



## PROPAGAÇÃO EM BROMELIACEAE: GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CULTIVO *IN VITRO*

Elisa Mitsuko Aoyama<sup>1</sup>, Andréia Barcelos Passos Lima Gontijo<sup>1</sup>, Daniele Vidal Faria<sup>2</sup>

1 Professoras do Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas do Centro Universitário Norte do Espírito Santo - Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES-UFES), 29932-540, São Mateus-ES, Brasil  
(elisaoyama@yahoo.com.br)

2 Graduada em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), 29500-000, Alegre-ES, Brasil

**Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012**

### RESUMO

A família Bromeliaceae apresenta grande importância econômica e ecológica, principalmente por seu valor ornamental e por constituir importantes componentes para a manutenção da biodiversidade do bioma Mata Atlântica. A fragmentação do seu habitat e a sobre-exploração para fins ornamentais, tem tornado algumas espécies de bromélias vulneráveis à extinção. A propagação de espécies via germinação de sementes e o cultivo *in vitro* de explantes vegetativos têm sido ferramentas importantes para aumentar a produção de mudas na tentativa de diminuir o extrativismo como fonte principal de abastecimento do mercado consumidor. Além disso, essas práticas representam alternativas viáveis de conservação *ex situ* de germoplasma vegetal de bromeliáceas. Nesta revisão serão abordados aspectos relacionados ao processo de germinação de sementes de bromélias e de sistemas de propagação *in vitro*.

**PALAVRAS-CHAVE:** bromélias, sementes, micropropagação, aclimação

### PROPAGATION IN BROMELIACEAE: SEED GERMINATION AND *IN VITRO* CULTURE

### ABSTRACT

The family Bromeliaceae presents great ecological and economic importance, mainly for its ornamental value and constitute important components to maintaining the biodiversity of the Atlantic forest biome. Fragmentation of habitat and over-exploitation for ornamental purposes has made some bromeliad species vulnerable to extinction. The propagation of species for seed germination and *in vitro* culture of vegetative explants have been important tools to increase seedling production in an attempt to decrease the extraction as the main source of supply to the consumer market. Moreover, these practices represent viable alternatives for *ex situ* conservation of germplasm of bromeliads. In this review we discuss aspects related

to the process of germination of bromeliads and in vitro propagation systems.

**KEYWORDS:** Bromeliads, seeds, micropropagation, acclimatization

## INTRODUÇÃO

A família Bromeliaceae compreende, aproximadamente, 60 gêneros e 3170 espécies (LUTHER, 2008). Atualmente está dividida em oito subfamílias: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae, Bromelioideae (MOBOT, 2008).

Seus representantes ocorrem preferencialmente nas zonas tropicais (LEME, 1997; PAULA & SILVA, 2001; SOUZA & LORENZI, 2005), estendendo-se desde o sul da América do Norte, passando pela América Central até chegar à região da Patagônia na América do Sul. Apenas uma espécie é referida para o continente africano na região da Guiné, *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbraed (REITZ, 1983; JACQUES-FÉLIX, 2000).

A família reúne plantas na sua maioria herbáceas, perenes, terrestres, epífitas ou rupícolas, com caule reduzido, portadoras de folhas longas dispostas em rosetas e densamente imbricadas na base (SCHULTZ, 1990, JUDD et al., 1999; SOUZA & LORENZI 2005; WANDERLEY & MARTINS, 2007). As folhas podem apresentar bainha aberta, pouco ou muito distinta da lâmina e, geralmente, de consistência mais delicada, com margem em geral inteira ou serrilhada a espinescente; lâmina coriácea, carnosa até membranácea, verde, acinzentada, avermelhada a vinácea, algumas vezes alva, com ou sem ornamentações de diferentes cores em forma de estrias, faixas ou máculas, desde filiforme a muito alargada, com ápice muito variável, margem inteira ou serrilhada a fortemente espinescente (WANDERLEY & MARTINS, 2007).

Para as espécies de bromélias formadoras de tanque, a importância das raízes tem sido atribuída à função de fixar a bromélia à planta hospedeira, tendo pouca ou nenhuma contribuição na aquisição de nutrientes. Portanto, as bromélias formadoras de tanque seriam capazes de adquirir os elementos minerais, preferencialmente, por absorção foliar (BENZING, 1976; BENZING et al., 1978).

Além disso, a água acumulada no tanque é um reservatório para diversos animais, desde larvas de insetos até aves e mamíferos, que podem utilizá-la como fonte de água, alimento, abrigo ou sítio de acasalamento (OLIVEIRA et al., 1994; OLIVEIRA & ROCHA, 1997; ROCHA et al., 1997; TEIXEIRA et al., 2006; CHAN et al., 2007; FRANK & LOUNIBOS, 2009). Alguns animais desenvolvem seu ciclo de vida exclusivamente nesta água, como o crustáceo *Elpidium bromeliarum* Müller, 1880 (REITZ, 1983). Já outros utilizam esta água eventualmente, como sapos, pererecas, gambás, etc. Segundo ROCHA et al., (2004), por causa do acúmulo de água dentro dos tanques, organismos vivem ao seu redor, dessa forma as bromélias funcionam como um amplificador da biodiversidade e ao serem destruídas afetam outros organismos. Manter espécies de bromélias nos seus ambientes significa, não apenas conservar as espécies de bromélias *per se*, mas sim, conservar uma ampla gama da diversidade local.

Em conseqüência, a riqueza e a abundância de espécies de bromélias em um determinado bioma podem ser utilizadas para estimar o *status* de conservação do ambiente e a capacidade de suporte da biodiversidade (LEME & MARIGO, 1983). O fato de mais da metade das espécies da família ser epífita obrigatória ou facultativa

ressalta a relevância de seu papel biológico, à medida que essas plantas criam no interior das florestas nichos ecológicos em diversos patamares, bem acima do solo. Soma-se a isso o grande contingente de espécies rupícolas, que tornam “habitáveis” as superfícies rochosas totalmente expostas e desprovidas de solo, inclusive as verticais (LEME & SIQUEIRA FILHO, 2006).

A maior diversidade da família encontra-se na América do Sul; cerca de 73% dos gêneros e 40% das espécies. A Floresta Atlântica é um dos centros de diversidade da família Bromeliaceae e vários de seus gêneros e espécies são endêmicos deste ecossistema, podendo estar limitados a áreas muito reduzidas (NUNES, 2002). Estima-se que cerca de 40% das bromélias registradas na Floresta Atlântica estão enquadradas em alguma categoria de ameaça; 54 espécies estão incluídas na categoria criticamente em perigo, 89 em perigo, 182 vulneráveis e 17 raras, porém é provável que estes números estejam subestimados devido à deficiência de informações sobre esta família (MARTINELLI et al., 2008).

A exploração dos recursos florestais da Floresta Atlântica tem sido exercida de maneira predatória, o extrativismo para fins comerciais tem se tornado uma das principais fontes de abastecimento do mercado e um dos fatores que ameaçam muitas populações naturais, entre elas as bromélias (MENDES et al., 2007).

Nesta revisão pretende-se compilar, resumidamente, os principais estudos envolvidos com a propagação de espécies de bromélias, enfocando tanto os que são por sementes como aquelas obtidas por técnicas de cultivo *in vitro*.

## PROPAGAÇÃO POR SEMENTES

A produção de bromélias pode ser iniciada a partir de sementes, que para germinarem podem levar de alguns dias a semanas, dependendo da espécie semeada, como *Acanthostachys pitcairnoides* (Mez) Rauh & Barthlott que leva cerca de quatro dias e *Bromelia plumieri* (E.Morren) L.B. Sm. que pode levar até 40 dias (PEREIRA, 1988; ROUSSE, 1992; MENESCAL, 1994).

A forma de propagação mais utilizada por produtores de bromélias da região metropolitana de Curitiba é a partir de sementes (SANTOS et al., 2005). O sucesso da sementeira está intimamente ligado à umidade do substrato, que pode ser matéria vegetal decomposta (folhas, restos de grama, casca de árvores etc.) ou uma mistura desses materiais com areia lavada, buscando-se manter as plântulas em locais abrigados da chuva e do sol para que não sejam danificadas (MENESCAL, 1994; PAULA & SILVA, 2001).

Muitas espécies de bromélias requerem a presença de luz para que as sementes germinem (DOWNS, 1964), esse controle do processo germinativo pela luz está relacionado com a adaptação das espécies a seus habitats (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1982). MERCIER & GUERREIRO FILHO (1990), em trabalho sobre o efeito da luz e da temperatura na germinação de algumas espécies de bromélias, verificaram que as sementes são fotoblásticas positivas, não encontrando diferenças entre os regimes fotoperiódicos de oito e 16 horas. Com relação à temperatura, os mesmos autores afirmam que a maior parte das espécies germinam entre 20 e 30°C.

Conforme MOLLO (2009) observou, em estudo sobre a germinação de sementes de *Alcantarea imperialis* em temperaturas de 15°C, 15/30°C (termoperíodo escuro/claro) e 30°C, o tempo de emergência das plântulas varia em função da temperatura, sendo que em 30°C ocorreu 80% da emergência em 14 dias.

Segundo PAULA & SILVA (2001), a falta de água pode implicar na redução da porcentagem de germinação ou morte das plântulas recém germinadas. Por outro lado, o excesso de umidade pode provocar o aparecimento de fungos na semente, causando o mesmo efeito. Em regiões com baixa umidade relativa do ar é aconselhável cobrir a sementeira com plástico transparente, formando uma estufa. As plântulas, quando atingem cerca de um a dois cm, podem ser pulverizadas com adubos foliares, utilizando-se sempre a metade da dose recomendada pelo fabricante do produto.

Os produtores menos especializados e que usam menos tecnologia optam pelo cultivo por meio de sementes colhidas de matrizes próprias, enquanto os que buscam especialização e melhores recursos tecnológicos estão procurando material de propagação mais tecnicamente elaborado, como aquele proveniente de cultivo de meristemas ou de sementes selecionadas (ANDRADE & DEMATTÊ, 1999).

A propagação de bromélias a partir de sementes, dependendo da espécie cultivada, pode não ser capaz de fornecer um grande número de plantas em um curto espaço de tempo, sendo a uniformidade e o vigor das plantas uma característica interessante ao produtor comercial. Nesse sentido, a multiplicação *in vitro* oferece algumas vantagens, como taxas mais elevadas de obtenção de mudas com qualidade fitossanitária (MERCIER & NIEVOLA, 2003). Mas, se o principal objetivo é a preservação do patrimônio genético de uma dada espécie, a micropropagação deve ser iniciada por meio da cultura *in vitro* de sementes, as quais devem ser coletadas de diferentes populações na natureza, compondo uma amostragem ampla de genótipos (ENGELMANN, 1991; MENESCAL, 1996; MERCIER & NIEVOLA, 2003).

Segundo MANTOVANI & IGLESIAS (2005), em estudo sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântula de três espécies de bromélias terrestres, o aparecimento de escamas ocorre ainda na primeira folha, o que poderia favorecer seu estabelecimento em substratos mais secos e iluminados.

Outros trabalhos foram realizados com plântulas de bromélias tendo como enfoque fornecer informações para a taxonomia, dentre eles, destacam-se: o de PEREIRA (1988), sobre a morfologia do desenvolvimento pós-seminal de 56 espécies da subfamília Bromelioideae, fornecendo informações sobre a germinação e as principais fases do desenvolvimento pós-seminal, além de apresentar um glossário relativo à terminologia empregada; o de SCATENA et al., (2006), que observaram o desenvolvimento pós-seminal e a morfologia da semente de três espécies de *Tillandsia*; o de PEREIRA et al., (2008), cujo estudo demonstrou que a morfologia de sementes e o desenvolvimento pós-seminal constituem ferramentas úteis para estudos taxonômicos, ecológicos e de tecnologia de sementes.

## MICROPROPAGAÇÃO

A biotecnologia é uma das ferramentas utilizadas na conservação das espécies ameaçadas de extinção. Dentre as técnicas utilizadas para propagação dessas espécies destaca-se o cultivo *in vitro*, tanto na germinação de sementes como na propagação clonal por explantes (ENGELMANN, 1991; FAY; 1992; 1994; SARASAN et al., 2006).

O cultivo *in vitro* tem muitas vantagens sobre as técnicas de propagação convencionais, como a rápida multiplicação em ambiente controlado, condições livres de patógenos, redução de espaço físico utilizado para o cultivo, entre outros

(FAY, 1994; ENGELMANN, 1997; THORPE; HARRY, 1997; KOZAI et al., 1997). Também, por meio dessa técnica é possível intensificar a produção de várias espécies ornamentais (DEBERGH & MAENE, 1981; DEBERGH, 1994; MERCIER & KERBAUY, 1997) em atendimento à demanda do mercado de flores e, assim, contribuir indiretamente para a redução do extrativismo como, por exemplo, das bromélias (ZORNIG, 1996; MERCIER & NIEVOLA, 2003).

A propagação vegetativa de bromélias na natureza é lenta e a produção de mudas por meio de sementes não supera as necessidades de propagação destas plantas, pois as taxas de germinação no ambiente natural, em geral, são baixas (MERCIER & KERBAUY, 1995) e seu cultivo para comercialização não supre a demanda do mercado consumidor (SANTOS et al., 2005). Assim, o desenvolvimento de técnicas de cultivo *in vitro* de bromélias ornamentais é uma importante estratégia para a conservação, pois possibilita maior fornecimento de plantas no mercado, reduzindo a procura por indivíduos provenientes da natureza (TAMAKI et al., 2011).

Em bromélias, as respostas morfogênicas *in vitro* a partir de diferentes fontes de explantes estão geralmente associadas com a organogênese direta, levando à produção de brotos e/ou raízes (CARNEIRO et al., 1999).

Na tentativa de maximizar a diversidade genética das plantas produzidas por meio de técnicas *in vitro*, o material preferido para a iniciação de culturas é, normalmente, a semente. Dessa forma, espera-se que a integridade genética das plantas seja mantida, sem correr o risco de induzir à variação somaclonal, relacionada com a utilização de sistemas de cultura de calos e suspensão, dentre outras (FAY, 1994; MERCIER & NIEVOLA, 2003).

Entre as principais vantagens do cultivo *in vitro* a partir de sementes estão a maior porcentagem de sementes germinadas e velocidade de germinação quando comparadas ao processo ocorrido em ambiente natural (MERCIER & KERBAUY, 1995) e a possibilidade de gerar um grande número de plantas-matrizes, evitando a retirada de indivíduos da natureza. Adicionalmente, as plântulas obtidas *in vitro* podem funcionar como doadoras de explantes para posterior processo de propagação, visando à clonagem em larga escala, auxiliando na redução da atividade extrativista e no abastecimento do mercado paisagístico e floricultor (PEREIRA et al., 2011). Estas plântulas também podem ser mantidas em meio de crescimento sendo posteriormente aclimatadas.

A germinação de bromélias *in vitro* tem sido relatada na literatura com resultados diferenciados para as espécies. Segundo POMPELLI et al., (2006), o conhecimento disponível para o manejo e análise de sementes de plantas nativas é restrito, não sendo conhecidos atributos físicos e fisiológicos, bem como informações básicas sobre a germinação, o cultivo e as potencialidades destas espécies.

No cultivo *in vitro*, fatores como temperatura, luminosidade, água, substratos e nutrientes podem ser controlados (DEBERGH, 1991; KOZAI et al., 1997; POSPÍŠILOVÁ et al., 1999; SIMÕES et al., 2001; HAZARIKA, 2003; RODRIGUES et al., 2005). Além disso, o ambiente do cultivo *in vitro* pode ser caracterizado por apresentar espaço limitado, baixa irradiação, alta umidade relativa do ar no interior dos frascos, o que pode levar a trocas gasosas ineficientes e a um estado de saturação de CO<sub>2</sub> (KOZAI et al., 1997; POSPÍŠILOVÁ et al., 1999).

Nos protocolos de micropropagação de bromélias podem ser utilizados vários tipos de explantes, como: plântulas (GALVANESE et al., 2007; SILVA et al., 2008; SILVEIRA et al., 2009), segmentos florais (HUANG et al., 2010) ápices caulinares (PARDO et al., 2008), folhas, caules (CARNEIRO et al., 1999; MENDES et al., 2007;

SILVA, A.L.L. et al., 2009) brotos laterais (MATHEWS & RAO, 1992) entre outros.

Tecidos como a região basal de folhas e escamas em bulbos de monocotiledôneas apresentam células com potencial morfogenético quando ativado por reguladores de crescimento (GUERRA & VESCO, 2010). Estes explantes têm sido utilizados com sucesso em sistemas de cultivo *in vitro* em várias espécies de bromeliáceas (CARNEIRO et al., 1999; MERCIER & KERBAUY, 1997; ALVES & GUERRA, 2001; FARIA, 2011; SIMÃO, 2011).

Os primeiros trabalhos com o cultivo *in vitro* de bromélias iniciaram-se na década de 70 com MAPES (1973), que utilizou ápices caulinares de *Ananas erectifolius* L.B. Sm., *Portea petropolitana* (Wawra) Mez, *Guzmania* sp. inoculadas em meio de cultura K (Knudson 1946) e fitorreguladores. Em seguida, JONES; MURASHIGE (1974) utilizaram ápices caulinares e gemas axilares de *Aechmea fasciata* (Lindl.) Baker inoculadas em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com fitorreguladores, logo após testaram essas condições para outros 19 gêneros de Bromeliaceae.

Devido à sua importância econômica, a espécie de bromélia mais produzida por técnicas de cultivo *in vitro* é o abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill). O primeiro trabalho foi de MATHEWS & RANGAN (1979), sobre os fatores hormonais na formação do calo e subsequente regeneração das plantas. Outros trabalhos foram realizados testando protocolos, principalmente a concentração de fitorreguladores e o tipo de meio de cultura, a fim de obter um grande número de plantas de alta qualidade (MATHEWS & RANGAN, 1981; ZEPEDA & SAGAWA, 1981; PESCADOR & KOLLER, 1992; KISS et al., 1995; DEVI et al., 1997; TENG, 1997; GUERRA et al., 1999; VESCO et al., 2000; GONZÁLEZ-OLMEDO et al., 2005; TAMAKI et al., 2007).

Também foram descritos diversos outros sistemas de cultura *in vitro* para bromélias, tanto de espécie de interesse ornamental (ZIV et al., 1986; MERCIER & KERBAUY, 1992; NAVES, 2001; SANTOS, 2009), como para endêmicas e ameaçadas (MERCIER & KERBAUY, 1994; 1995; ARRABAL et al., 2002; PICKENS et al., 2003; DROSTE et al., 2005; RECH FILHO et al., 2005; GARCIA-SUAREZ et al., 2006; ALVES et al., 2006, SILVA et al., 2007, SILVEIRA et al., 2009), bem como para estudos fisiológicos, principalmente sobre a assimilação de nitrogênio (ENDRES; MERCIER, 2001; NIEVOLA et al., 2001; ENDRES et al., 2002; KURITA, 2008) e estudos sobre o efeito da temperatura no metabolismo (NIEVOLA et al., 2005; MOLLO, 2009).

Tais sistemas incluem a obtenção de plantas *in vitro* a partir de: sementes (MERCIER & KERBAUY, 1994; MERCIER & KERBAUY, 1995; NIEVOLA et al., 2005; PICKENS et al., 2003, DROSTE et al., 2005; GARCIA-SUAREZ et al., 2006; ALVES et al., 2006; PICKENS et al., 2006, SILVA et al., 2007; MOLLO, 2009; SILVA et al., 2009; SILVEIRA et al., 2009; CHU et al., 2010); ápices caulinares (DAVIDSON & DONNAN, 1977; PARDO et al., 2008); gemas axilares (MATHEWS & RANGAN, 1981; ZIV et al., 1986; PESCADOR & KOLLER, 1992; KISS et al., 1995; RECH FILHO et al., 2005); segmentos nodais (NIEVOLA et al., 2005; TAMAKI et al., 2007; SANTOS, 2009); meristemas (TOMBOLATO et al., 1991); folhas (HOSOKI; ASAHIRA, 1980; MERCIER; KERBAUY, 1992; VINTERHALTER & VINTERHALTER, 1994).

Porém, a maioria dos estudos utiliza reguladores de crescimento, em diferentes concentrações e combinações, a fim de garantir a produção das plantas. As combinações entre o uso de reguladores e os tipos de explantes são definidas de acordo com a resposta morfogênica desejada e a disponibilidade de plantas matrizes. Portanto, o desenvolvimento de protocolos eficientes de micropropagação

exige adequações para cada espécie, relativas ao tipo de explante, às combinações de reguladores de crescimento e às condições de cultura (CARNEIRO & MANSUR, 2004).

A suplementação de meios de cultura com reguladores como o ácido naftalenacético (ANA) e o 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido associada com eventos morfogênicos durante o estabelecimento *in vitro* de bromeliáceas. Plântulas de *Aechmea blanchetiana* e *Vriesea gigantea* estabelecidas *in vitro* por meio de sementes apresentaram maior número de brotos no meio MS líquido suplementado com 26,85 µM ANA e 22,62 µM BAP e no meio MS sólido suplementado com 0,54 µM ANA e 2,22 µM BAP, respectivamente (GALVANESE et al., 2007; BENCKE & DROSTE, 2008).

CARNEIRO et al., (1999) utilizando explantes foliares e hastes caulinares de plântulas estabelecidas *in vitro* de *Neoregelia cruenta* com 7, 14 e 24 semanas de cultivo observaram uma maior formação de brotos em explantes com sete semanas de cultivo nos meios suplementados com 2,5 µM ANA e 22 µM BAP.

Meios de cultura suplementados com ANA e BAP também foram eficientes na indução de brotos nas espécies *Dyckia maritima* (SILVA et al., 2008), *Neoglaziovia variegata* (SILVEIRA et al., 2009), *Vriesea scalaris* (SILVA, A. L. L. et al., 2009), *Billbergia distachia* (MENDES et al., 2007), *Aechmea ramosa* (FARIA, 2011) e *Bilbergia euphemiae* (SIMÃO, 2011)

Embora tenha muitas vantagens, as técnicas de micropropagação apresentam custos elevados, se levar em conta todo o processo da multiplicação, crescimento e aclimatação (KOZAI, 1991). Alguns fatores que aumentam o custo da produção são: o longo período requerido em cada estágio da cultura; a baixa taxa de multiplicação; a contaminação biológica; a porcentagem de plantas mortas devido ao estresse ambiental durante a fase da aclimatação; as desordens fisiológicas e morfológicas durante a fase de multiplicação ou do crescimento; os significativos custos com a iluminação, ar condicionado e esterilização; os significativos custos com os frascos, nutrientes, reguladores de crescimento, agentes gelificantes e carboidratos; o espaço requerido para a preparação e manutenção das culturas (KOZAI, 1990; ZORNIG, 1996).

Dentre os fatores que podem influenciar o crescimento e desenvolvimento das plantas *in vitro* pode-se citar a temperatura. NIEVOLA et al., (2005) verificaram uma redução do crescimento de plantas de *Ananas comosus* (L.) Merr. quando cultivadas *in vitro* em termoperíodo (28°C claro/ 15°C escuro), em comparação com plantas mantidas a 28°C constante, sendo o parâmetro mais afetado o comprimento da planta, pois as plantas que se desenvolveram em temperatura constante apresentavam o dobro do comprimento se comparadas com as plantas que permaneceram em alternância de temperatura. Além disso, a mudança no regime de temperatura afetou o metabolismo fotossintético de CAM para C<sub>3</sub>. A redução no crescimento também foi demonstrado em trabalho de MOLLO (2009), sobre o efeito da temperatura no crescimento *in vitro* de plantas de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms, sugerindo que a temperatura baixa teve maior influência em inibir o crescimento das plantas do que a temperatura alta em estimular o processo, no entanto não foram observadas alterações na morfologia da espécie estudada.

Outro fator importante para o desenvolvimento das plantas é a eficiência fotossintética e, segundo ENGEL & POGGIANI (1991) está ligada ao teor de clorofila das plantas, que pode afetar o crescimento e influenciar a adaptabilidade das mesmas aos diversos ambientes. Plantas da mesma espécie cultivadas *in vitro* apresentam, normalmente, redução nos teores de clorofila, quando comparadas

àquelas plantas aclimatadas (POSPÍŠILOVÁ et al., 1999; BORGHEZAN et al., 2003).

Além do crescimento, que usa dados biométricos ou de massa, a quantificação do conteúdo de clorofila e a de outros compostos nitrogenados têm sido parâmetros importantes na avaliação da nutrição nitrogenada (ARGENTA et al., 2004). No crescimento de plantas clonadas de *Ananas comosus* cultivar Smooth Cayenne, cultivadas *in vitro* em diferentes diluições dos macronutrientes do meio MS (MURASHIGE & KOOG, 1962), foi possível observar que a quantidade de clorofilas a+b não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos MS, MS/2 e MS/5, concluindo que a quantidade absorvida e assimilada de nitrogênio, a partir do meio MS/5, foi suficiente para o desenvolvimento normal dessas plantas (TAMAKI et al., 2007).

Uma vez regeneradas as plântulas *in vitro*, as mesmas devem ter a capacidade para sobreviverem em condições naturais de cultivo. Assim, outro momento crucial para o sucesso do cultivo *in vitro* é a fase da aclimação, ou seja, quando as plantas saem das condições *in vitro* e são transferidas para as estufas (condição *ex vitro*). O índice de sobrevivência para algumas espécies, nessa fase de aclimação, é muito baixo, tornando-se um grave problema na produção de plantas (DONNELLY & TISDALL, 1993; KADLEČEK et al., 2001). Portanto, o processo de aclimação deve ser realizado gradativa e cuidadosamente na tentativa de minimizar as perdas.

Nesta fase a planta passa de um ambiente de baixa transpiração, devido à baixa irradiância e à elevada umidade relativa, para um ambiente que demanda um incremento no fluxo transpiratório, ficando muito suscetível ao estresse hídrico. Ainda, a planta passa de um estado heterotrófico, na qual depende do suprimento exógeno de energia (fonte de açúcar no meio) e de alta disponibilidade de nutrientes, para um estado autotrófico, no qual precisa realizar fotossíntese e incrementar rapidamente a absorção de nutrientes para sobreviver (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; CAMPOSTRINI & OTONI, 1996).

Dessa forma, parâmetros morfofisiológicos do crescimento, como a utilização do CO<sub>2</sub> e produção de biomassa (FILA et al., 1998; MACIEL et al., 2000; RADMANN et al., 2001; SHIM et al., 2003), teor de clorofila (BORGHEZAN et al., 2003; SHIM et al., 2003), características estomáticas (BARRY-ETIENNE et al., 2002; LOURO et al., 2003; SHIM et al., 2003; BARBOZA et al., 2006), transpiração e potencial hídrico das folhas (FILA et al., 1998; BARRY-ETIENNE et al., 2002), têm sido avaliados e relacionados à aclimação de plantas provenientes de cultura *in vitro*.

Vários aspectos têm sido considerados para se estabelecer qual o melhor momento para a transferência das plantas cultivadas *in vitro* para a casa de vegetação. Dentre eles pode-se citar o tempo de cultivo (SKREBSKY et al., 2004) e a massa das plantas (BARBOZA et al., 2006). Contudo, o parâmetro mais relatado é o tamanho das plantas micropropagadas, como foi observado para *Syringa vulgaris* L. (HILDEBRAND & HARNEY, 1983), para *Euphorbia fulgens* Karw. (ZHANG, STOLTZ, 1989), *Daphne odora* Thunb. (CHRISTIE & BRASCAMP, 1989), *Saintpaulia ionantha* Wendl (TERCEIRO NETO et al., 2004).

Segundo PIERIK (1987), a diminuição dos subcultivos e, conseqüentemente, no tempo de cultivo *in vitro* aumenta a economia de materiais e substâncias, sendo importante na relação custo - benefício para a produção comercial. RODRIGUES et al., (2004), em trabalho com o desenvolvimento de mudas de *Alcantarea imperialis* em diferentes substratos, relataram que as plantas foram transferidas do cultivo *in vitro* com 7 meses de idade e 7,5 cm de altura, não fazendo menção se plantas



mantidas em outros períodos no cultivo *in vitro* apresentaram sucesso na aclimação.

Adicionalmente, o desenvolvimento de raízes também foi considerado como fator importante para a aclimação de plantas de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) (CORSATO & CROCOMO, 2002). Esses autores concluíram que as plantas mais indicadas para a aclimação apresentavam cinco centímetros de altura, pelo menos dois pares de folhas e raízes já desenvolvidas, porém não mencionaram qual o tempo de cultivo *in vitro* necessário para produzir plantas desse tamanho. Por outro lado, SOBRINHO et al., (2007), em trabalho sobre a permanência no cultivo *in vitro* de plantas de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), verificaram que quanto maior o tempo *in vitro* menor era a porcentagem de sobrevivência das plantas na aclimação. Porém, ainda não se sabe se o tempo de permanência das plantas no cultivo *in vitro* interfere no sucesso da aclimação.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a grande importância da família Bromeliaceae e os problemas associados à erosão genética devido à exploração excessiva de seu germoplasma vegetal na natureza, o desenvolvimento de trabalhos que visem o estabelecimento de formas alternativas de obtenção de mudas torna-se necessário e de grande importância, pois contribuirá para a diminuição do extrativismo de muitas espécies para fins ornamentais.

Neste contexto, conhecer os aspectos relacionados à propagação das espécies em condições *ex situ*, seja por germinação de sementes ou cultivo *in vitro* de outros explantes vegetais, torna-se de extrema relevância.

Assim, a realização de estudos multidisciplinares que abordem aspectos da fisiologia, bioquímica, anatomia e genética do processo de germinação de sementes, *in vitro* e *ex vitro*, e das respostas morfogênicas estabelecidas *in vitro* poderão auxiliar na adoção de medidas mais eficientes nos sistemas de propagação de bromélias de forma a obter maior quantidade de mudas e de boa qualidade fitossanitária para o mercado horticultor. Além disso, contribuirá também na conservação e construção de bancos de germoplasma de importantes representantes desta família.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G.M.; GUERRA, M.P. Micropropagation for mass propagation and conservation of *Vriesea friburgensis* var. *paludosa* from microbuds. **Journal of the Bromeliad Society**, Orlando, v. 51 n. 5, p. 202-212, 2001.

ALVES, G.M.; VESCO, L.L.D.; GUERRA, M.P. Micropropagation of the Brazilian endemic bromeliad *Vriesea reitzii* through nodule clusters culture. **Scientia Horticulturae**, Mission, v. 110, p. 204-207, 2006.

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

ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; SANGOI, L. Leaf relative chlorophyll content as an indicator parameter to predict nitrogen fertilization in maize. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1379-1387, 2004.

ARRABAL, R.; AMANCIO, F.; CARNEIRO, L.A.; NEVES, L.J.; MANSUR, E. Micropropagation of endangered endemic Brazilian bromeliad *Cryptanthus sinuosus* (L.B. Smith) for *in vitro* preservation. **Biodiversity and Conservation**, v. 11, p. 1081-1089, 2002.

BARBOZA, S.B.S.C.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; TEIXEIRA, J.B.; PORTES, T.A.; SOUZA, L.A.C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 185-194, 2006.

BARRY-ETIENNE, D.; BERTRAND, B.; VASQUEZ, N.; ETIENNE, H. Comparison of somatic embryogenesis-derived coffee (*Coffea arabica* L.) plantlets regenerated *in vitro* or *ex vitro*: Morphological, mineral and water characteristics. **Annals of Botany**, v. 90, p. 77-85, 2002.

BENCKE, M.; DROSTE, A. Otimização da micropropagação de *Vriesea gigantea* Gaudich. (Bromeliaceae), uma espécie ameaçada de extinção, nativa do Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisas, Botânica**, São Leopoldo, v. 59, p. 299-306, 2008.

BENZING, D.H. Bromeliad trichomes: structure, function, and ecological significance. **Selbyana**, Sarasota, v. 1, p. 330-348, 1976.

BENZING, D.H.; SEEMANN, J.; RENFROW, A. The foliar epidermis in Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its role in habitat selection. **American Journal of Botany**, v. 65, p. 359-365, 1978.

BORGHEZAN, M.; MORAES, L.K.A.; MOREIRA, F.M.; SILVA, A.L. Propagação *in vitro* e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 783-789, 2003.

CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W.C. Aclimação de Mudanças: Abordagens Recentes. **ABCTP Notícias**, CNPH/EMBRAPA, Brasília, n.25, 12 p., 1996.

CARNEIRO, L. A.; ARAÚJO, R. F. G; BRITO, C. J. M. In vitro regeneration from leaf explants of *Neoregelia cruenta* (R. Graham). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 55:79-83, 1999.

CARNEIRO, L. A.; MANSUR, E. Contribuição de metodologias *in vitro* para a conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, Viçosa, v. 2, n. 1, p. 12-20, 2004.

CHAN, B.K.; PETERSON, A.L.; FARMER, C.G. *Dendrobates auratus* (green and black poison dart frog). Larval predation. **Herpetological Review**, Kansas, v. 38, p. 321-322, 2007

CHRISTIE, C.B.; BRASCAMP, W. Exflasking high health *Daphne odora* plantlets. **Combined Proceedings - International Plant Propagators Society**, Carlisle, v. 38, p. 394-398, 1989.

CHU, E.P.; TAVARES, A.R.; KANASHIRO, S.; GIAMPAOLI, P.; YOKOTA, E.S. Effects of auxins on soluble carbohydrates, starch and soluble protein content in *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae) cultured *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Mission, v. 125, p. 451-455, 2010

CORSATO, C.E.; CROCOMO, O.J. Aclimação de plantas de morangueiro *in vitro* em presença de fungos endomicorrízicos. **UNIMONTES Científica**, Montes Claros, v. 3, p. 1-15, 2002

DAVIDSON, S.E.; DONNAN, A. *In vitro* propagation of *Cryptanthus* spp. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, Lake Alfred, v. 90, p. 303-304, 1977.

DEBERGH, P.C.; MAENE, L.J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Mission, v.14, p. 335-345, 1981.

DEBERGH, P.C. Acclimatization techniques of plants from *in vitro*. **Acta Horticulturae**, v. 289, p. 291-300, 1991.

DEBERGH, P.C. ***In vitro* culture of Ornamentals**. In: VASIL, I.K; THORPE, T.A. (eds.). Plant Cell and Tissue Culture. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 561-573, 1994.

DEVI, Y.S.; MUJIB, A.; KUNDU, S.C. Efficient regenerative potential from long term culture of pineapple. **Phytomorphology**, v. 47, p. 255-259, 1997.

DONNELLY, D.J.; TISDALL, L. **Acclimatization strategies for micropropagated plants**. In: AHUJA, M.R. (ed.). Micropropagation of woody plants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.153-166, 1993.

DOWNS, R.J. Photocontrol of germination of seeds of the Bromeliaceae. **Phyton**, v. 21, p. 1-6, 1964

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

ENDRES, L.; MERCIER, H. Ammonium and urea as nitrogen sources for bromeliads. **Journal of Plant Physiology**, v.158, p. 205-212, 2001.

ENDRES, L.; SOUZA, B.M.; MERCIER, H. *In vitro* nitrogen nutrition and hormonal pattern in bromeliads. **In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 38, p. 481-486, 2002.

ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de 4 espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 3, p. 39-45, 1991.

ENGELMANN, F. *In vitro* conservation of tropical plant germplasm – a review. **Euphytica**, v. 57, p. 227-243, 1991.

ENGELMANN, F. Present development and use of *in vitro* culture techniques for the conservation of plant genetic resources. **Acta Horticulturae**, v. 447, p. 471-475, 1997.

FARIA, D.V. **Indução *in vitro* de brotos em *Aechmea ramosa* var. *ramosa* Mart. ex Schult. f. (BROMELIACEAE)**. 2011. 36f. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.

FAY, M.F. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. **In Vitro Cellular Development Biology**, v. 28, p. 1-4, 1992.

FAY, M.F. In what situations is *in vitro* culture appropriate to plant conservation? **Biodiversity and Conservation**, v. 3, p. 176-183, 1994

FILA, G.; GHASHGHAIE, J.; HOARAU, J.; CORNIC, G. Photosynthesis, leaf conductance and water relations of *in vitro* cultured grapevine rootstock in relation to acclimatisation. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 102, p. 411-418, 1998.

FRANK, J.H.; LOUNIBOS, L.P. Insects and allies associated with bromeliads: a review. **Terrestrial Arthropod Reviews**, Washington, v. 1, p. 125-153, 2009.

GALVANESE, M.S.; TAVARES, A.R.; AGUIAR, F.F.A.; KANASHIRO, S.; CHU, E.P.; STANCATO, G.C.; HARDER, I.C.F. Efeito de ANA, 6-BA e ágar na propagação *in vitro* de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B. Smith, bromélia nativa da Mata Atlântica. **Ceres**, Viçosa, v. 54 n. 311, p. 63-67, 2007.

GARCIA-SUAREZ, M.D.; RICO-GRAY, V.; MOLINA-ACEVES, N.; SERRANO, H. *In vitro* germination and clonal propagation of endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from México. **Selbyana**, Sarasota, v. 27, p. 54-59, 2006.

GONZÁLEZ-OLMEDO, J.L.; FUNDORA, Z.; MOLINA, L.A.; ABDULNOUR, J.; DESJARDINS, Y.; ESCALONA, M. New contributions to propagation of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) in temporary immersion bioreactors. **In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 41, p. 87-90, 2005.

GRATAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. p. 99-169.

GUERRA, M.P.; VESCO, L.L.D.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A.R.; NODARI, R.O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1557-1563, 1999.

GUERRA, M.P.; VESCO, L.L.D. **Strategies for the Micropropagation of Bromeliads**. In: JAIN, S. M.; OCHATT, S. J. (eds.). *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants - Methods in Molecular Biology*. SpringerHumana Press, p.47-

66. 2010.

HAZARIKA, B.N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Bangalore, v. 85, p. 1704-1712, 2003.

HILDEBRANDT, V.; HARNEY, P.M. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* "Vesper". **HortScience**, v. 18, p. 432-434, 1983.

HOSOKI, T.; ASAHIRA, T. *In vitro* propagation of bromeliads in liquid culture. **HortScience**, v. 15, p. 603-604, 1980.

HUANG, P.L.; LIAO, L.J.; TSAI, C.C.; LIU, Z.H. Plant Micropropagation of bromeliad *Aechmea fasciata* via floral organ segments and effects of acclimatization on plantlet growth. **Cell Tissue Organ Culture**, Dordrecht, v. 130, p. 894 - 898, 2010

JACQUES-FÉLIX, H. The Discovery of a Bromeliad in Africa: *Pitcairnia feliciana*. **Selbyana**, Sarasota, v. 21, p. 118-124, 2000.

JONES, J.B.; MURASHIGE, T. Tissue culture propagation of *Aechmea fasciata* Baker and other bromeliads. **International Plant Propagators Society Combined Proceedings**, Carlisle, v. 24, p. 117-127, 1974.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 1999.

KADLEČEK, P.; TICHÁ, I.; HASEL, D.; ČAPKOVÁ, V.; SCHÄFER, C. Importance of *in vitro* pretreatment for *ex vitro* acclimatization and growth. **Plant Science**, Davis, v. 161, p. 695-701, 2001

KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L.E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, v. 30, p. 127-129, 1995.

KOZAI, T. **Micropropagation under photoautotrophic conditions**. In: DEBERGH, P.; ZIMMERMAN, R.H. (eds.). *Micropropagation: technology and application*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 449-471, 1990.

KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation. **In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 27, p. 47-51, 1991.

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B.R. 1997. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, p. 49-56, 1997.

KURITA, F.M.K. **Crescimento *in vitro* da bromélia *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms com diferentes concentrações de nitrogênio**. 2008. Monografia - Universidade Braz Cubas, Mogi das Cruzes.

LEME, E.M.C.; MARIGO, L.C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual Ltda., 1983.

LEME, E.M.C.; SIQUEIRA FILHO, J.A. **Taxonomia das bromélias dos fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco e Alagoas**. In: SIQUEIRA FILHO, J.A.; LEME, E.M.C. (eds.). Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste – Biodiversidade, Conservação e suas Bromélias. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, p. 191-381. 2006.

LEME, E.M.C. **Canistrum: Bromélias da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro, Salamandra, 107 pp. 1997.

LOURO, R.P.; SANTIAGO, L.J.M.; MACHADO, R.D.; SANTOS, A.V. Ultrastructure of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* plants cultivated *ex vitro* greenhouse and field conditions. **Trees, Structures and Functions**, v. 7, p. 11-22, 2003

LUTHER, H. E. **An Alphabetical List of Bromeliad Binomials**. 11. ed. Florida: Bromeliad Society International, 2008. 114 p.

MACIEL, A.L.R.; SILVA, A.B.; PASQUAL, M. Acimação de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 9-12, 2000.

MANTOVANI, A.; IGLESIAS, R.R. Quando aparece a primeira escama? Estudo comparativo sobre o surgimento de escamas de absorção em três espécies de bromélias terrestres de restinga. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 56, p. 73-84, 2005.

MAPES, O.M. Tissue culture of bromeliads. **International Plant Propagators Society Combined Proceedings**, Carlisle, v. 23, p. 47-55, 1973.

MARTINELLI, G.; VIEIRA, C.M.; GONZALEZ, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A.F.; FORZZA, R.C. Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 1, p. 209-258, 2008.

MATHEWS, V.H.; RANGAN, T.S. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explants *in vitro* cultures of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Mission, v. 11, p. 319-328, 1979.

MATHEWS, V.H.; RANGAN, T.S. Growth and regeneration of plantlets in callus cultures of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Mission, v. 14, p. 227-234. 1981.

MATHEWS, V. H.; RAO, P.S. *In vitro* plant regeneration in lateral bud explants of *Cryptanthus bromelioides* var. *Tricolor* M. B. Foster. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 1, p. 108-110, 1992.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 3 ed. Pergamon Press, Oxford, 1982.

MENDES, G.C.; SOARES, C.Q.G.; BRAGA, V.F.; PINTO, L.C.; SANTANA, R.; VICCINI, L.F.; PEIXOTO, P.H.P. Multiplicação *in vitro* de explantes de *Billbergia Distachia* (Vellozo) MEZ (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Biociência**, Porta Alegre, v. 5, supl 2, p. 972-974, 2007.

MENESCAL, R. Reprodução de bromélias por sementes. **Bromélia**, São Paulo, v. 1, p. 8-10, 1994.

MENESCAL, R. Cultivando bromélias – reprodução por brotos. **Bromélia**, São Paulo, v. 3, p. 26-28, 1996

MERCIER, H.; GUERREIRO FILHO, O. Propagação sexuada de algumas bromélias nativas da Mata Atlântica: efeito da luz e da temperatura na germinação. **Hoehnea**, São Paulo, v. 17, p. 19-26, 1990.

MERCIER, H.; KERBAUY, G.B. *In vitro* multiplication of *Vriesea fosteriana*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 30, p. 247-249, 1992.

MERCIER, H., KERBAUY, G. B. *In vitro* culture of *Vriesea hieroglyphica*, an endangered bromeliad from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of the Bromeliad Society**, USA, v.44, p.120-124, 1994.

MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. The importance of tissue culture technique for conservation of endangered Brazilian bromeliads from Atlantic rain forest canopy. **Selbyana**, USA, v. 16, p. 147-149, 1995

MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. **Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae)**. In: BAJAY, Y.P.S. (ed.). *Biotechnology in Agriculture and Florestry*. Berlin: Springer verlag, p. 43-57, 1997

MERCIER, H.; NIEVOLA, C. C. Obtenção de bromélias *in vitro* como estratégia de preservação. **Vidalia**, Viçosa, v.1, n.1, p. 57-62. 2003.

MOBOT, **Missouri Botanical Garden, W<sup>3</sup> Specimen Data Base**. [online]. 2008. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb/>. Acesso em: 13 setembro 2011

MOLLO, L. **Efeito da temperatura no crescimento, no conteúdo e na composição de carboidratos não estruturais de plantas de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms (Bromeliaceae) cultivadas *in vitro***. 2009. Dissertação de Mestrado -Instituto de Botânica, São Paulo.

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

NAVES, V. C. **Propagação *in vitro* de bromélia imperial *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms**. 2001. 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia–Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NIEVOLA, C.C.; MERCIER, H.; MAJEROWICZ, N. Levels of nitrogen assimilation in bromeliads with different growth habits. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 24, p. 1387-1398, 2001.

NIEVOLA, C.C.; KRAUS, J.E.; FRESCHI, L.; SOUZA, B.M.; MERCIER, H. Temperature determines the occurrence of CAM or C<sub>3</sub> photosynthesis in pineapple plantlets grown *in vitro*. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, v. 41, p. 832-837, 2005.

NUNES, J.V.C. **BROMÉLIAS**. IN: SIMÕES, L.L.; LINO, C.F. (ed). Sustentável Mata Atlântica: A exploração de seus recursos florestais. São Paulo: SENAC, p.119-132, 2002.

OLIVEIRA, M.G.N.; ROCHA, C.F.D.; BAGNALL, T.A. A comunidade animal associada à bromélia tanque *Neoregelia cruenta* (R. Graham) L.B.Smith. **Bromélia**, São Paulo, v. 1, p. 22-29, 1994

OLIVEIRA, M.G.N.; ROCHA, C.F.D. O efeito da complexidade da bromélia-tanque *Neoregelia cruenta* (R.Graham) L.B. Smith sobre a comunidade animal associada. **Bromélia**, São Paulo, v. 4, p. 13-22, 1997.

PARDO, A.; MICHELANGELI, C.; MOGOLLÓN, N.; ALVARADO, G. Regeneración *In Vitro* de *Billbergia Rosea* Hortus Ex Beer a partir de ápices caulinares. **Boletín Del Centro De Investigaciones Biológicas**, Zulia, v. 42, n. 4 , p. 491–505 2008.

PAULA, C.C.; SILVA, H.M.P. **Cultivo prático de bromélias**. 2 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001.

PEREIRA, A.R.; PEREIRA, T.S.; RODRIGUES, A.S.; ANDRADE, A.C.S. Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae. **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 22, p. 1150-1162, 2008

PEREIRA, T.S. Bromelioideae (Bromeliaceae): Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de algumas espécies. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v. 29, p. 115-154, 1988.

PEREIRA, E.O.; LIMA, A.B.P.; NOGUEIRA, E.U.; COUTO, D.R.; SOARES, T.C.B. Germinação *in vitro* de *Pitcairnia flammaea* (Bromeliaceae): efeito do meio de cultivo e do carvão ativo. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, N.13, p. 634-642, 2011

PESCADOR, R.; KOLLER, O.C. Propagação *in vitro* do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cv. Pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 14, p. 5-11, 1992.

PICKENS, K. A.; AFFOLTER, J. M.; WETZSTEIN, H. Y.; WOLF, J. H. D. Enhanced seed germination and seedling growth of *Tillandsia eizii* *in vitro*. **HortScience**, v. 38, n. 1, p. 101-104, 2003.

PICKENS, K.A.; WOLF, J.; AFFOLTER, J.M.; WETZTEIN, H.Y. Adventitious bud development and regeneration in *Tillandsia eizii*. **In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 42, p. 348-353, 2006.

PIERIK, R.L.M. **In vitro culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1987.



POMPELLI, M. F. Germinação de *Dyckia encholirioides* var *encholirioides* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae). **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v.13, n.1, p. 01-09, 2006.

POSPÍŠILOVÁ, J.; TICHÁ, I.; KADLEČEK, P.; HASEL, D.; PLZÁKOVÁ, Š. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. **Biologia Plantarum**, v. 42, p. 481-497, 1999.

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

RECH FILHO, A.; DAL VESCO, L. L.; NODARI, R. O.; LISCHKA, R. W.; MÜLLER, C. V.; GUERRA, M. P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v. 14, n. 8, p. 1799 – 1808, 2005.

REITZ, R. **Bromeliáceas e a malária - bromélia endêmica**. Itajaí: Flora Ilustrada Catarinense, 1983.

ROCHA, C.F.D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; ALMEIDA, D.R.; FREITAS, A.F.N. BROMÉLIAS: ampliadoras da biodiversidade. **Bromélia**, São Paulo, v.4, p. 7-10, 1997.

ROCHA, C.F.D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; NUNES-FREITAS, A.F.; ROCHA-PESSÔA, T.C.; DIAS, A.S.; ARIANI, C.V.; MORGADO, L.N. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, Viçosa, v. 2, p. 52-68, 2004.

RODRIGUES, P.H.V.; LIMA, A.M.L.P.; AMBROSANO, G.M.B.; DUTRA, M.F.B. Acclimatization of micropropagated *Heliconia bihai* (Heliconiaceae) plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 299-301, 2005

ROUSSE, A.R. **Bromelias: Manual prático de cultivo**. Caracas: Fondo Editorial Tropykos, 1992.

SANTOS, A.J.; BITTENCOURT, A.M.; NOGUEIRA, A.S. Aspectos Econômicos da Cadeia Produtiva das Bromélias na Região Metropolitana de Curitiba e Litoral Paranaense. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 35, n. 3, p: 409-417, 2005.

SANTOS, D.S. **Micropropagação da bromélia ornamental *Acanthostachys strobilacea* (Schultz F.) Klotzsch e a influência do etileno**. 2009. Dissertação de Mestrado - Instituto de Botânica, São Paulo.

SARASAN, V.A.; CRIPPS, R.; RAMSAY, M.M.; ATHERTON, C.; MCMICHEN, M.; PRENDERGAST, G.; ROWNTREE, J.K. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade. **In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v.

42, p. 206-214, 2006.

SCATENA, V.L.; SEGECIN, S.; COAN, A.I. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campos Gerais”, Paraná, Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, p. 945-951, 2006.

SCHULTZ, A. **Introdução à Botânica Sistemática**. 6 ed. V. 2. Porto Alegre: Sagra, 1990.

SHIM, S.-W.; HAHN, E.-J.; PAEK, K.-Y. *In vitro* and *ex vitro* growth of grapevine rootstock '5BB' as influenced by number of air exchanges and the presence or absence of sucrose in culture media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 75, p. 57-62, 2003.

SILVA

, A.L.L.; DORNELLES, E.B.; BISOGNIN, D.A.; FRANCO, E.T.H.; HORBACH, M.A. Micropropagation of *Dyckia agudensis* Irgang & Sobral – an extinction threatened bromeliad. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 62, p. 39-43, 2007.

SILVA, A.L.L.; FRANCO, E.T.H.; DORNELLES, E.B.; GESING, J.P.A. Micropropagação de *Dyckia maritima* Baker – Bromeliaceae. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 63, n. 1, p. 135-138, 2008.

SILVA, A.L.L. ; FRANCO, E.T.H.; DORNELLES, E.B.; BORTOLI, C.L.R.; QUOIRIN, M. *In vitro* Multiplication of Bromeliaceae. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 64, n. 2, p. 151-156, 2009.

SILVEIRA, D.G.; SOUZA, F.V.D.; PELACANI, C.R.; SOUZA, A.S.; LEDO, C.A.S.; SANTANA, J.R.F. Micropropagation and in Vitro Conservation of *Neoglaziovía variegata* (Arr. Cam.) Mez, a Fiber Producing Bromeliad from Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.52, n. 4, p. 923-932, 2009.

SIMÃO, M.J. **Indução *in vitro* de brotos em *Bilbergia euphemiae* E. Morren (BROMELIACEAE)**. 2011. 33f. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre

SIMÕES, F.C.; PAIVA, P.D.O.; PAIVA, R.; PASQUAL, M.; CARVALHO, L.M. Enraizamento, pré-aclimatização e aclimatização de plântulas de gladiolo. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, p. 143-147, 2001.

SKREBSKY, E.C.; NICOLOSO, F.T.; FERRÃO, G.E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1471-1477, 2004.

SOBRINHO, F.S.; PEREIRA, A.V.; LÉDO, F.J.S.; OLIVEIRA, J.S.; VARGAS, S.M. Aclimatização de germoplasma de capim-elefante, pós cultivo *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 11-15, 2007.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática – guia ilustrado para**

**identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

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, p. 67-73, 2007.

TAMAKI, V.; CARVALHO, C.; PAULA, S.M.; KANASHIRO, S. Soluções nutritivas alternativas para o cultivo de bromélias ornamentais. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 35, n.1, p. 91-97, 2011.

TEIXEIRA, R.L.; MILI, P.S.M.; ROEDDER, D. Ecology of anurans inhabiting bromeliads in a saxicolous habitat of southeastern Brazil. **Salamandra**, v. 42, p.155-163, 2006.

TENG, W.-L. An alternative propagation method of *Ananas* through nodule culture. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 16, p. 454-457, 1997.

TERCEIRO NETO, C.P.C.; HERNANDEZ, F.F.F.; BEZERRA, F.C.; SOUSA, R.F.; CAVALCANTI, M.L.C. Efeito de diferentes substratos na aclimação "ex vitro" de mudas de Violeta Africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 4, p. 1-6, 2004.

THORPE, T.A.; HARRY, I.S. Application of tissue culture to horticulture. **Acta Horticulturae**, v. 447, p. 39-49, 1997.

TOMBOLATO, A. F. C.; TABEBAYASHI, S. S. G.; COSTS, A. M. M.; QUIRINI, E. A. Cultura *in vitro* da Bromélia. **O Agrônômico**, Campinas, v. 43, n. 2/3, p. 77-78, 1991

VESCO, L.L.D.; PESCADOR, R.; BELÓ, A.; FEUSER, S.; OLIVEIRA, E.N.; BRANCHER, A.; ZAFFARI, G.R.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Qualidade genotípica de mudas e performace a campo de plantas micropropagadas de abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, p. 80-85, 2000.

VINTERHALTER, B.; VINTERHALTER, D. True-to-the type *in vitro* propagation of *Aechmea fasciata* Baker. **Scientia Horticulturae**, v. 57, p. 253-263, 1994.

ZEPEDA, C.; SAGAWA, Y. *In vitro* propagation of pineapple. **HortScience**, v. 16, p.495, 1981.

ZHANG, B.; STOLTZ, L.P. Acclimatization systems for *Euphorbia fulgens* microcuttings. **HortScience**, v. 24, p. 1025-1026, 1989.

ZIV, M.; YOGEV, T.; KREBS, O. Effects of paclobutrazol and chlormequat on growth pattern and shoot proliferation of normal and variant *Aechmea faciata* Baker plant regenerated *in vitro*. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 35, p. 175-182, 1986.

ZORNIG, R.K. Micropropagação de bromélias. **Bromélia**, São Paulo, v. 3, p. 3-8, 1996.

WANDERLEY, M.G.L.; MARTINS, S.E. **Bromeliaceae**. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; MELHEM, T.S.; GIULIETTI, A.M. (coord.). Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo: Instituto de Botânica, p. 39-161, 2007.