾	74,92	68,24	56,93

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

⁽²⁾ Coeficiente de Variação relativo aos dados transformados para $\sqrt{X+0,5}$.

Tabela 4.6. Efeito de diferentes combinações ANA e BAP no número de plantas com comprimento de 16-30 mm (PP), 31-60 mm (PM) e acima de 60 mm (PG) e com uma folha (1F), duas a três folhas (2-3F) e acima de três folhas (4F), aos 260 dias de cultivo *in vitro* de *Bromelia reversacantha* Mez ⁽¹⁾. UFG, Goiânia, 2009.

BAP-ANA (mg.L ⁻¹)	Comprimento parte aérea			Número de folhas		
	PP	PM	PG	1F	2-3F	4F
2-0 (T1)	3,35 b	2,10 b	2,45 b	3,90 b	3,20 b	0,80 a
2-1 (T2)	29,35 a	18,60 a	9,20 a	42,42 a	12,10 a	2,85 a
2-2 (T3)	12,25 b	8,40 b	4,40 b	16,45 b	6,05 ab	2,55 a
CV ⁽²⁾	71,88	60,88	63,90	75,06	60,51	55,40

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

⁽²⁾ Coeficiente de Variação relativo aos dados transformados para $\sqrt{X + 0,5}$.

Foi observada elevada quantidade de gemas adventícias não desenvolvidas, indicando a necessidade de mais um ou dois subcultivos para melhor expressão do potencial propagativo da espécie, em relação aos tratamentos ora aplicados. Santos-Serejo et al. (2006) citam o efeito residual de citocinina como provável fator limitante na etapa de alongamento e enraizamento de brotos, sendo necessária uma fase intermediária de desintoxicação da cultura antes da individualização de plantas para enraizamento. Neste trabalho, o efeito residual da citocinina não foi limitante ao enraizamento, contudo, a continuidade de novas brotações, bem como a dificuldade de individualização de brotos, evidenciaram esse efeito.

Macedo et al. (2003) obtiveram a maior taxa média de regeneração de brotos e maior produção de matéria fresca de abacaxizeiro cv. Pérola, *in vitro*, utilizando a combinação de 1,0 mg.L⁻¹ de BAP com 0,5 mg.L⁻¹ de ANA, apresentando, também, melhor desenvolvimento *ex-vitro* sob cultivo hidropônico. Menores concentrações desses fitorreguladores proporcionaram maior alongamento dos brotos e facilitaram a individualização.

4.4 CONCLUSÕES

Plântulas de *Bromelia reversacantha* adaptam-se bem às condições de cultivo *in vitro*.

O fitorregulador ANA, na concentração de 2 mg.L⁻¹, promove maior taxa de multiplicação *in vitro* pela indução e desenvolvimento de gemas adventícias.

A combinação de 2 mg.L⁻¹ de BAP com 1 mg.L⁻¹ de ANA promove elevada taxa de multiplicação, via organogênese indireta.

B. reversacantha apresenta 100% de sobrevivência *ex vitro* na fase de aclimatização.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Bromelia reversacantha Mez ocorre naturalmente em solos ácidos, arenosos, com alto teor de alumínio e nutricionalmente pobres.

Apresenta crescimento lento, sendo o período chuvoso mais favorável ao seu desenvolvimento.

O pico de floração ocorre nos meses de junho e julho, com posterior formação de grande quantidade de frutos e sementes.

Sementes de *B. reversacantha* apresentam elevada taxa de germinação sob condições controladas.

Em seu *habitat*, *B. reversacantha* apresenta maior frequência de propagação vegetativa, por brotações laterais, sendo raros os registros de plantas originadas por sementes.

Sob cultivo *in vitro*, *B. reversacantha* apresenta elevada taxa de multiplicação, via organogênese direta, pelo desenvolvimento de gemas axilares e indução de gemas adventícias, com o uso do fitorregulador ANA, na concentração de 2 mg.L⁻¹, e via indireta, pela formação de calos e desenvolvimento de gemas adventícias, com a combinação de 2 mg.L⁻¹ de BAP e 1 mg.L⁻¹ de ANA.

B. reversacantha apresenta alta taxa de sobrevivência *ex vitro* na fase de aclimatização, sem demandar maiores cuidados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L.M.S.; MACHADO, R.B.; MARINHO-FILHO, J. A diversidade biológica do Cerrado. In: AGUIAR, L.M.S.; MACHADO, R.B. (Ed.) **Cerrado: ecologia e caracterização**. Planaltina: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2004. p. 17-40.

AMORIM, A.M.; LEME, E.M.C. Two new species of *Quesnelia* (Bromeliaceae: Bromelioideae) from the Atlantic Rainforest of Bahia, Brazil. **Brittonia**, New York, v. 61, n. 1, p. 14–21, mar. 2009.

ANACLETO, A.; NEGRELLE, R.R.B.; KOEHLER, H.S. Germinação de *Aechmeanudicaulis* (L.) Griseb. (Bromeliaceae) em diferentes substratos alternativos ao pó de xaxim. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 73-79, 2008.

ANDRADE, F.A.A. de; DEMATTÊ, M.E.S.P. Estudo sobre a produção e comercialização de bromélias nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 5, n. 2, p. 97-110, 1999.

ANGELY, J. **Dicionário de botânica**. 2.ed. Curitiba: Phytton, 1959. 403 p.

APG II (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APGII. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.141, n.4, p.399-436, 2003.

BENZING, D.H. **The biology of the bromeliads**. California, EUA: Mad River Press, 1980. 305 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992, 365 p.

CARNEIRO, M.F. **Caracterização e aproveitamento ornamental de espécies da família Bromeliaceae do Estado de Goiás**. 2002. 115 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2002.

CLEMENT, C. R. Melhoria de espécies nativas. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos & melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária do Mato Grosso, 2001. v.1, p. 423-441.

COSTA, A.; FONTOURA, T.; WENDT, T. Bromélias do Rio de Janeiro. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.9, n.49, p.8-9, 1988.

CRUZ, C.D. **Programa Genes**: estatística experimental e matrizes. UFV: Viçosa, 2006. 285 p.

DROSTE, A.; SILVA, A.M.; MATOS, A.V.; ALMEIRA, J.W. In vitro culture of *Vrieseagigantea* and *Vrieseaphilippocoburgii*: two vulnerable bromeliads native to Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48 n. 5, p. 717-722, set. 2005.

EITEN, G. Cerrado vegetation of Brazil. **Botanical Review**, New York, v.38, n.2, p.201-341, abr.- jun. 1972.

FERREIRA, M.E.; CALDAS, L.S.; PEREIRA, E.A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, p. 21-43.

FERREIRA, G.F.; BORGHETTI, F. (Org.) **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FILGUEIRAS, T.S. Herbaceous plant communities. In: OLIVEIRA, P.S.; MARQUIS, R.J. (Ed.) **The Cerrados of Brazil**: ecology and natural history of a neotropical savanna. New York: Columbia University Press, 2002. p. 122-139.

FOURNIER O., L.A. Observaciones fenológicas en el bosque húmedo pré-montano de San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica. **Turrialba**, Costa Rica, v.26, n. 1, p. 54-59, 1976.

GEORGE, E.F.; DEBERGH, P.C. Micropapagation: uses and methods. In: GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; KLERK, G.J. (Ed.) **Plant propagation by tissue culture**: The Background. 3. ed. Dordrecht: Springer, 2008. p. 29-64.

GILMARTIN, A. J. Transandean distributions of Bromeliaceae in Ecuador. **Ecology**, Washington, v. 54, n. 6, p. 1389-1393, nov. 1973.

GIULIETTI, A.M.; MENEZES M.L.; PIRANI, J.R.; WANDERLEY, M.G.L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.9, p.1-151, 1987.

GOOGLE MAPS BRASIL. **Dados Cartográficos** © 2009 Map Link / Tele Atlas. Disponível em: <<http://maps.google.com.br/maps?hl=pt-BR&tab=wl>>. Acesso em: 5 mai. 2009.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, p. 183-260.

IBGE. **Mapa de biomas do Brasil**: primeira aproximação. Ministério do Meio ambiente – Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão/IBGE/Diretoria de Geociências. IBGE,

2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/mapas_ibge/tem.php>. Acesso em: 25 abr. 2009.

IBGE. Área plantada, Área colhida e Produção, por ano da safra e produto. **Sistema IBGE de Recuperação Automática** – SIDRA. IBGE. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&c=1618>>. Atualizado em: mar/2009. Acesso em: 25 abr. 2009.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 5. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1979. 777 p.

LEME, E.M.C.; MARIGO, L.C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Editora Marigo Comunicação Visual, 1993. 183 p.

LOUZADA, R.B.; WANDERLEY, M.G.L. Uma nova espécie de *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) relacionada a *Orthophytum navioides* (L.B. Sm.) L.B. Sm. **Hoehnea**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 405-410, set. 2008.

LUTHER, H.E. Miscellaneous new taxa of Bromeliaceae (XVIII). **Selbyana**, Sarasota, v. 28, n. 1, p. 5-12, mar. 2007.

LUTHER, H.E. **An alphabetical list of bromeliad binomials**. 11. ed. Sarasota: The Marie Selby Botanical Gardens, 2008. 110 p.

MACÊDO, C.E.C.; SILVA, M.G.; NÓBREGA, F.S.; MARTINS, C.P.; BARROSO, P.A.V.; ALLOUFA, M.A.I. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.3, p. 501-504, dez. 2003.

MACHADO, R.B.; RAMOS-NETO, M.B.; PEREIRA, P.G.P.; CALDAS, E.F.; GONÇALVES, D.A.; SANTOS, N.S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Relatório não publicado. Brasília: Conservação Internacional, 2004. 26 p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MALAVOLTA, E.; KLIEMANN, H.J. **Desordens nutricionais no Cerrado**. Piracicaba: POTAFOS, 1985. 136 p.

MANTOVANI, M.; RUSCHEL, A.R.; REIS, M.S.; PUCHALSKI, A.; NODARI, R.O. Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em uma formação secundária da floresta Atlântica. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 451-458, 2003.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E.; FAGG, C.W. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S.M.; ALMEIDA,

S.P.; RIBEIRO, J.F. (Ed.) **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2008. v.2, p. 407-1279.

MEZ, C. Bromeliaeae. In: MARTIUS, C.F.P.; EICHLER, A.G.; URBAN, I. (Ed.) *Enuretatio plantarum de Brasilia hactenus detectarum quas suis aliorumque botanicorum partium icone illustratas*. **Flora Brasiliensis**. v. 3, part. 3, col. 198-199, 1891.

MIRANDA, Z.J.G. **A informação sobre a flora Bromeliaceae do Cerrado: na literatura e nos herbários**. 2001. 264 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Informação) Faculdade de Estudos Sociais Aplicados, Universidade de Brasília, Brasília, 2001.

MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N.; ROBLES-GIL, P.; MITTERMEIER, C.G. (Ed.) **Hotspots: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. Mexico, CEMEX/Agrupación Sierra Madre, 1999. 432 p.

MITTERMEIER, R.A.; GIL, P.R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G.A.B. **Hotspots Revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. Mexico: CEMEX & Agrupacion Sierra Madre, 2004. v. 1. 640 p.

MOREIRA, B.A.; WANDERLEY, M.G.L.; CRUZ-BARROS, M.A.V. **Bromélias: importância e diversidade. Taxonomia e morfologia**. Instituto de Botânica: São Paulo, 2006. Disponível em: <http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/estagio_docencia/BiancaMoreira.pdf> Acesso em: 2 mai. 2009.

MOREIRA, M. A.; ANJOS SOBRINHO, A.; PASQUAL, M. Indução ao estiolamento *in vitro* de brotos de abacaxizeiro cv. Pérola. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v. 5, n. 2, p. 193-197, 1999.

MORELLATO, L.P.C. **Estudo da fenologia de árvores, arbustos e lianas de uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil**. 1991. 176 f. Tese (Doutorado em Biologia: Ecologia)-Universidade de Campinas, Campinas, 1991.

MORELLATO-FONZAR, L.P.C. **Estudo comparativo de fenologia e dinâmica de duas formações florestais na Serra de Japi, Jundiáim SP**. 1987. 232 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Ecologia)-Universidade de Campinas, Campinas, 1987.

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

NAVES, V.C.; PAIVA, P.D. de O.; PAIVA, R.; PASQUAL, M.; PAIVA, L.V. Avaliação de diferentes concentrações dos meios de cultura MS e Knudson para propagação *in vitro* da bromélia-imperial. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n.2, p. 161-166, 2003.

OLIVEIRA, K.T.; BEZERRA-NETO, F.; CÂMARA, F.A.A.; NUNES, G.H.S.; OLIVEIRA, F.A. Propagação *in vitro* da cultura do abacaxizeiro ornamental (*Ananas lucidus* Miller). **Revista Caatinga**, Mossoró, v.20, n.3, p.167-171, jul-set. 2007.

PAULA, C.C.; SILVA, H.M.P. **Cultivo prático de bromélias**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2004. 106 p.

PINHEIRO, F.; BORGHETTI, F. Light and temperature requirements for germination of seeds of *Aechaea nudicaulis* (L.) Griesbach and *Streptocalyx floribundus* (Martius ex Schultes F.) Mez (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 17 n. 1, p. 27-35, jan.-mar. 2003

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

RAMÍREZ-MORILLO, I.M. A new *Hechtia* (Bromeliaceae) from the states of Querétaro and Hidalgo, Mexico, **Acta Botánica Mexicana**, México, v. 85, p. 63-74, 2008.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: GuanabaraKoogan, 2001. 906 p.

REATTO, A.; CORREIA, J.R.; SPERA, S.T.; MARTINS, E.S. Solos do bioma Cerrado: aspectos pedológicos. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. (Ed.) **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2008. v.1, p. 107-149.

RESENDE, M.L.F.; GUIMARÃES, L.L. **Inventários da biodiversidade do bioma Cerrado: biogeografia de plantas**. Rio de Janeiro: IBAMA, 2007. 14 p.

RIBEIRO, R. A.; RODRIGUES, F. M. Genética da conservação em espécies vegetais do Cerrado. **Revista de Ciências Médicas e Biologia**, Salvador, v. 5, n. 3, p.253-260, 2006.

RIBEIRO, J.F.R.; WALTER, B.M.T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. (Ed.) **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2008. v. 1, p. 151-212.

SANTOS, D.S.; PUCHALSKI, A. GOMES, G.S.; MANTOVANI, M.; SILVA, J.Z.; REIS, M.S. Variação no período de germinação de sementes em uma população natural de *Bromelia antiacantha* Bertol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 3, p. 35-41, 2004.

SANTOS, A.S.A.; MACHADO, I.S., LEÃO, A.L.; RAMOS, A.A. Concentrações de BAP e TDZ na propagação *in vitro* de curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith). **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.35, p. 62-65, 2005.

SANTOS, M.C.; BARBOZA, S.B.S.C.; VIEGAS, P.R.A.; COPATI, L.A.S. ; LEDO, A.S.; LEITE, N.S.; SOUSA, R.R. Estimativa da taxa de multiplicação de brotos em seções caulinares de uma nova cultivar de abacaxi, no primeiro ciclo de estiolamento e proliferação de gemas *in vitro*. In: 3º Congresso de Cultura de Tecidos de Plantas, 2007, Goiânia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 13, Suplemento, p. 1037-1040, 2007.

SANTOS-SEREJO, J.A.; JUNGHANS, T.G.; SOARES, T.L.; SILVA, K.M. **Meios nutritivos para micropropagação de plantas**. In: SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G. (Ed.) Introdução à micropropagação de plantas. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical: Cruz das Almas, 2006. p. 11-37.

SILVA, A.L.L.; FRANCO, E.T.H.; BISOGNIN, D.A.; DORNELLES, E.B.; WALTER, J.M. Efeitos do nitrato de amônia na multiplicação e regeneração de gemas laterais de *Dyckia maritima* Baker – Bromeliaceae. Brasil. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 3, p. 369-371, 2005.

SILVA, F.A.M.; ASSAD, E.D.; EVANGELISTA, B.A. Caracterização climática do bioma Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. (Ed.) **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2008. v.1, p. 69-88.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Pitcairnoideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica**. Monograph 14, part 1. New York: Hafner Press, 1974. p. 1-658.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica**. Monograph 14, part 2. New York: Hafner Press, 1977. p. 663-1492.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Bromelioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica**. Monograph 14, part 3. New York: New York Botanical Garden, 1979. p. 1493-2142.

SOUZA, F.V.D.; JUNGHANS, T.G.; SOUZA, A.S.; SANTOS-SEREJO, J.A.; COSTA, M.A.P.C. Micropropagação. In: SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G. (Ed.) **Introdução à micropropagação de plantas**. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical: Cruz das Almas, 2006. p.38-52.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 719 p.

TAMAKI, V.; MERCIER, H.; NIEVOLA, C.C. Cultivo *in vitro* de clones de *Ananas comosus* (L.) Merrill cultivar 'Smooth Cayenne' em diferentes concentrações de macronutrientes. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 67-73, mar. 2007.

THOMAS, G.W. The relationship between organic matter content and exchangeable aluminum in acid soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 39, p.591, 1975.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; FERREIRA, A.T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA SPI, 1998. v. 1, p. 11-20.

VERSIEUX, L.M.; LEME, E.M.C. A new lithophytic *Orthophytum* (Bromeliaceae) from the Espinhaco Range, Minas Gerais, Brazil. **Novon**, Saint Louis, v. 17, n. 1, p. 130-134, mar. 2007.

WIKIPÉDIA. **Ficheiro:Goias Municip Mossamedes.svg**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Goias_Municip_Mossamedes.svg>. Acesso em: 5 mai. 2009.

WITHERS, L.A.; WILLIAMS, J.T. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: TORRES, A.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, p. 297-330.

ZIMMERMANN, F.J.P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA CNPAF, 2004. 402 p.