



Artigo Original / Original Paper

Micropropagação de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana*

Micropropagation of Aechmea miniata and Aechmea blanchetiana

Fabio Ribeiro Garcia^{1,8}, Cristina Ferreira Nepomuceno^{2,4}, Moema Angélica Chaves da Rocha^{2,5},
Alone Lima Brito^{3,6} & José Raniere Ferreira de Santana^{3,7}

Resumo

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a resposta morfológica da micropropagação de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana* após diferentes tratamentos com citocinina e auxinas. O estabelecimento *in vitro* se deu a partir de sementes de plantas adultas, com aproximadamente 2 anos de idade. Após descontaminação as sementes foram inoculadas em meio MS. Após 30 dias da germinação, foram isolados segmentos caulinares com aproximadamente 5 mm, e em seguida, foram transferidos para meio MS suplementado com BAP nas concentrações 4,44; 8,88 ou 13,32 μM . Ao final de 225 dias de cultivo, foi avaliado o número de brotos / explante, altura de brotações, porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento de raízes. Verificou-se que, para as duas espécies, a concentração 4,44 μM de BAP mostrou maior eficiência para a multiplicação. Para a etapa de enraizamento, os brotos obtidos *in vitro* foram inoculados em meio MS com metade da concentração salina de macronutrientes, acrescido com 1, 2 e 3 μM de AIB ou ANA. Aos 60 dias, verificou-se que as duas espécies apresentaram 100% de enraizamento em meio de cultura sem a adição de reguladores de crescimento. Após enraizamento as plantas foram transferidas para substrato, e aos 180 dias de cultivo foi verificado sobrevivência superior a 80%, independente da espécie.

Palavras-chave: aclimatização, auxinas, citocinina, enraizamento, multiplicação.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the morphogenic response of *Aechmea miniata* and *Aechmea blanchetiana* after different treatments with cytokinins and auxins during micropropagation. *In vitro* cultures were established from seeds of adult plants, approximately 2 years old. After sterilization, the seeds were inoculated in MS medium. 30 days after germination, caulin segments of approximately 5 mm were isolated, then, transferred to MS medium supplemented with BAP at concentrations of 4.44, 8.88, and 13.32 μM . At the end of 225 days of culture, the number of buds/explants, height of shoots, percentage of rooting, number of roots, and length of roots were evaluated. It was found that 4.44 μM BAP induced relatively higher frequency of multiplication in both species. For rooting, the shoots obtained *in vitro* were inoculated in MS medium with half of the concentration of macronutrient salts, and 1, 2, and 3 μM AIB or ANA. At 60 days, the two species exhibited 100% rooting in the medium without the addition of growth regulators. After rooting the plants were transferred to substrate, and at 180 days of culture, the survival rate was more than 80%, independent of the species.

Key words: acclimatization, auxins, cytokinin, rooting, multiplication.

¹ Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste, Lab. Pesquisas Aplicadas à Biofábricas, Recife, PE, Brasil. ORCID: <<https://orcid.org/0000-0001-8443-0099>>.

² Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, BA, Brasil.

³ Universidade Estadual de Feira de Santana, Depto. Ciências Biológicas, Horto Florestal, Feira de Santana, BA, Brasil.

⁴ ORCID: <<https://orcid.org/0000-0002-8242-1620>>.

⁵ ORCID: <<https://orcid.org/0000-0003-0404-9744>>.

⁶ ORCID: <<https://orcid.org/0000-0003-3481-6481>>.

⁷ ORCID: <<https://orcid.org/0000-0003-0186-6888>>.

⁸ Autor para correspondência: fabiogarcia.5@gmail.com

Introdução

A Mata Atlântica ocupa uma área de 1.315.460 km² (Fundação SOS Mata Atlântica 2015) ao longo da costa litorânea do território brasileiro, que se estende do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul (BFG 2015). Conhecida mundialmente como uma das áreas prioritárias para conservação (Versieux 2011), este bioma tem registrado crescente redução de sua cobertura vegetal, registrando no ano de 2014 apenas 8,5 % de sua área original (Fundação SOS Mata Atlântica 2015).

Entre os componentes de grande importância ecológica e econômica do bioma Mata Atlântica, encontram-se as bromélias, as quais, pela fragmentação deste ecossistema, e em função de seu valor ornamental, foram, ao longo do tempo, extraídas desordenadamente de seus habitats naturais (Guerra & Dal Vesco 2010).

Apesar do crescimento do mercado de plantas ornamentais, o cultivo comercial de bromélias ainda é incipiente, e muitas das espécies comercializadas, ainda são obtidas, principalmente através do extrativismo predatório, devido à disponibilidade dessas bromélias em seu ambiente natural e ao acesso facilitado (Silveira *et al.* 2009).

Aechmea miniata (Beer) Baker e *Aechmea blanchetiana* (Baker) L. B. Smith são espécies nativas da Mata Atlântica do Brasil, utilizadas no paisagismo, adaptadas a todas as regiões do país e vêm sendo extraídas de seu ambiente natural para atender a demanda do mercado de plantas ornamentais (Coelho & Amorim 2014). A reprodução destas espécies pode ser tanto pela via sexuada quanto assexuada. Na via sexuada, através de sementes, a maturação fisiológica da capsula de sementes pode ocorrer em até um ano, a partir da antese floral. Já na via assexuada, através de rebentos laterais, após a floração, uma planta em idade adulta pode fornecer no máximo, dois rebentos, e seguida, após emissão da inflorescência, a planta matriz entra em senescência (Santos *et al.* 2005).

A produção de mudas para atender à crescente demanda do mercado de plantas ornamentais seria uma estratégia para reduzir o extrativismo predatório (Silveira *et al.* 2009); e, neste cenário, a técnica de micropropagação pode ser uma ferramenta biotecnológica para atender esta demanda, disponibilizando uma grande quantidade de mudas sadias, livres de agentes fitopatogênicos, em curto tempo, quando comparada ao processo de reprodução (Palú *et al.* 2011). Além disso, a

micropropagação pode favorecer a seleção de plantas *in vitro* de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana*, que podem ser utilizadas como matrizes fornecedoras de explantes em trabalhos futuros.

Métodos de cultivo *in vitro* têm sido aplicados na conservação e multiplicação de diversos genótipos de bromélias (Lima *et al.* 2012), porém, o emprego desta técnica depende do estabelecimento de protocolos específicos. Segundo Guerra & Dal Vesco (2010) as respostas morfogênicas *in vitro* em bromélias, apresentam características diferenciadas dos sistemas regenerativos tradicionais e a variabilidade da resposta morfogênica existe até mesmo entre genótipos da mesma espécie.

Diante da escassez de estudos e das limitações para a propagação destas espécies, este trabalho teve como objetivo estabelecer os protocolos de micropropagação de *A. miniata* e *A. blanchetiana*.

Material e Métodos

O estabelecimento *in vitro* foi realizado a partir de cápsulas de sementes de *A. miniata* e *A. blanchetiana* coletadas de plantas com aproximadamente 2 anos de idade, logo no início da deiscência dos frutos (Fig. 1a), no Banco Ativo de Germoplasma de plantas ornamentais da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), localizada no município de Salvador, Bahia, Brasil.

Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram retiradas dos frutos e descontaminadas em álcool 70 % durante 1 minuto, seguido de solução de hipoclorito de sódio com 2 % de cloro ativo por 15 minutos e posteriormente foram lavadas duas vezes em água destilada estéril. Após a descontaminação as sementes foram transferidas para frascos de vidro (100 × 70 mm) contendo 25 mL do meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962) (Fig. 1b), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar, e pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da esterilização em autoclave à temperatura de 120 °C e pressão de 1 kgf cm⁻² durante 15 minutos.

Após a transferência das sementes, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, densidade de fluxo de fótons de 60 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 h. A cada dois dias, foram avaliados o número de sementes germinadas, até que este se tornasse constante. Foram consideradas como germinadas todas as sementes em que ocorreu a protusão da radícula e posteriormente formaram plantas normais (Fig. 1c). Após 50 dias de cultivo, foi

determinada a porcentagem de germinação. Para cada espécie foram utilizadas 4 repetições, sendo que cada repetição constou de um frasco contendo 50 sementes, totalizando 200 sementes por espécie.

Para a fase de multiplicação, em câmara de fluxo laminar, segmentos caulinares de plantas de *A. miniata* e *A. blanchetiana* germinadas *in vitro*, onde, cada planta germinada forneceu 1 explante

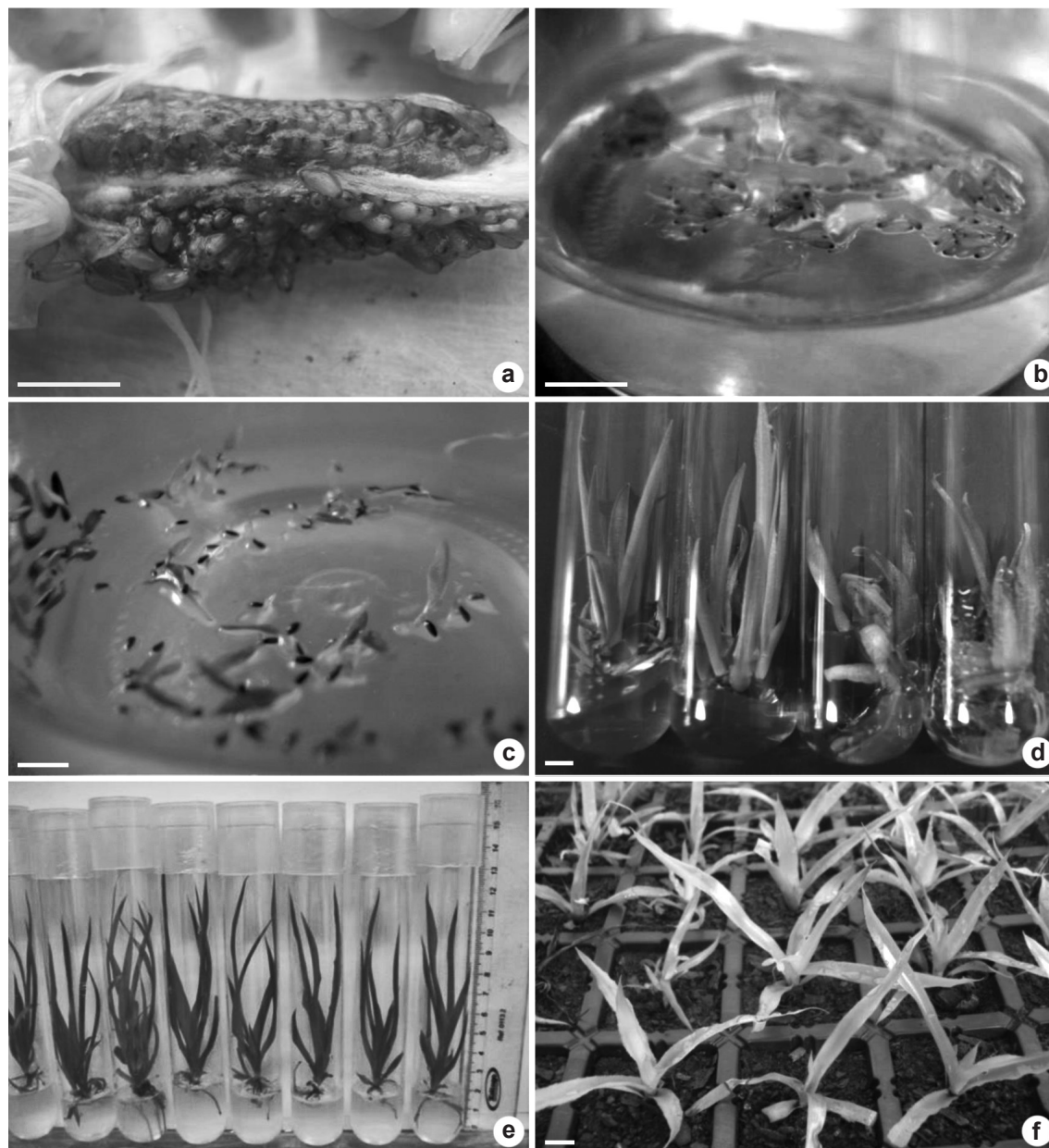


Figura 1 – a. Cápsula de sementes de *Aechmea miniata* ; b. sementes de *A. miniata* em meio de cultura; c. sementes de *A. miniata* após 15 dias em meio de cultura; d. brotações de *A. miniata* em meio de cultura com 4,44 μM de BAP; e. plântulas de *A. miniata* em meio de enraizamento; f. plântulas de *Aechmea* sp aos 180 dias de cultivo em substrato. (Barra de escala: 0,5 cm).

Figure 1 – a. *Aechmea miniata* seed capsule; b. seeds of *A. miniata* in culture medium; c. seeds of *A. miniata* after 15 days in culture medium; d. sprouts of *A. miniata* in culture medium with 4.44 μM BAP; e. *A. miniata* seedlings in rooting medium; f. *Aechmea* sp seedlings at 180 days of substrate cultivation. (Scale bar: 0.5 cm).

com aproximadamente 5 mm de altura, foram isolados a partir de plantas com 3 cm de altura e 0,2 cm de diâmetro. Em seguida, os segmentos caulinares foram inoculados em tubos de ensaio (25 × 150 mm) contendo 15 mL de meio de cultura MS, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar, acrescido de BAP nas concentrações 4,44; 8,88 ou 13,32 µM, mais um tratamento controle, sem a adição de BAP, totalizando 8 tratamentos. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da esterilização em autoclave à temperatura de 120 °C e pressão de 1 kgf cm⁻² durante 15 minutos.

Após a transferência, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, densidade de fluxo de fótons de 60 µmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 h. Para verificar a resposta morfogênica ao longo do tempo, foram realizados 5 subcultivos, totalizando 225 dias, com intervalo de 45 dias entre subcultivos. Em cada subcultivo, os explantes foram individualizados e novamente isolados de modo que ficassem com aproximadamente 5 mm de altura, e em seguida, inoculados em meio fresco, suplementado com a mesma concentração de BAP do meio de cultura de origem (Fig. 1d). Ao final do 5º subcultivo, foi avaliado o número total de brotos / explante, altura de brotações (cm), número de raízes, e comprimento das raízes (cm). Cada tratamento foi composto por 40 repetições, sendo que cada unidade experimental constituiu-se de 1 explante por tubo de ensaio.

Na fase de enraizamento, brotações de *A. miniata* e *A. blanchetiana* com aproximadamente 10 mm de comprimento, provenientes de meio de cultura sem a adição de regulador de crescimento (MS0), foram transferidas para tubos de ensaio (25 × 150 mm) contendo 15 mL de meio de cultura MS com metade da concentração salina de macronutrientes, acrescido isoladamente com ácido indol-butírico (AIB) ou ácido naftalenoacético (ANA) nas concentrações 1, 2 ou 3 µM, mais um tratamento controle, isento de auxina, totalizando 14 tratamentos (Fig. 1e). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da esterilização em autoclave à temperatura de 120 °C e pressão de 1 kgf cm⁻² durante 15 minutos. Após a transferência, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, densidade de fluxo de fótons de 60 µmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 h. Após 60 dias, foram analisados a porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento das raízes. Cada

tratamento foi composto por 40 repetições, sendo que cada unidade experimental constituiu-se de 1 explante por tubo de ensaio.

Com o intuito de avaliar o efeito dos tratamentos de enraizamento sobre a aclimatização, plantas de *A. miniata* e *A. blanchetiana* foram removidas da condição *in vitro* e tiveram suas raízes lavadas para a retirada do meio de cultura, em seguida foram transferidas para bandejas de polipropileno de 200 células, com dimensões de 5 × 5 × 9 cm, contendo substrato plantmax hortaliças HT® (Fig. 1f) onde permaneceram em casa de vegetação com interceptação luminosa de 50 % e irrigação com vazão de 60 L / H / m² durante 2 minutos. Nos primeiros 20 dias as plantas foram submetidas a duas irrigações diárias, com intervalo de 8 horas entre cada irrigação, sendo mantida apenas uma irrigação a partir do 21º dia. As plantas foram mantidas nestas condições por 180 dias, e após este período foi avaliado a porcentagem de sobrevivência das plantas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão. A comparação de médias foi realizada com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira 2014). Para homogeneizar a variância, fez-se a transformação de dados de número de folhas e número de raiz usando-se a fórmula $\sqrt{X + 0,5}$.

Resultados e Discussão

Após 50 dias de cultivo, foi verificado que a porcentagem de germinação de sementes de *A. miniata* e *A. blanchetiana* foi de 97,1 % e 90,2 %, respectivamente. A germinação *in vitro* não é um fator limitante para a propagação de bromélias, sendo relatadas altas taxas de germinação por diversos autores, como: Sasamori *et al.* (2016) trabalhando com *Vriesea incurvata* Gaudich; Pickens *et al.* (2003) com *Tillandsia eizii* L.B. Smith; e Santa-Rosa *et al.* (2013) e Silveira *et al.* (2009) com *Neoglaziovia variegata* (Arruda) Mez, que obtiveram respectivamente, 95, 86,7, 90 e 62 % de germinação em meio de cultura MS.

Na fase de multiplicação *in vitro* a partir de segmentos caulinares, o aumento das concentrações de BAP promoveu um comportamento linear crescente para o número de brotos / explante (Fig. 2), e, quando se utilizou a concentração 13,32 µM de BAP, obteve-se ao final de 225 dias de cultivo o maior número de brotos / explantes, com a formação de 14,5 para *A. miniata* e 10,5 para *A. blanchetiana* (Fig. 2a).

Porém, apesar da concentração 13,32 μM de BAP ter proporcionado o maior número médio de brotos por explante, estes apresentaram características morfológicas não desejáveis, como brotos pequenos, ausência de raízes ou pouco desenvolvidas, características que também foram observadas para as brotações formadas no tratamento com a concentração 8,88 μM de BAP (Fig. 3). Resultados similares também reportados para *Aechmea distichantha* Lem. (Santa-Rosa *et al.* 2013) e *Mentha arvensis* L. (Arrigoni-Blannk *et al.* 2011); segundo estes autores, as concentrações elevadas de BAP promovem a formação de grande número de brotos em detrimento, porém, de seu

desenvolvimento. Segundo Aros *et al.* (2017) e Dal Vesco *et al.* (2014) as citocininas, principalmente o BAP, quando utilizadas na fase de multiplicação *in vitro*, promovem a formação de parte aérea, mas seu excesso pode ser prejudicial à formação de brotações, promovendo a formação de um grande número de brotos, diminuição de folhas, encurtamento das brotações, engrossamento exagerado dos caules e vitrificação, causando a inviabilidade dos explantes.

Para a variável altura das brotações, independente da espécie, os maiores valores foram observados para o tratamento sem a adição do BAP, verificando-se um comportamento linear

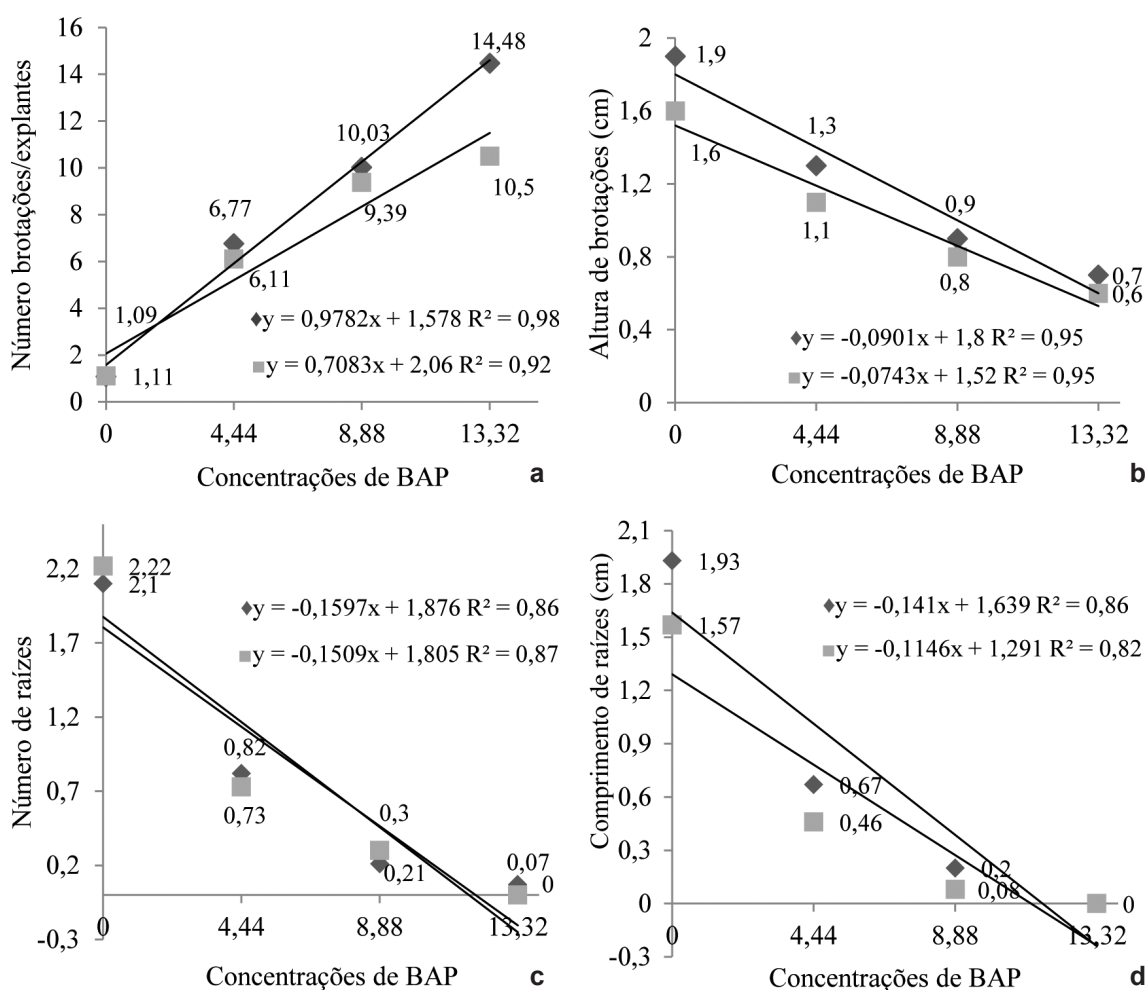


Figura 2 – a. Número de brotações por explantes; b. altura de brotações; c. número de raízes; d. comprimento de raízes em brotações de *Aechmea miniata* (◆) e *Aechmea blanchetiana* (■) em função de diferentes concentrações de BAP (μM).

Figure 2 – a. Number of shoots per explant; b. height of shoots; c. number of roots; d. root length of shoots of *Aechmea miniata* (◆) and *Aechmea blanchetiana* (■) as a function of different concentrations of BAP (μM).

decrecente, pois, à medida que se aumentou a concentração de BAP, houve a redução da altura das brotações (Fig. 2b). Estes resultados corroboram os observados por diversos autores, como Pasqual *et al.* (2008) em trabalhos com *Ananas lucidus* Mill., Silveira *et al.* (2009) em *Neoglaziovia variegata* e Macêdo *et al.* (2003) em *Ananas comosus* L. Merrill, que também relataram este efeito quando se adicionado BAP ao meio de cultivo. Segundo estes autores, apesar das concentrações mais elevadas promoverem o maior número de brotações, em geral, estas apresentam menor altura e unidas entre si, dificultando o processo de individualização. Estes resultados indicam que tratamentos com concentrações menores de BAP são os mais indicados devido à maior facilidade de individualização dos brotos.

O aumento na concentração de BAP também teve efeito negativo para comprimento e número de raízes formadas. Nas concentrações maiores que 4,44 μM , esta redução foi ainda mais drástica, independente da espécie avaliada (Fig. 2c-d). Resultados similares foram obtidos por Pasqual *et al.* (2008) em abacaxi ornamental. Ao estudar a influência do BAP na proliferação *in vitro* dessa espécie, os autores verificaram que o aumento nas

concentrações desse regulador ocasionou redução no número de raízes.

A respeito da multiplicação *in vitro* de *A. miniata* e *A. blanchetiana*, pode-se concluir que a concentração de 4,44 μM de BAP foi a mais adequada para as variáveis número total de brotos / explante e altura das brotações. Já a adição de elevadas concentrações do BAP (8,88 e 13,32 μM) ao meio de cultura promoveu a maior formação de brotações / explante, em detrimento ao crescimento em altura de brotações, além de ter favorecido a presença de características morfológicas indesejáveis. Este comportamento indica uma forte ação do BAP na indução das brotações laterais e um balanço auxina / citocinina insuficiente para promover a formação satisfatória de raízes, juntamente com a formação de brotos. Monfort *et al.* (2012) afirma que, quando utiliza-se concentrações elevadas de citocininas no cultivo *in vitro*, as citocininas favorecem a inibição da ação das auxinas endógenas presente nos explantes.

Brotações de *A. miniata* e *A. blanchetiana* apresentaram 100% de enraizamento, independente do tipo e da concentração da auxina estudada (Tab. 1). Este resultado é similar ao relatado por Atawia *et al.* (2016) que testou as concentrações 1, 2

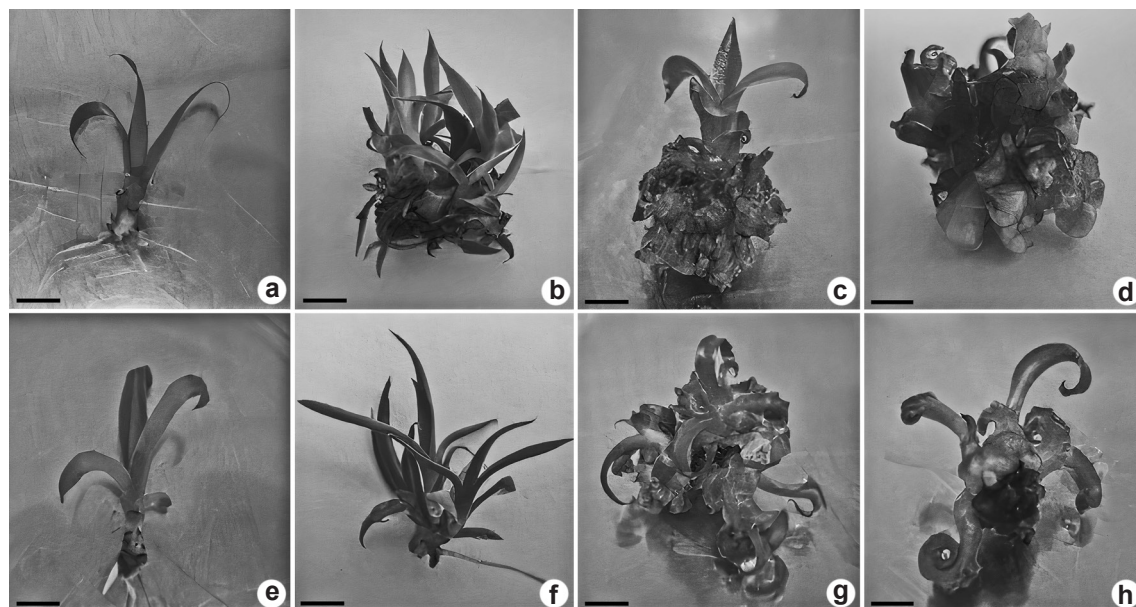


Figura 3 – a-d. Brotações de *Aechmea miniata* cultivadas em meio MS com – a. 0,00; b. 4,44; c. 8,88; d. 13,32 μM de BAP. e-h. brotações de *Aechmea blanchetiana* cultivadas em meio MS suplementado com suplementado com – e. 0,00; f. 4,44; g. 8,88; h. 13,32 μM de BAP. (Barra de escala: 0,5 cm).

Figure 3 – a-d. *Aechmea miniata* sprouts cultured on MS medium with – a. 0.00; b. 4.44; c. 8.88; d. 13.32 μM BAP. e-h. *Aechmea blanchetiana* sprouts grown on MS medium supplemented with supplemented with – e. 0.00; f. 4.44; g. 8.88; h. 13.32 μM BAP. (Scale bar: 0.5 cm).

Tabela 1 – Efeito de diferentes concentrações de ANA ou AIB sobre a porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento das raízes (cm), em brotos de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana*.**Table 1** – Effect of different concentrations of NAA or IBA on the percentage of rooting, number of roots and length of roots (cm), in sprouts of *Aechmea miniata* and *Aechmea blanchetiana*.

<i>Aechmea miniata</i>					
Trat.	ANA (μ M)	AIB (μ M)	Enraizamento (%)	Nº raízes	Comp. raízes (cm)
1	0	0	100a	3,45d	3,07a
2	1	0	100a	3,27d	3,67a
3	2	0	100a	4,10bc	3,55a
4	3	0	100a	4,75a	3,61a
5	0	1	100a	3,75cd	3,28a
6	0	2	100a	3,67cd	3,42a
7	0	3	100a	4,35ab	3,49a
CV (%)				31,64	48,52
<i>Aechmea blanchetiana</i>					
Trat.	ANA (μ M)	AIB (μ M)	Enraizamento (%)	Nº raízes	Comp. raízes (cm)
1	0	0	100a	1,82e	2,05b
2	1	0	100a	2,70d	3,49a
3	2	0	100a	3,95ab	2,89a
4	3	0	100a	4,35a	2,96a
5	0	1	100a	3,00cd	2,97a
6	0	2	100a	3,50bc	3,08a
7	0	3	100a	4,25a	3,45a
CV (%)				31,16	41,41

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

e 3 μ M de AIA e AIB no enraizamento *in vitro* de brotações de *Ananas comosus*, porém, não verificou diferença estatística entre os tratamentos avaliados.

O número e o comprimento de raízes formadas em explantes de *A. blanchetiana*, aumentou de acordo com o aumento da concentração, independentemente da auxina adicionada (Tab. 1), sendo verificado maior número de raízes formadas nos tratamentos com 3 μ M de ANA ou AIB, com 4,35 e 4,25 raízes por explante, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado para *A. miniata*, ao suplementar o meio de cultura com 3,0 μ M de ANA ou AIB, apresentando, respectivamente, 4,75 e 4,35 raízes por explante (Tab. 1). Estes resultados corroboram Almeida *et al.* (2015) que, ao estudarem diferentes concentrações de ANA e AIB no enraizamento *in vitro* de *Aegiphila verticillata* Vell., verificaram que as concentrações 2,00 e 3,00 μ M foram as que apresentaram melhores resultados, independente da auxina utilizada. De acordo com Simão *et al.* (2016), a adição de auxina ao meio de cultivo

favorece o processo de indução de formação de raízes, onde, a auxinas atuam inicialmente em células do meristema primário, estimulando a divisão celular, e consequentemente, promovendo o alongamento celular.

Na fase de aclimatização, para *A. miniata*, foi verificado que entre os tratamentos testados, não houve diferença estatística para o percentual de sobrevivência, porém, para *A. blanchetiana*, todos os tratamentos com adição de auxinas, se mostraram superiores ao tratamento controle (Tab. 2). Este comportamento pode estar relacionado com o fato das plantas oriundas do tratamento sem auxina, terem apresentado a menor formação de raízes. De acordo com Ford *et al.* (2002), existe uma relação intrínseca entre os níveis endógenos de auxinas e a capacidade de formação de raízes, e que a resposta morfogênica ao estímulo pode ser influenciada pelo tipo de auxina, concentração e material vegetal. Ainda, de acordo com Guerra & Dal Vesco (2010), as respostas morfogênicas *in vitro* em bromélias, apresentam variabilidade até mesmo entre genótipos da mesma espécie.

Tabela 2 – Valores médios para sobrevivência de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana* após 60 dias de transferência para casa de vegetação, em função de diferentes concentrações de ANA e AIB.

Table 2 – Mean values for survival of *Aechmea miniata* and *Aechmea blanchetiana* after 60 days of transfer to greenhouse, depending on different concentrations of NAA and IBA.

Auxina	Concentração (µM)	Sobrevivência (%)	
		<i>Aechmea miniata</i>	<i>Aechmea blanchetiana</i>
	0	95a	81b
ANA	1	98a	91a
	2	100a	93a
	3	100a	96a
AIB	1	100a	93a
	2	96a	95a
	3	94a	100a

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Foi verificado que a aclimatização das duas espécies estudadas não é um fator limitante à micropropagação. Os resultados mostram altas taxas de sobrevivência, superiores a 80 %, independente da espécie estudada (Tab. 2). Estes resultados corroboram Kurita & Tamaki (2014) que verificaram sobrevivência de até 100 % de indivíduos de *Nidularium minutum* Mez. após 90 dias de aclimatização. Bem como Santos *et al.* (2010), que obtiveram 95 % de sobrevivência de plântulas micropropagadas de *Acanthostachys strobilacea* (Schult. f.) Klotzsch aclimatizadas em substrato com irrigação de diferentes diluições do meio MS, após 240 dias e Oliveira *et al.* (2007) que, avaliando diferentes substratos na aclimatização de plântulas micropropagadas de *Ananas lucidus*, verificaram sobrevivência de 97 %, independente do substrato avaliado.

Com base nos resultados encontrados neste trabalho, recomendando o uso de 4,44 µM de BAP como o tratamento mais adequado para a indução de brotações em explantes de *A. miniata* e *A. blanchetiana*, pode-se fazer uma projeção para a produção de mudas no período de 225 dias. Assim, a partir de 1 explante, que corresponde a 1 segmento caulinar, obtido a partir da germinação de uma semente, e, considerando que a taxa média de multiplicação de plantas viáveis encontrada ao longo do período de cultivo para esse tratamento foi de 6,87 e 6,44 brotações por explantes para *A. miniata* e *A. blanchetiana*, respectivamente, ao final dos 5 subsultivos, ou seja, 225 dias, teríamos 15.303 brotações para *A. miniata* e 11.044 brotações para *A. blanchetiana* (Tab. 3). Número de brotações superior, quando comparado aos métodos de reprodução natural destas espécies, tanto assexuado, quanto ao sexuado.

Tabela 3 – Projeção para o número de brotações obtidas a partir de um único explante de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana* ao final de 225 dias de cultivo em meio de MS suplementado com 4,44 µM de BAP.

Table 3 – Projection for the number of shoots obtained from a single explant of *Aechmea miniata* and *Aechmea blanchetiana* at the end of 225 days of culture in MS medium supplemented with 4.44 µM BAP.

Subcultivo	Dias	Número de brotações	
		<i>Aechmea miniata</i>	<i>Aechmea blanchetiana</i>
1º	45	6,87	6,44
2º	90	47,19	41,47
3º	135	324,24	267,08
4º	180	2.227,54	1.720,05
5º	225	15.303,25	11.044,18

Portanto, a técnica de micropropagação pode ser utilizada como ferramenta biotecnológica, para a propagação massal de *A. miniata* e *A. blanchetiana*, espécies que possuem considerável importância econômica e ornamental, de forma a contribuir para a conservação destes germoplasmas vegetais, que também, exercem relevante importância ecológica dentro do bioma Mata Atlântica.

Nas condições deste trabalho, a germinação *in vitro* de sementes de *Aechmea miniata* e *Aechmea blanchetiana* apresentaram altas taxas de germinação, não sendo uma limitação para a propagação *in vitro* destas espécies. A suplementação do meio MS com a concentração de 4,44 μM de BAP apresentou melhores resultados para a multiplicação *in vitro* a partir de segmentos caulinares das duas espécies, que também apresentaram, independente do tipo e da concentração de auxina utilizada, 100% de enraizamento, apesar disto, a utilização da auxina favoreceu somente a aclimatização de plantas de *Aechmea blanchetiana*.

Referências

- Almeida LMS, Morais LE, Resende CF, Braga VF, Pereira PF, Silva RAC & Peixoto PHP (2015) Micropropagation and acclimatization of *Aegiphila verticillata* Vell.: an endangered woody species. *Revista Árvore* 39: 305-314.
- Aros D, Vázquez M, Constanza R & Prat ML (2017) An efficient method for *in vitro* propagation of *Alstroemeria pallida* Graham rhizomes. *Chilean Journal of Agricultural Research*, Chillán 77: 95-99.
- Arrigoni-Blannk MF, Costa AS, Fonseca VO, Alves PB & Blank AF (2011) Micropropagação, aclimatização, teor e composição química do óleo essencial de genótipos de hortelã japonesa. *Revista Ciência Agronômica* 42: 175-184.
- Atawia R, Abd FM, El-Latif S, Sherif SS & Kotb OM (2016) Studies on Micropropagation of Pineapple (*Ananas comosus* L.). *Middle East Journal of Agriculture Research*, Benha 2: 224-232.
- BFG - The Brazil Flora Group (2015) Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66: 1085-1113.
- Coelho M & Amorim AM (2014) Floristic composition of the Montane Forest in the Almadina-Barro Preto axis, Southern Bahia, Brazil. *Biota Neotropica* 14: 1-41.
- Dal Vesco LL, Vieira JP, Corredor PR, Pescador R, LJ Welter & Guerra MP (2014) Induction and development of nodular cluster cultures in *Vriesea reitzii* (Leme and Costa), an endangered bromeliad from the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 5: 542-548.
- Ferreira DF (2014) Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia* 38: 109-112.
- Ford YY, Bonham EC, Cameron RWF & Blake PS (2002) Adventitious rooting: examining the role of auxin in an easy-and a difficult-to-root plant. *Plant Growth Regulation* 36: 149-159.
- Fundação SOS Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas Especiais - INPE (2015) Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: período 2012-2013. Fundação SOS Mata Atlântica e São José dos Campos. INPE, São Paulo. Pp. 60.
- Guerra MP & Dal Vesco LL (2010) Strategies for the Micropropagation of Bromeliads. In: Jain SM & Ochatt SJ (eds.) *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants: methods in Molecular Biology*. Humana Press - Springer 589: 47-66.
- Kurita FMK & Tamaki V (2014) *In vitro* growth of the bromeliad *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms with different concentrations of nitrogen. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 3: 279-285.
- Lima COC, Marchi MNG, Brito AL, Carneiro CH, Bellintani MC & Santana JRF (2012) Organogênese direta de *Orthophytum mucugense*. *Ciência Rural* 42: 249-254.
- Macêdo CEC, Silva MG, Nóbrega FS, Martins CP, Barroso PAV & Alloufa AI (2003) 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* 25: 501-504.
- Monfort LEF, Pinto JEBP, Bertolucci SKV, Rossi ZTT & Santos FM (2012) Efeito do BAP no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 3: 458-463.
- Murashige T & Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Oliveira MKT, Neto FB, Câmara FAA, Nunes GHS & Oliveira FA (2007) Propagação *in vitro* da cultura do abacaxizeiro ornamental (*Ananas lucides* Miller). *Caatinga* 20: 167-171.
- Palú EG, Corrêa CLS, Suzuki AN & Boliane AC (2011) Uso de antibióticos para o controle de bactérias endógenas visando à micropropagação da figueira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33: 587-592.
- Pasqual M, Santos FC, Figueiredo MA, Junqueira KP, Rezende JC & Ferreira EA (2008) Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. *Horticultura Brasileira* 26: 211-216.
- Pickens KA, Affolter JM, Wetzstein HY & JHD Wolf (2003) Enhanced seed germination and seedling growth of *Tillandsia eizii* *in vitro*. *HortScience* 38: 101-104.
- Santa-Rosa S, Souza FVD, Vidal AM, Ledo CAS &

- Santana JRF (2013) Micropropagation of the ornamental vulnerable bromeliads *Aechmea blanchetiana* and *Aechmea distichantha*. *Horticultura Brasileira* 31: 112-118.
- Santos AJ, Bittencourt AM & Nogueira AS (2005) Aspectos econômicos da cadeia produtiva das bromélias na região metropolitana de Curitiba e litoral paranaense. *Floresta* 35: 409-417.
- Santos DS, Tamaki V & Nievola CC (2010) *In vitro* propagation of the ornamental bromeliad *Acanthostachys strobilacea* (Schult. f.) Klotzsch via nodal segments. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 46: 524-529.
- Sasamori MH, Junior DE & Droste A (2016) Baixas concentrações de macronutrientes beneficiam a propagação *in vitro* de *Vriesea incurvata* (Bromeliaceae), uma espécie endêmica da Floresta Atlântica, Brasil. *Rodriguésia* 67: 1071-1081.
- Silveira DG, Souza FVD, Pecalani C, Souza AS, Ledo CAS & Santana JRF (2009) Micropropagation and *in vitro* conservation of *Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez., a fiber producing bromeliad from Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52: 923-932.
- Simão MJ, Fonseca E, Garcia R, Mansur E & Pacheco G (2016) Effects of auxins and different culture systems on the adventitious root development of *Passiflora pohlii* Mast. and their ability to produce antioxidant compounds. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 124: 419-430.
- Versieux LM (2011) Brazilian plants urgently needing conservation: the case of *Vriesea minarum* (Bromeliaceae). *Phytotaxa* 28: 35-49.

Editora de área: Dra. Georgia Pacheco

Artigo recebido em 31/05/2018. Aceito para publicação em 11/09/2019.



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.