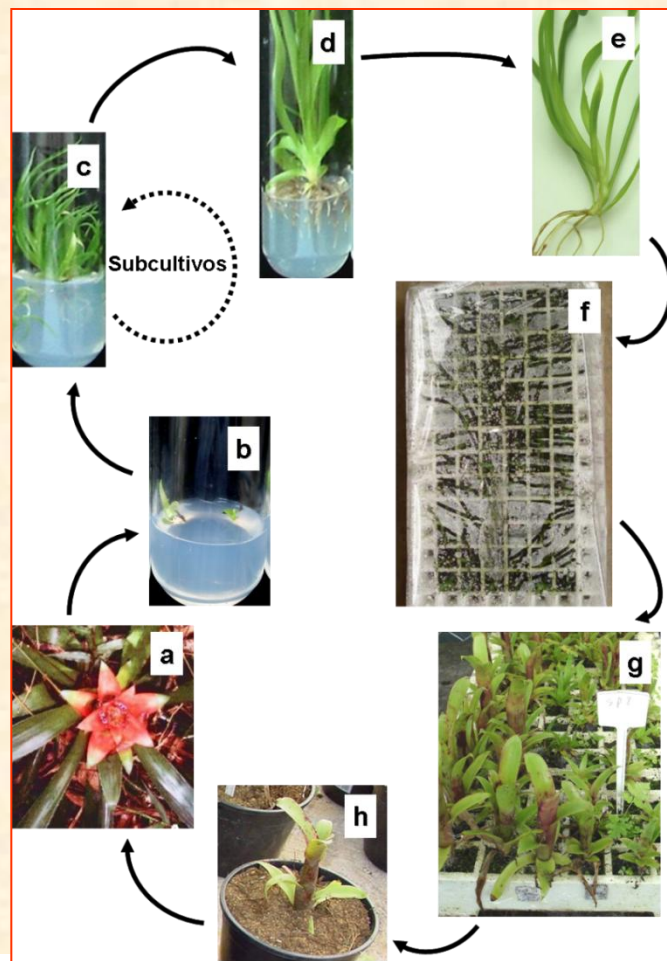


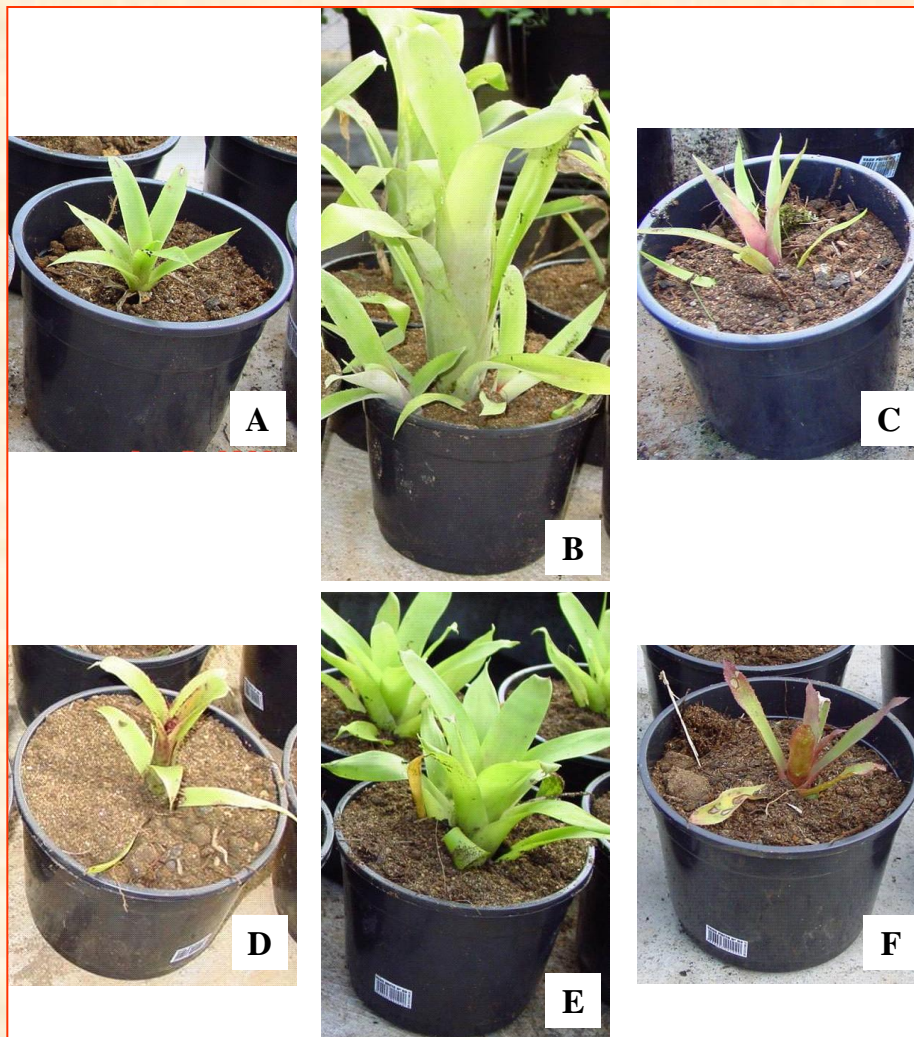


Autores:

- Carla Quinhones G. Soares
- Cleberson Ribeiro
- Giselle Camargo Mendes
- Virgínia Fernandes Braga
- Leandro Elias Moraes
- Rodolpho A. Camerini e Silva
- Cristiano Ferrara de Resende
- Luciano Bueno dos Reis
- Maiana Reis Pimenta
- Paulo Henrique P. Peixoto



Esquema geral dos estágios da micropropagação de bromélias. No *Estágio 0*, a seleção do espécime e tratamento da planta-mãe (a), utilizada como fonte dos explantes, visa a eliminação de patógenos e podem aumentar o sucesso da introdução *in vitro* (*Estágio 1*). A introdução *in vitro* e germinação de sementes (b) é uma maneira bastante usual para inoculação e estabelecimento de espécies vegetais *in vitro* (*Estágio 1*), dentre outros motivos, pela facilidade de desinfestação dos explantes (sementes) e pela manutenção da variabilidade genética em trabalhos de conservação da biodiversidade. No *Estágio 2* da micropropagação (c), o material vegetal é multiplicado e a quantidade de subcultivos necessários é dependente da taxa de multiplicação e da quantidade de plantas que se deseja obter. Após a multiplicação, o material é enraizado e preparado para aclimatização (*Estágio 3*) (d). Antes da transferência das plântulas para bandejas para a aclimatização, o meio de cultura deve ser lavado e eliminado das raízes, momento que se efetua a retirada de partes de tecidos necrosados ou em excesso (e). Durante o *Estágio 4*, a cobertura plástica da bandeja (f), que funciona como uma mini-estufa, é gradativamente retirada a fim de se evitar o estresse hídrico e permitir que a planta se aclimatize às condições *ex vitro*, de ar livre (g). Finalmente, depois de atingido um determinado tamanho, as plantas podem ser transferidas para vasos individualizados ou para o ambiente natural (h).



Aspecto geral das plantas propagadas *in vitro*, já aclimatizadas em vasos individualizados, em casa de vegetação. Espécies apresentadas: *Aechmea nudicaulis* (A), *Bilbergia distachia* (B), *Neoregelia oligantha* (C), *Nidularium ferdinandocoburgii* (D), *Vriesea cacuminis* (E), *Wittrockia gigantea* (F).

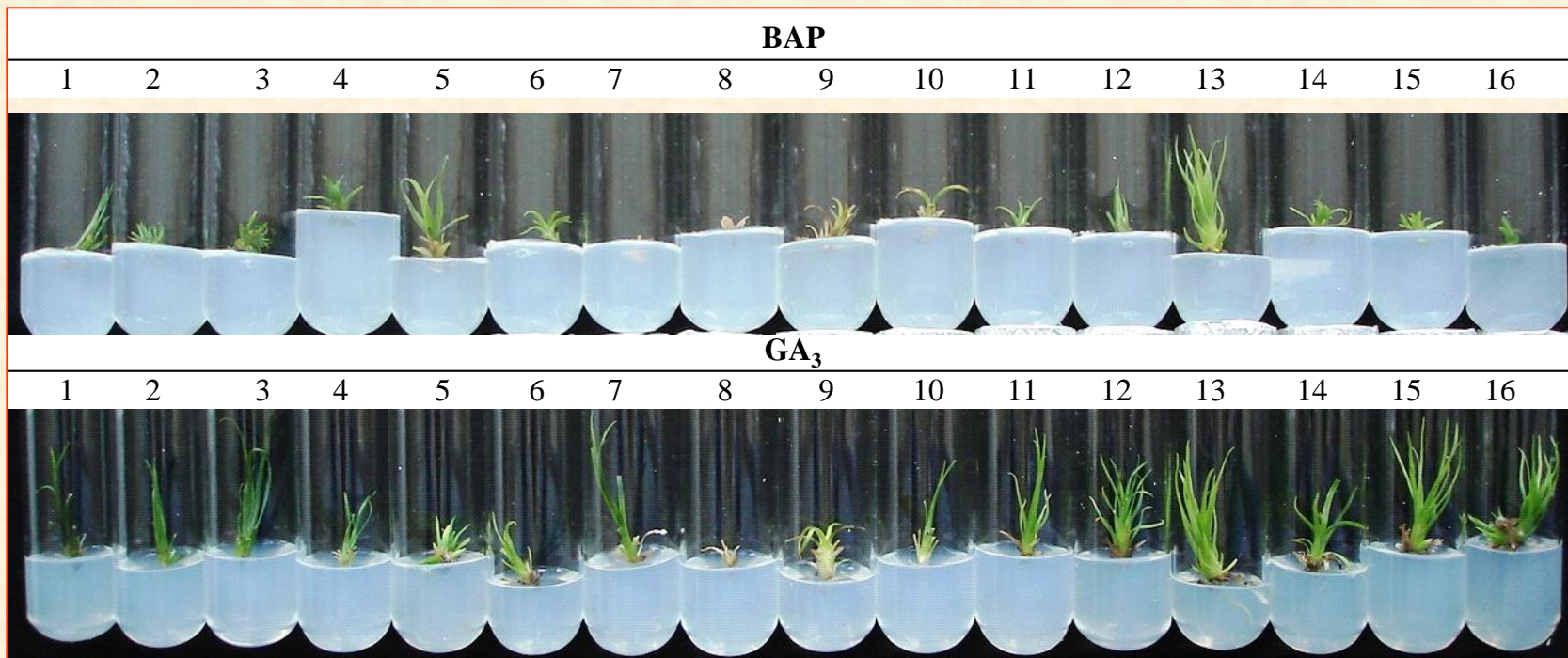


Figura 1. Detalhe das culturas de *Aechmea nudicaulis* em meio de multiplicação acrescido de diferentes concentrações (0, 5, 10 e 15 μM) de ácido giberélico, GA_3 ou 6-benzilaminopurina, BAP, combinados com ácido naftalenoacético (0; 1,5; 3 e 4,5 μM), após 180 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

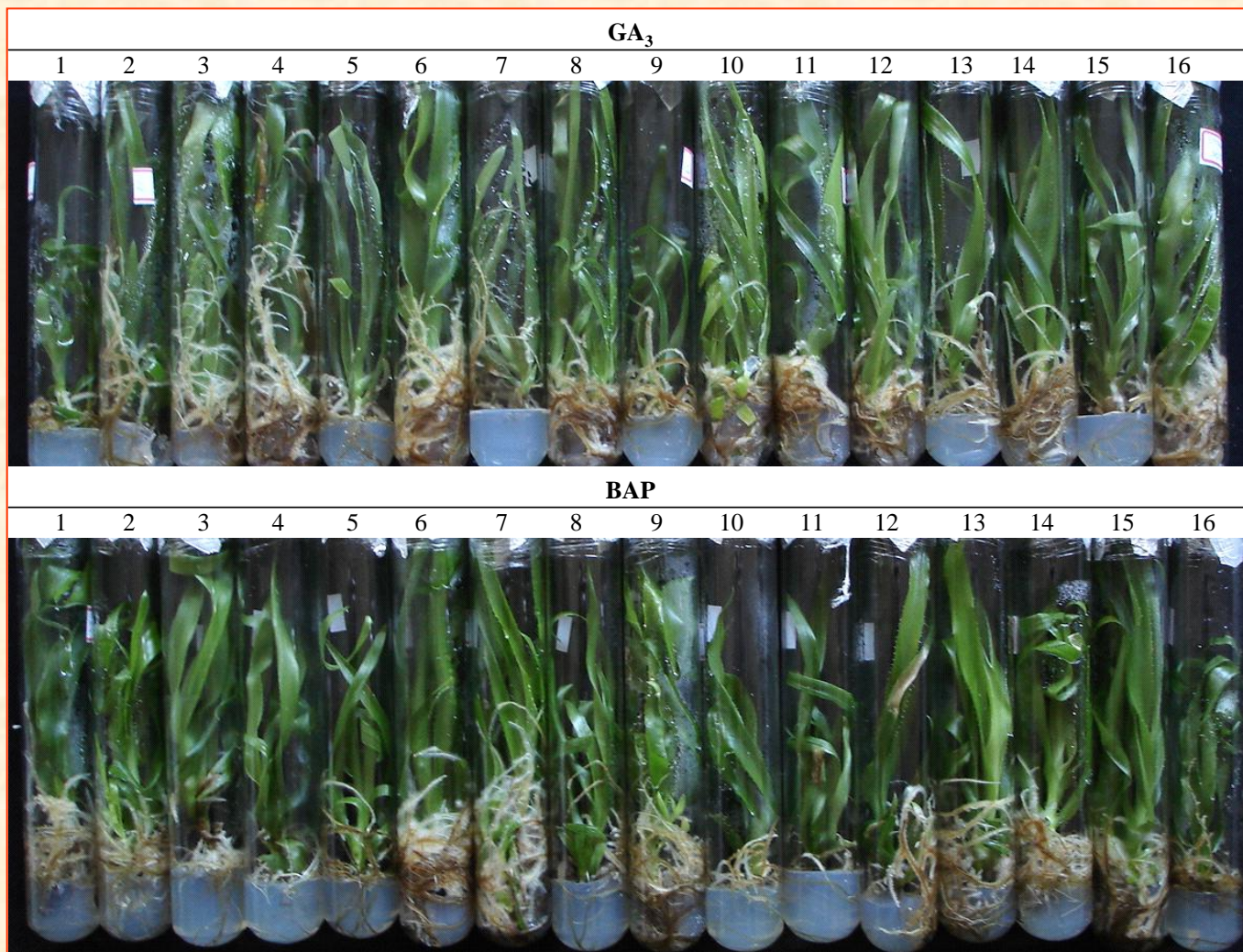


Figura 2. Detalhe das culturas de *Billbergia distachia* em meio de multiplicação acrescido de diversas concentrações (0, 5, 10 e 15 μ M) de ácido giberélico, GA_3 ou 6-benzilaminopurina, BAP, combinados com ácido naftalenoacético (0; 1,5; 3 e 4,5 μ M), após 180 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

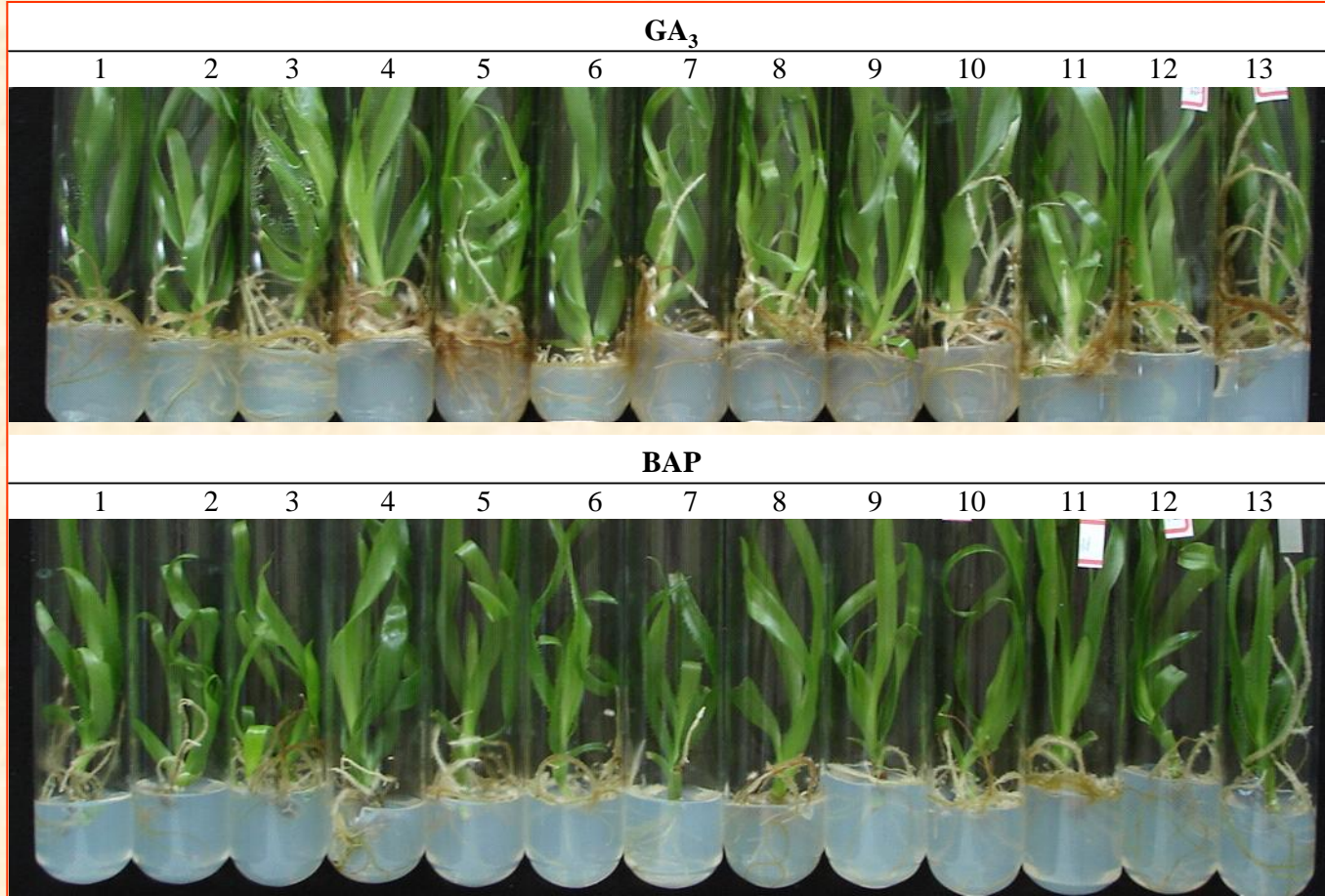


Figura 3. Detalhe das culturas de *Billbergia distachia* em meio de enraizamento, provenientes de meios com ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP, na presença de três auxinas (ácido naftalenoacético, ácido indolacético ou ácido indolbutírico), em diferentes concentrações (0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 μ M), 120 dias após a inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de auxinas. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

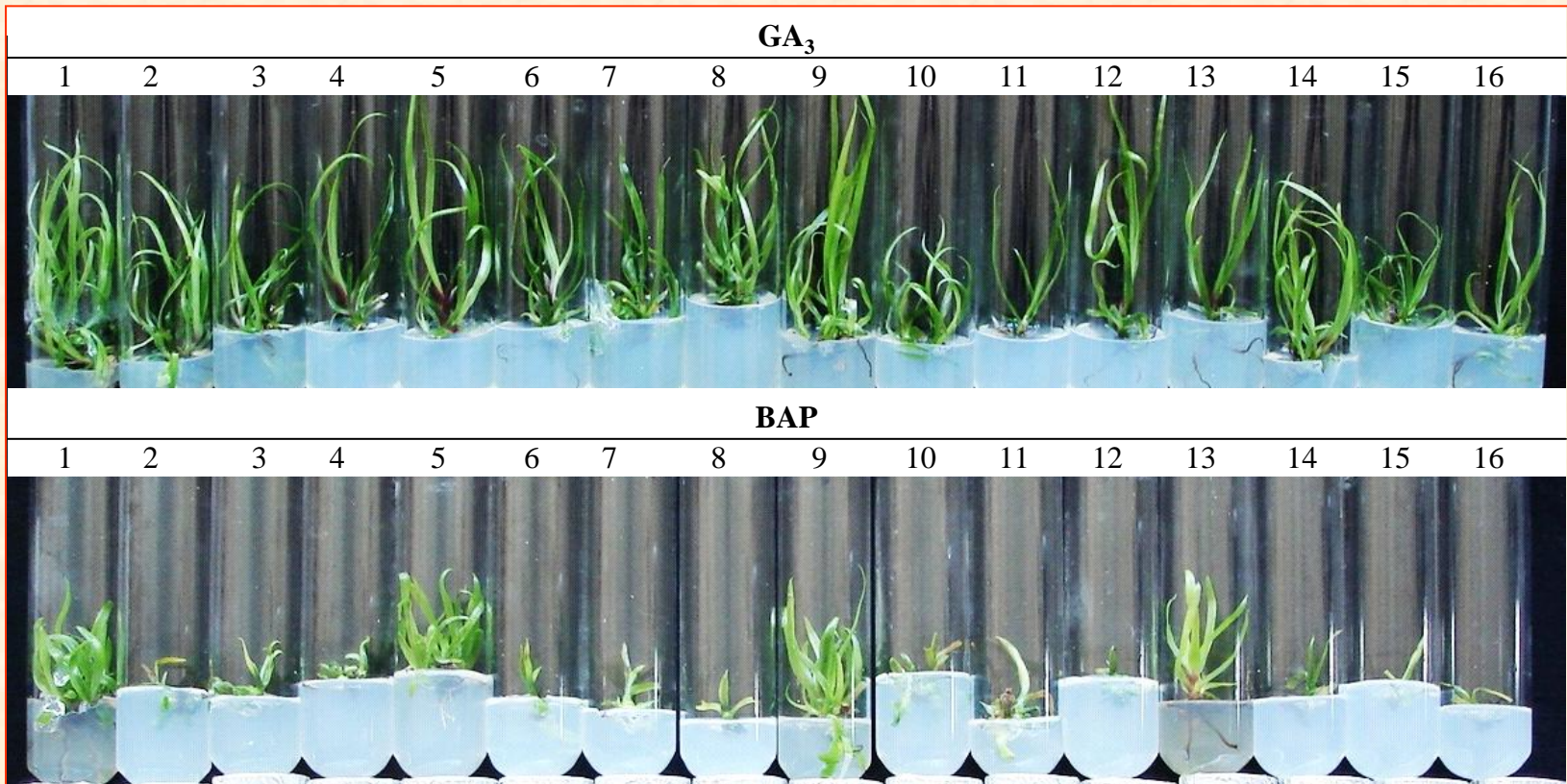


Figura 4. Detalhe das culturas de *Neoregelia oligantha* em meio de multiplicação na presença de diferentes concentrações de ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP (0; 5; 10 e 15 μM), combinados com ácido naftalenoacético (0; 1,5; 3 e 4,5 μM), após 180 dias de inoculação. Tratamento 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

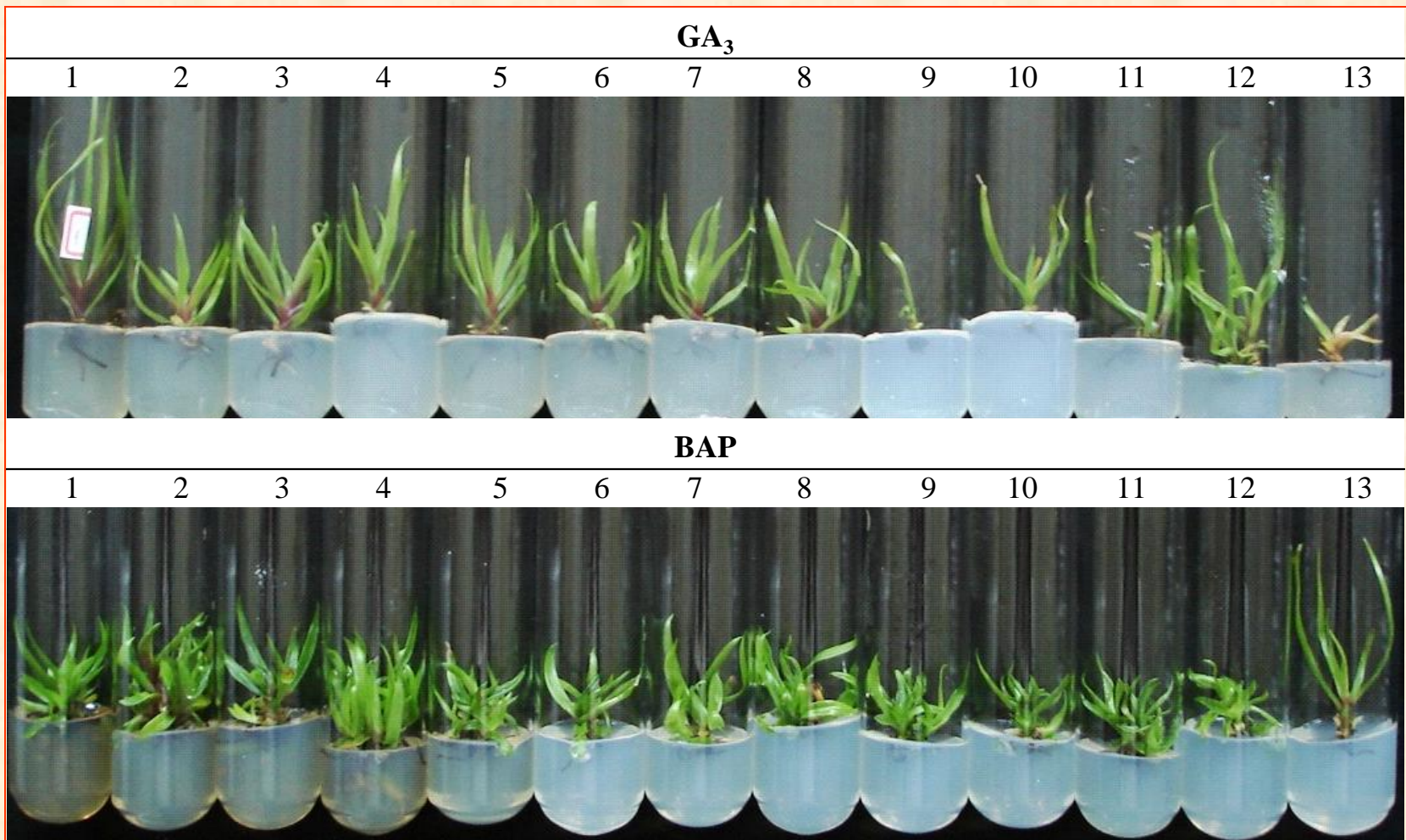


Figura 5. Detalhe das culturas de *Neoregelia oligantha* em meio de enraizamento, provenientes de meios com ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP, na presença de três auxinas (ácido naftalenoacético, ácido indolacético ou ácido indolbutírico), em diferentes concentrações (0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 μM), após 140 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

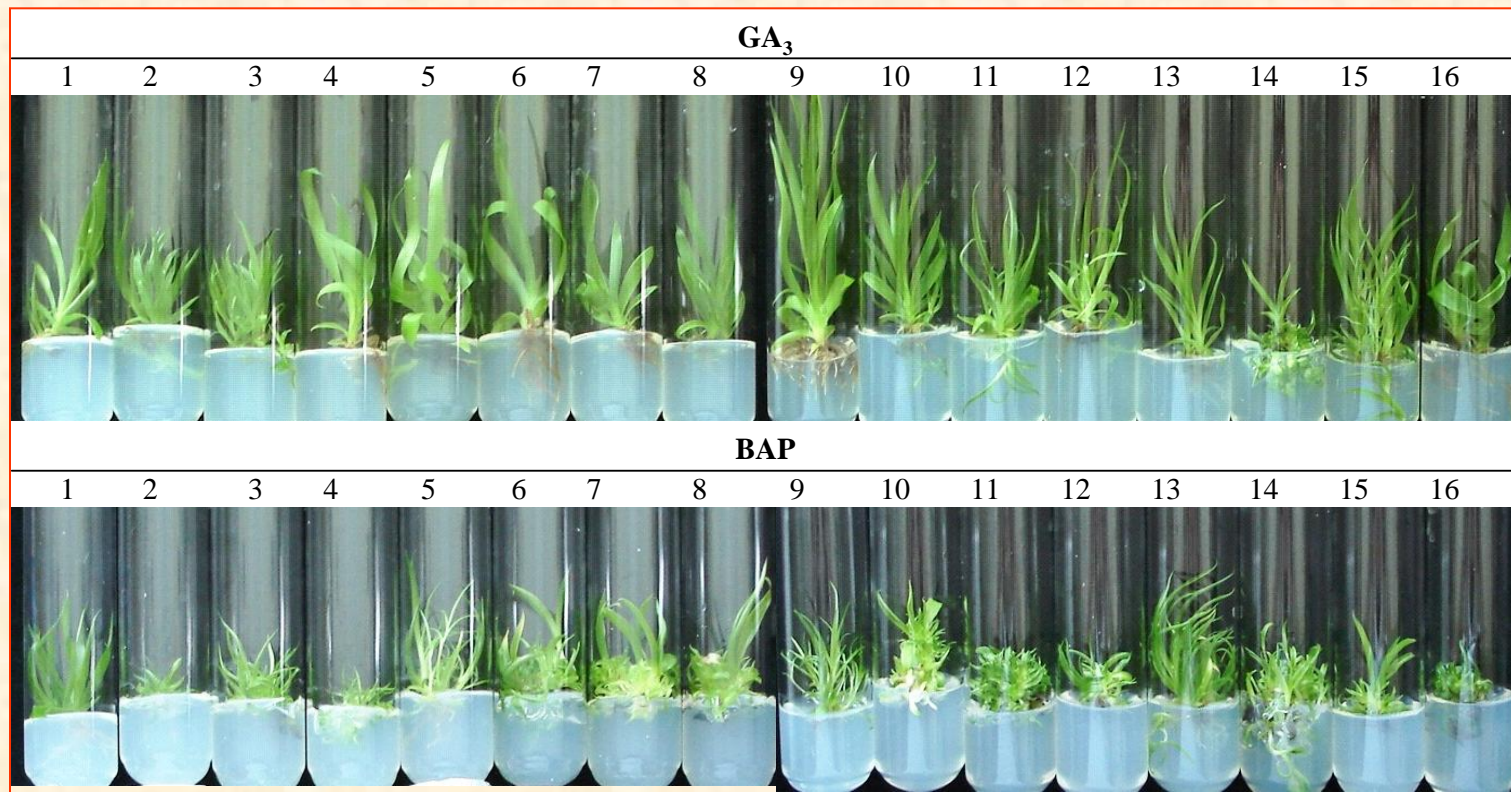


Figura 6. Detalhe das culturas de *Nidularium ferdinandocoburgii* em meio de multiplicação na presença de diferentes concentrações de ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP (0; 5; 10 e 15 μ M), combinados com ácido naftalenoacético (0; 1,5; 3 e 4,5 μ M), após 120 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

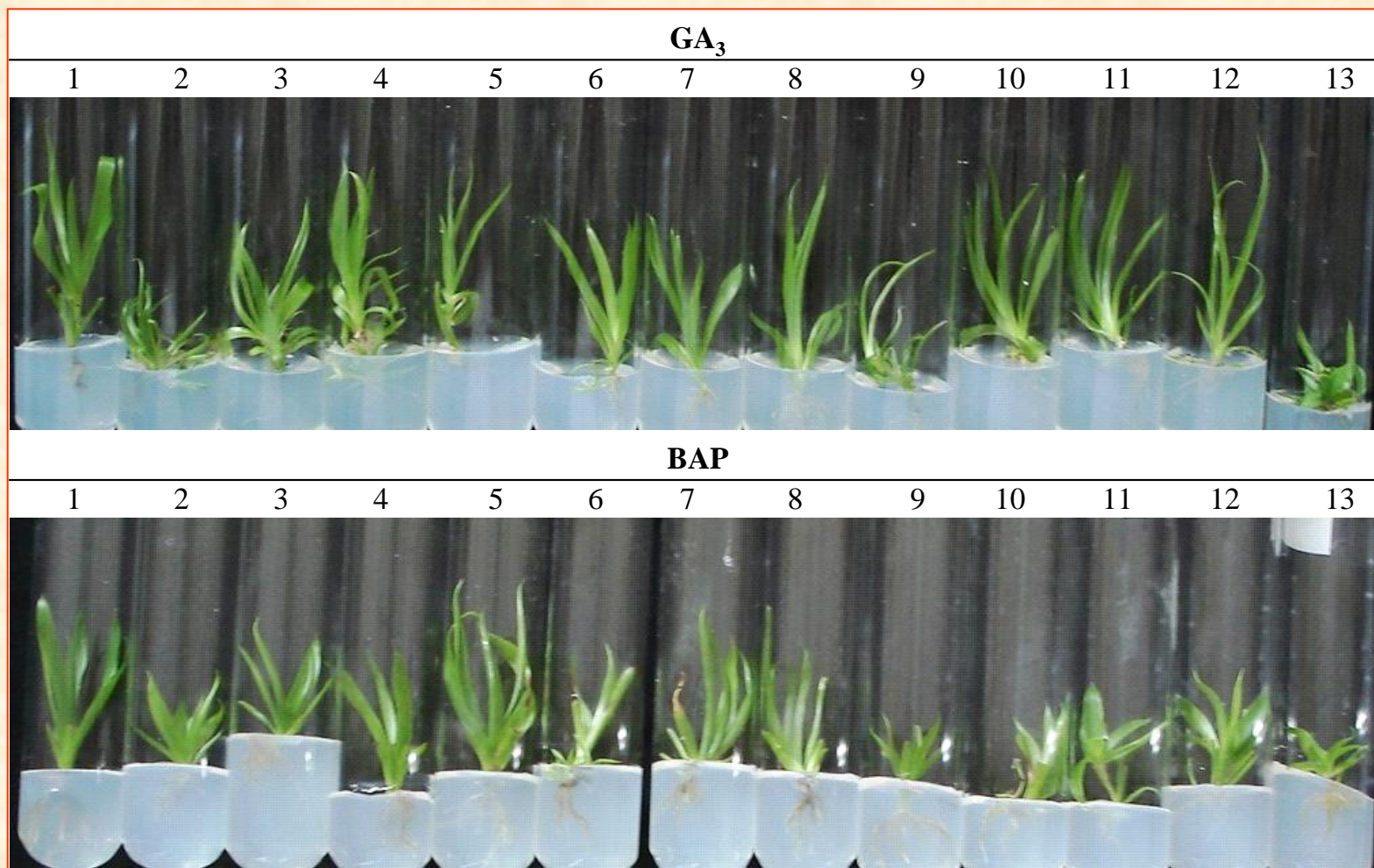


Figura 7. Detalhe das culturas de *Nidularium fernandocoburgii* em meio de enraizamento, provenientes de meios de multiplicação com ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP, na presença de três auxinas (ácido naftalenoacético, ácido indolacético ou ácido indolbutírico), em diferentes concentrações (0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 μ M), após 140 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro

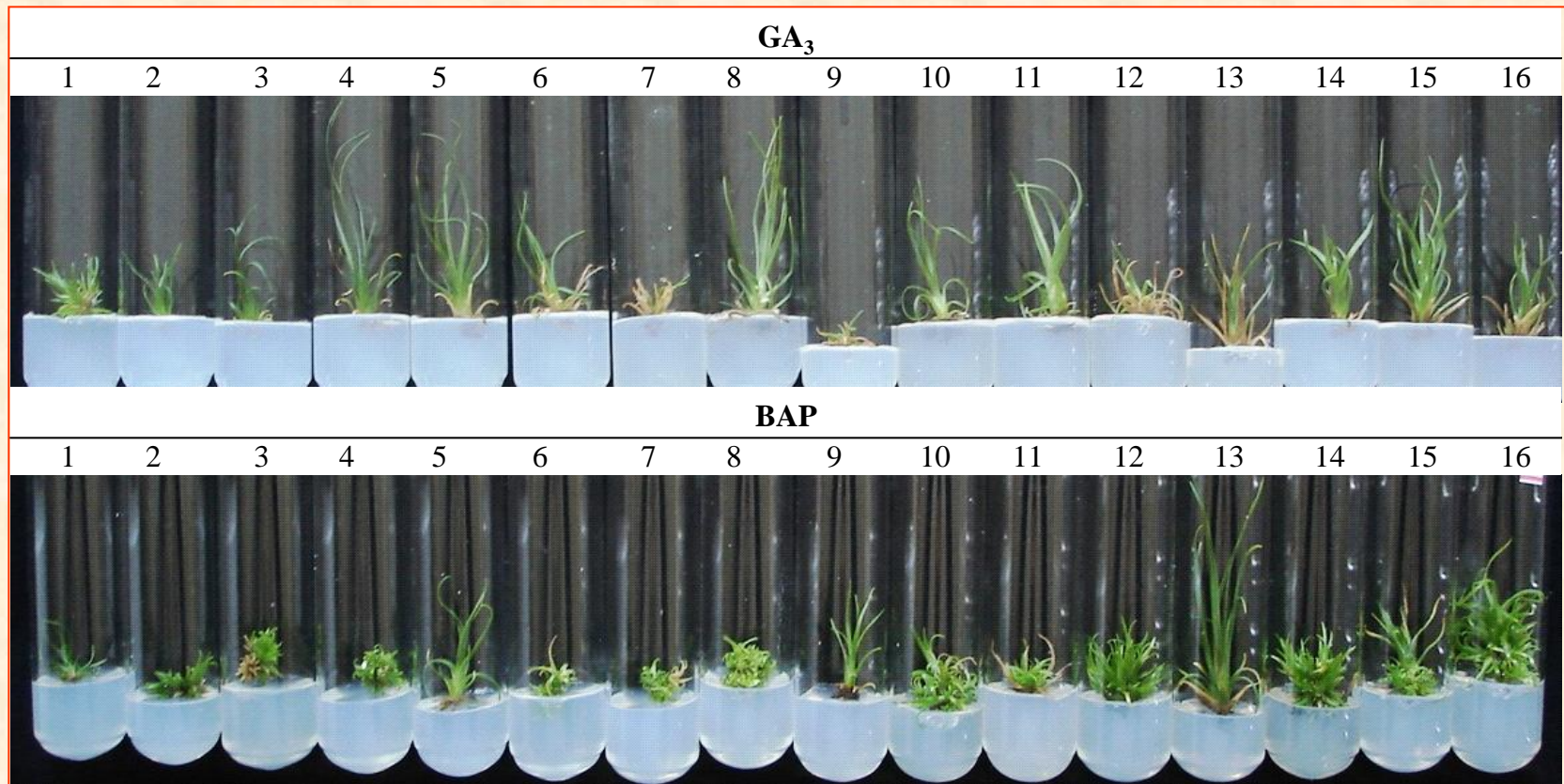


Figura 8. Detalhe das culturas de *Vriesea cacuminis* em meio de multiplicação na presença de diferentes concentrações de ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP (0; 5; 10 e 15 μM), combinados com ácido naftalenoacético (0; 1,5; 3 e 4,5 μM), após 180 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

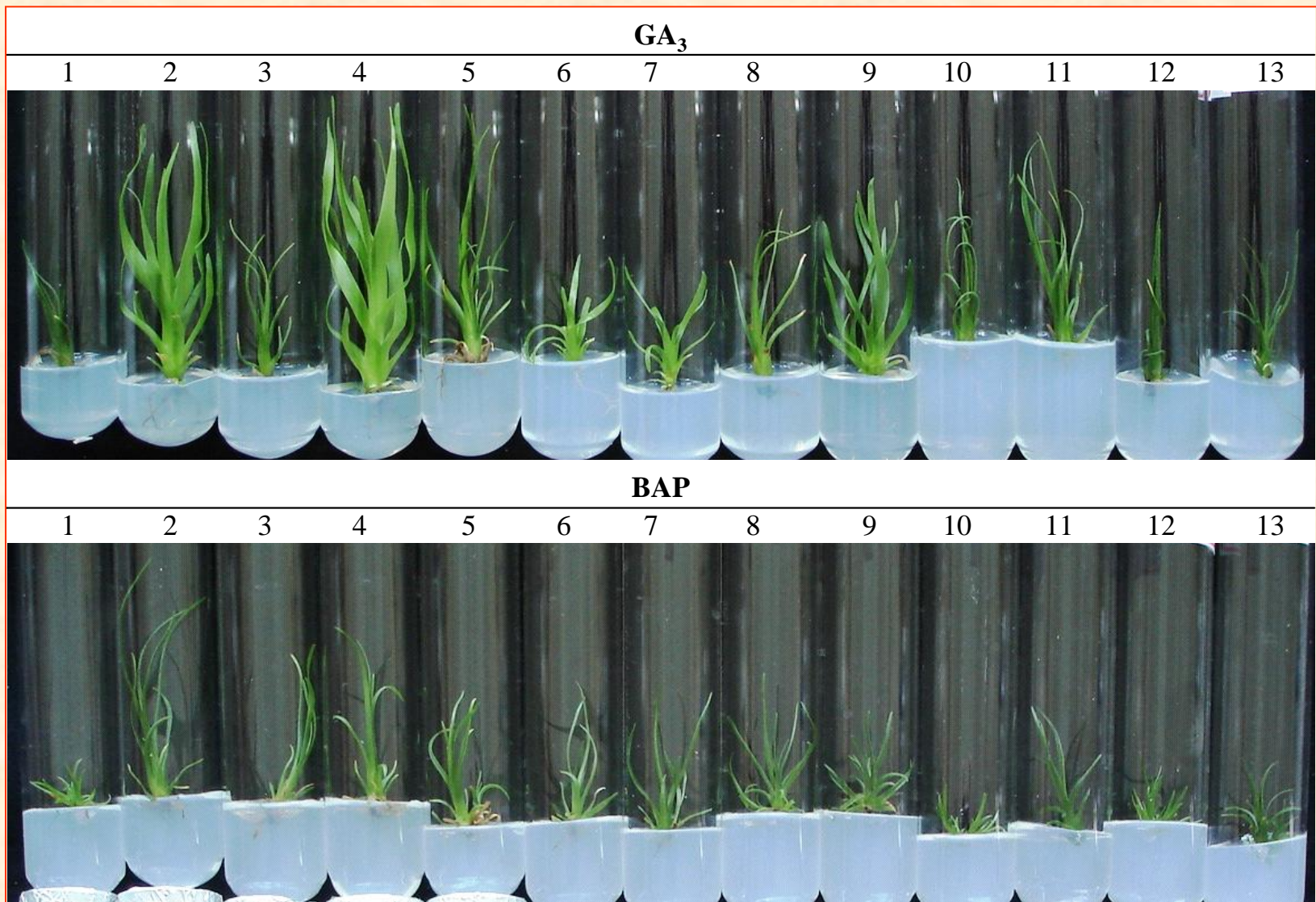


Figura 9. Detalhe das culturas de *Vriesea cacuminis* em meio de enraizamento, provenientes de meios de multiplicação com ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP, na presença de três auxinas (ácido naftalenoacético, ácido indolacético ou ácido indolbutírico), em diferentes concentrações (0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 μ M), após 140 dias de inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

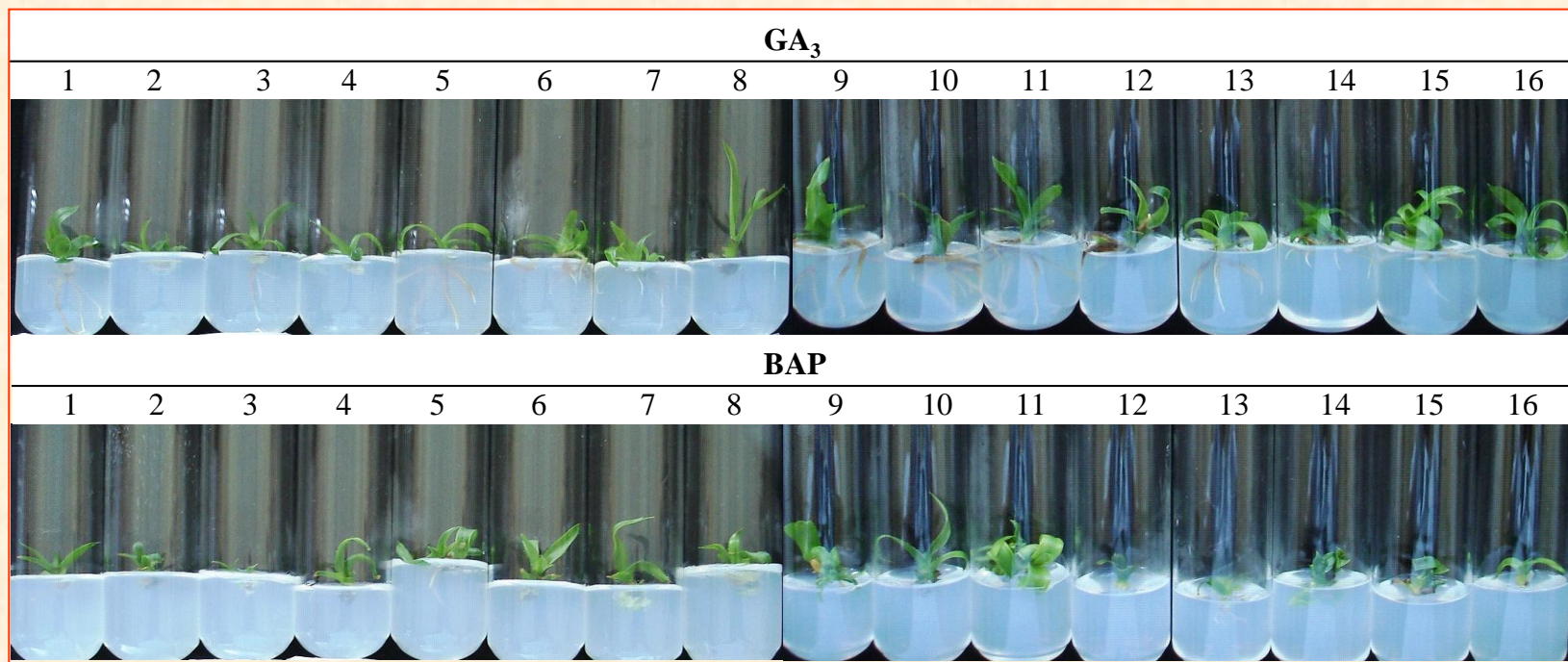


Figura 10. Detalhe das culturas de *Wittrockia gigantea* em meio de multiplicação na presença de diferentes concentrações de ácido giberélico, GA₃ ou 6-benzilaminopurina, BAP (0; 5; 10 e 15 μ M), combinados com ácido naftalenoacético (0; 1,5; 3 e 4,5 μ M), 90 dias após inoculação. Tratamentos 1: controle sem adição de reguladores de crescimento. Tubos de ensaio de 2,5 cm de diâmetro.

Conclusões

- A cultura de tecidos é uma técnica eficaz de propagação em larga escala e para a manutenção *in vitro* de culturas de Bromeliaceae.
- A utilização das técnicas de cultura de tecidos poderá contribuir para a redução da exploração predatória das diferentes espécies de bromélias nas áreas do Parque Estadual do Ibitipoca e em seu entorno, reduzindo, assim, as ameaças antropogênicas sobre essas plantas.

Propagação *in vitro* de espécies de Pitcairnia (Bromeliaceae) ameaçadas de extinção (Fundação Biodiversitas)

- Bruno Felipe Mello (Bolsista)
- Virgínia Fernandes Braga (Bolsista)
- Paulo Henrique Pereira Peixoto (Orientador)

Como resultado dos trabalhos do *workshop* de Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção, realizado em 2005 pela Fundação Biodiversitas, grande número de espécies de Bromeliaceae foi incluído nas categorias de “em perigo” ou de “criticamente ameaçadas”, sendo *Pitcairnia encholirioides* e *Pitcairnia albiflos* espécies consideradas criticamente ameaçadas.

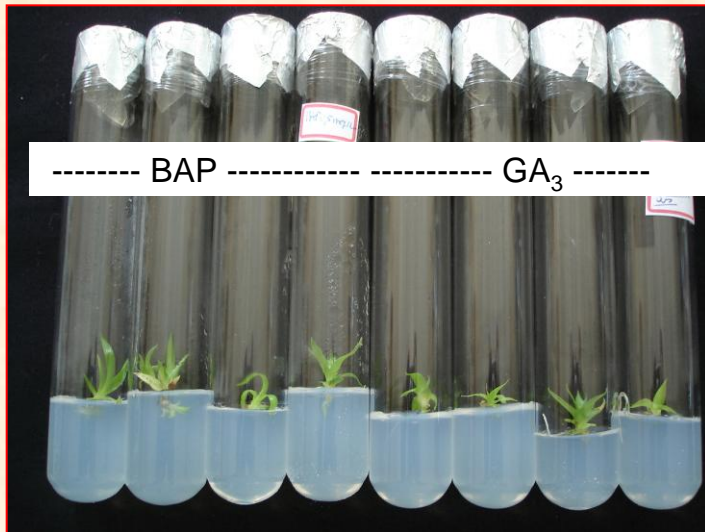
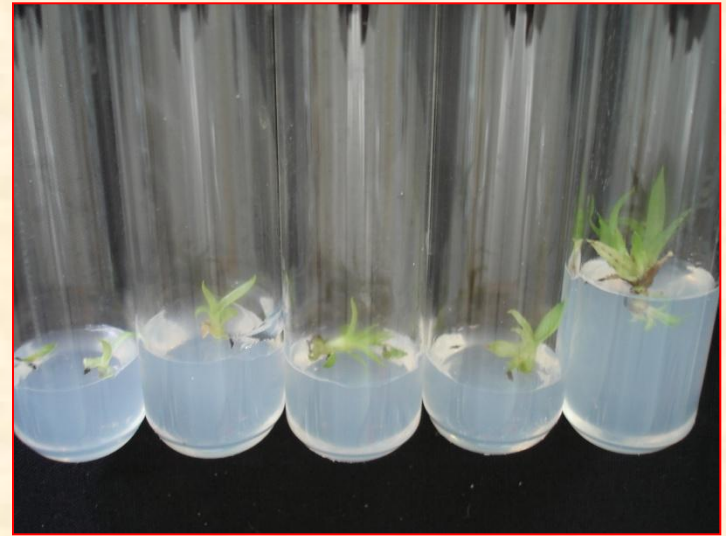
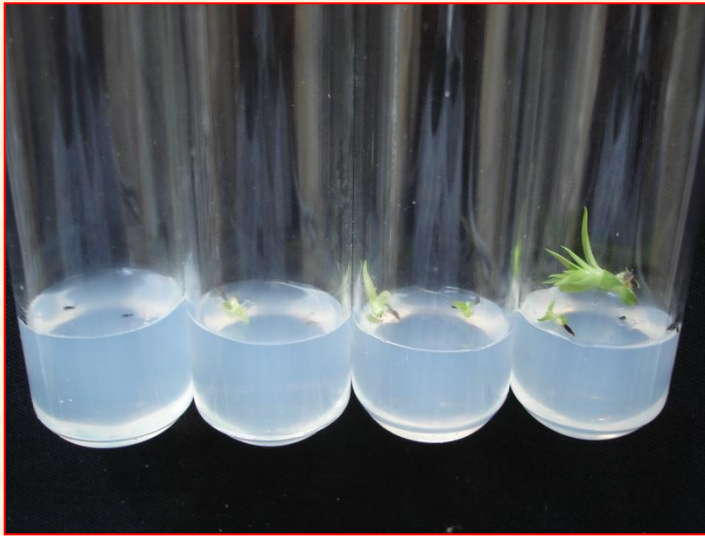


Figura 1. Sementes de *P. encholiroides* germinando em presença de BAP ou GA₃, respectivamente, aos 30 (a), 60 (b) e 90 (c) dias após a inoculação.

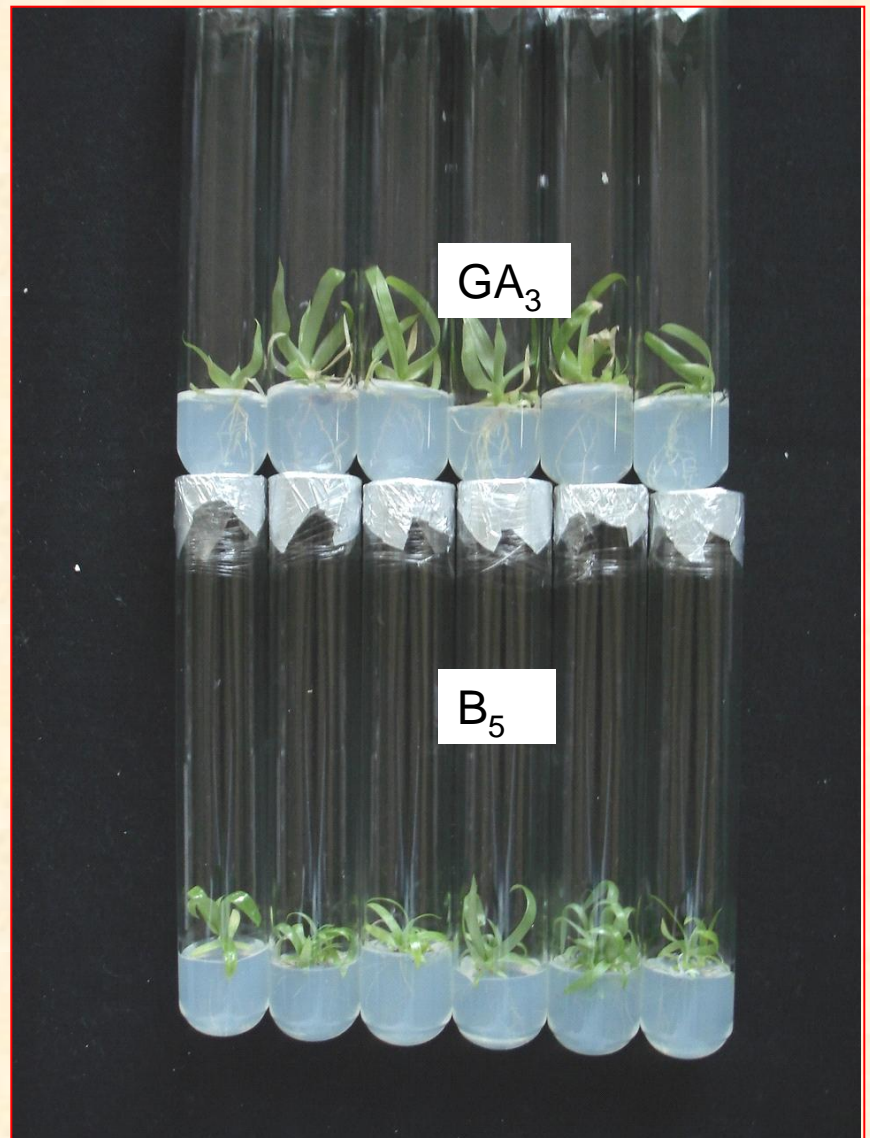
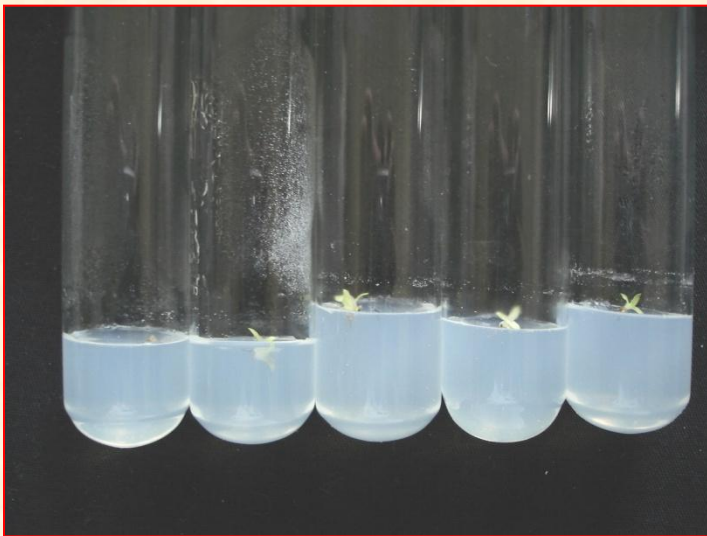


Figura 2. Sementes de *P. albiflos* germinando em presença de GA₃ e de vitaminas de B₅, respectivamente aos 30 (acima) e 120 dias após a inoculação.

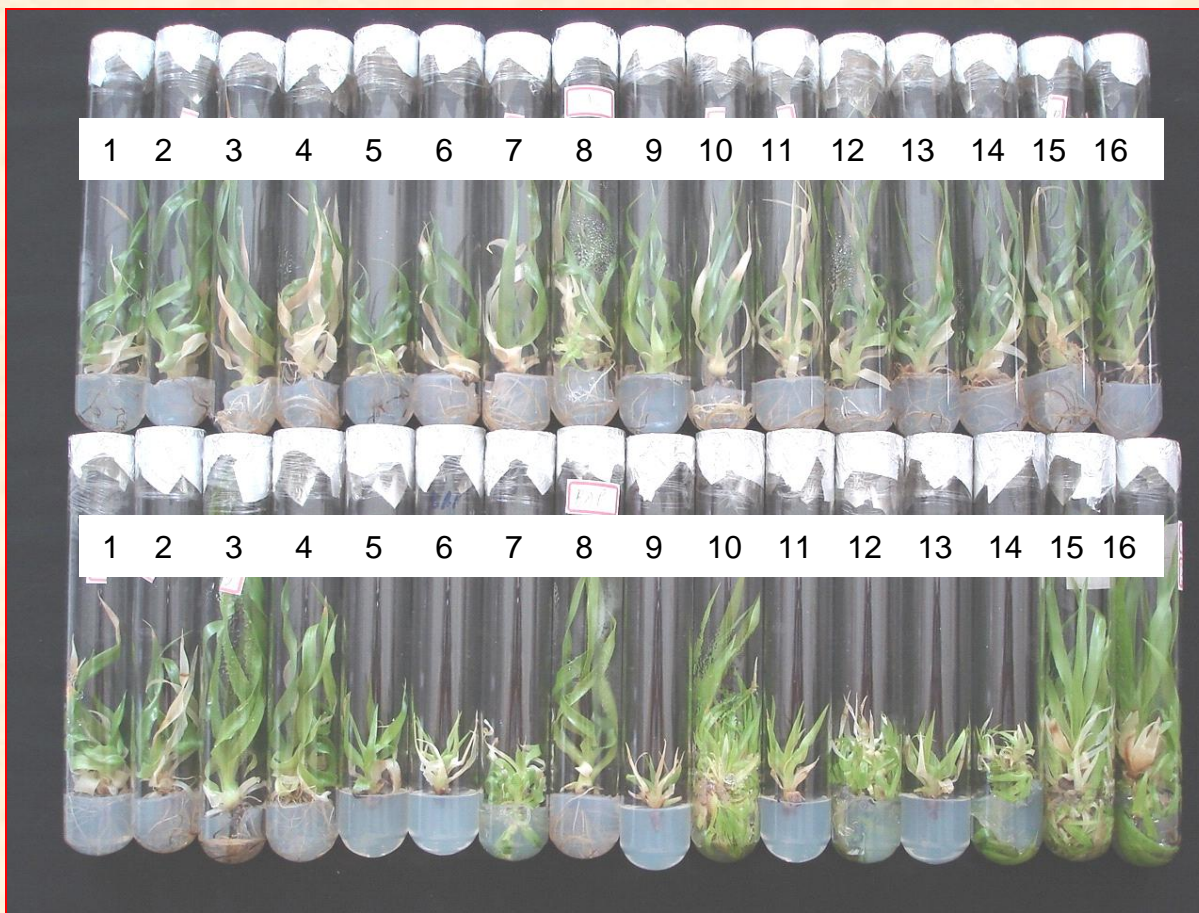


Figura 3. Detalhe dos explantes de *P. encholirioides* em meio de multiplicação na presença de diferentes concentrações de GA_3 (acima) ou BAP (= REG) combinados com ANA, após 120 dias de inoculação. 1) Testemunha (REG 0 x ANA 0); 2) REG 0 X ANA 1,5; 3) REG 0 X ANA 3,0; 4) REG 0 X ANA 4,5; 5) REG 5 X ANA 0; 6) REG 5 X ANA 1,5; 7) REG 5 X ANA 3,0; 8) REG 5 X ANA 4,5; 9) REG 10 X ANA 0,0; 10) REG 10 X ANA 1,5; 11) REG 10 X ANA 3,0; 12) REG 10 X ANA 4,5; 13) REG 15 X ANA 0; 14) REG 15 X ANA 1,5; 15) REG 15 X ANA 3,0; 16) REG 15 X ANA 4,5.



Figura 4. Detalhe dos explantes de *P. albiflos* em meio de multiplicação na presença de diferentes concentrações (μM) de GA_3 (acima) ou BAP (= REG) combinados com ANA, após 120 dias de inoculação. 1) Testemunha (REG 0 x ANA 0); 2) REG 0 X ANA 1,5; 3) REG 0 X ANA 3,0; 4) REG 0 X ANA 4,5; 5) REG 5 X ANA 0; 6) REG 5 X ANA 1,5; 7) REG 5 X ANA 3,0; 8) REG 5 X ANA 4,5; 9) REG 10 X ANA 0,0; 10) REG 10 X ANA 1,5; 11) REG 10 X ANA 3,0; 12) REG 10 X ANA 4,5; 13) REG 15 X ANA 0; 14) REG 15 X ANA 1,5; 15) REG 15 X ANA 3,0; 16) REG 15 X ANA 4,5.

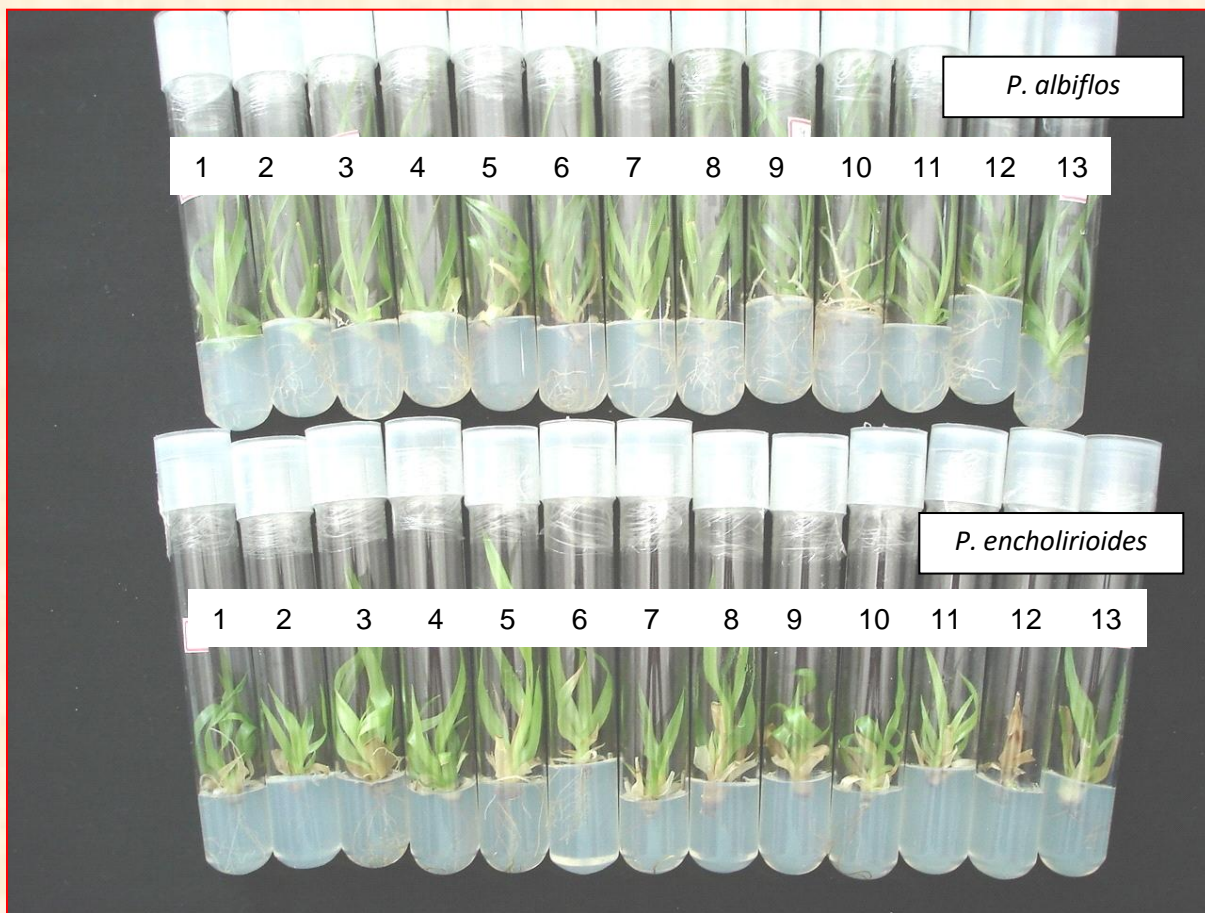


Figura 5. Detalhe do enraizamento *in vitro* de explantes de *P. albiflos* (acima) e *P. encholirioides* em presença de ANA, AIA ou AIB em diferentes concentrações (μM), 120 dias após a inoculação. Tratamentos: 1) Testemunha; 2) ANA 0,1; 3) ANA 0,2; 4) ANA 0,3; 6) ANA 0,4; AIA 0,1; 7) AIA 0,2, 8) AIA 0,3; 9) AIA 0,4, 10) AIB 0,1; 11) AIB 0,2; 12) AIB 0,3; 13) AIB 0,4.

Conclusões:

- Explantes de *P. encholirioides* apresentam taxas elevadas de multiplicação em presença de BAP 15 μM combinado com ANA 4,5 μM . Para *P. albiflos* taxas mais elevadas de multiplicação foram obtidas em presença de BAP 5 μM e ANA 3,0 μM . As taxas de multiplicação dos explantes de *P. encholirioides* foram mais elevadas do que as obtidas com explantes de *P. albiflos*;
- A qualidade dos explantes de ambas as espécies para aclimatização direta, sem passar pela etapa de enraizamento *in vitro*, foi melhor na presença do GA₃ do que de BAP;
- Explantes de *P. encholirioides* enraizaram melhor em presença de ANA, enquanto explantes de *P. albiflos* enraizaram bem tanto na presença de ANA quanto de AIA;
- A utilização de técnicas de propagação *in vitro* e a posterior aclimatização *ex vitro* de explantes de *P. encholirioides* e de *P. albiflos* podem contribuir para a redução nos riscos de extinção dessas espécies em decorrência das taxas de multiplicação mais elevadas que as obtidas através de métodos convencionais de propagação *in vivo*.

“Aprender é a única coisa que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

(Leonardo da Vinci)

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”

(Cora Coralina)

Obrigado!