

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**CONSERVAÇÃO IN VITRO E MICROPROPAGAÇÃO DE  
BROMELIACEAE OCORRENTE NO TRANSECTO DA FERROVIA  
DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE – FIOLE**

**Danilo Silva dos Santos Andrade**

**CRUZ DAS ALMAS – BA**

**2023**

**CONSERVAÇÃO IN VITRO E MICROPROPAGAÇÃO DE  
BROMELIACEAE OCORRENTE NO TRANSECTO DA FERROVIA  
DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE – FIOLE**

**Danilo Silva dos Santos Andrade**

Tecnólogo em Agroecologia

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2020

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientadora:** Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**Coorientadores:** Dr. Everton Hilo de Souza

Dra. Eva Maria Rodrigues Costa

**CRUZ DAS ALMAS – BA**

**2023**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**CONSERVAÇÃO IN VITRO E MICROPROPAGAÇÃO DE  
BROMELIACEAE OCORRENTE NO TRANSECTO DA FERROVIA  
DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE – FIOLE**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de  
Danilo Silva dos Santos Andrade

Aprovação 18 de dezembro de 2023

Documento assinado digitalmente  
 **EVERTON HILO DE SOUZA**  
Data: 20/02/2024 11:31:27-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Everton Hilo de Souza**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB  
(Coorientador)

Documento assinado digitalmente  
 **MARIA ANGELICA PEREIRA DE CARVALHO COSTA**  
Data: 21/02/2024 07:33:15-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa**  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB  
Membro externo

Documento assinado digitalmente  
 **DANIELA GARCIA SILVEIRA**  
Data: 20/02/2024 11:54:53-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dra. Daniela Garcia Silveira**  
Instituto Federal Baiano – IFBAIANO  
Membro externo

## FICHA CATALOGRÁFICA

A554c

Andrade, Danilo Silva dos Santos.

Conservação *In vitro* e micropropagação de bromaliaceae ocorrentes no transecto da Ferrovia de Integração Oeste-Leste – FIOOL / Danilo Silva dos Santos Andrade. Cruz das Almas, BA, 2023.

82f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof. Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza.

Coorientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza.

Coorientadora: Prof. Dra. Eva Maria Rodrigues Costa.

1. Bromélia – Plantas. 2. Bromeliaceae – Germinação – Sementes. 3. Cultivo *in vitro* – Análise. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 581

## DEDICATÓRIA

A Cristo Jesus, pois bem sei eu que tudo podes, e que nenhum dos teus propósitos pode ser impedido. À minha esposa amada Neila por ser meu braço direito e por todo amor e à minha mãe por sempre estar comigo.

## AGRADECIMENTO

Neste momento de realização, glorifico a Deus pela vida, pelo cuidado e pela sabedoria que me proporcionou ao longo deste percurso acadêmico e pessoal.

À minha digníssima esposa Neila por sempre torcer e me apoiar, por cuidar de mim. À minha mãe que sempre esteve ao meu lado me ajudando e cooperando para meu sucesso e minha avó pelo apoio incondicional, amor e incentivo constantes, dedico o sucesso deste trabalho.

À minha orientadora, Dra. Fernanda Vidigal, manifesto minha sincera admiração e gratidão pelos ensinamentos, orientações precisas e paciência. Suas contribuições foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus coorientadores, Dr. Everton Hilo de Souza, agradeço por sua colaboração valiosa e pelos *insights* que enriqueceram esta dissertação. Sua expertise e comprometimento foram essenciais para o êxito deste estudo e Dra. Eva Maria sua dedicação e apoio foram inestimáveis, e estou verdadeiramente agradecido por tê-la tido como parte desta jornada.

Aos amigos de trabalho, cujas interações e trocas de conhecimento foram enriquecedoras, agradeço a camaradagem e pelas valiosas lições aprendidas juntos. Em especial, Lucas Kennedy, Mariana Menezes, Maria Inês, Mirelli Souza, Hélder Carvalho, Eliane Braulio, Michele Santos e Paulo Henrique. Expresso minha gratidão ao Laboratório de Cultura de Tecidos, onde o ambiente propício à pesquisa e à experimentação foram determinantes para o alcance dos resultados alcançados.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, sou grato pelo espaço e recursos fornecidos, que viabilizaram a realização de parte importante deste estudo.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, instituição que me acolheu e proporcionou o ambiente acadêmico necessário para o crescimento e desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES, pelo auxílio financeiro concedido por meio da bolsa de estudo e a FAPESB (PPF 2014/2021) pelo desenvolvimento e financiamento do projeto FIOL. Agradeço ao Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos - INEMA (Processo no 046.0525.2022.0004974-68) pela autorização para realização dos estudos científicos no Parque Estadual da Serra do Conduru (PESC) e ao gestor Marcelo Barreto e toda a sua equipe pelas facilitações.

Por fim, agradeço a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização desta dissertação.

Muito obrigado a todos!

## EPÍGRAFE

*Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas; glória, pois, a ele eternamente. Amém.*

Romanos 11:36

## CONSERVAÇÃO IN VITRO E MICROPROPAGAÇÃO DE BROMELIACEAE OCORRENTE NO TRANSECTO DA FERROVIA DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE – FIOLE

**RESUMO:** Bromeliaceae desempenha um papel fundamental nos ecossistemas em que se encontram. Essas plantas podem ser encontradas em uma variedade de ambientes, que vão desde florestas úmidas até regiões mais áridas, o que contribui para a sua ampla distribuição geográfica. *Aechmea* Ruiz e Pav. é um dos gêneros mais diversos da subfamília Bromelioideae e engloba 243 espécies distribuídas em oito subgêneros. Por sua vez, *Lymania* Read compreende um grupo botânico que inclui dez espécies. Esta dissertação está organizada em dois capítulos que abrangem estudos sobre a conservação in vitro (Capítulo 1) e micropropagação (Capítulo 2) de *Aechmea conifera*, *Aechmea perforata* e *Lymania languida*, endêmicas do Brasil e ocorrentes na Bahia. O primeiro capítulo se refere aos estudos da conservação in vitro sob condições de crescimento mínimo. Plantas in vitro foram mantidas em dois ambientes, sala de crescimento e sala de conservação e em dois meios de cultivo com diferentes concentrações de sais do MS (MS completo e MS com a metade da concentração de sais). O segundo capítulo aborda a germinação de sementes em três ambientes distintos (sala de crescimento, B.O.D e casa de vegetação). A multiplicação in vitro foi realizada com meio de cultura MS, suplementado com 3% de sacarose, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 0,01 mg L<sup>-1</sup> de ANA, solidificado com 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® a partir das plântulas provenientes da germinação in vitro e foram avaliadas ao longo de quatro subcultivos em intervalos de 45 dias. Plantas de *A. conifera* após multiplicação foram aclimatizadas e reintroduzidas em ambiente natural no seu local de origem. O cultivo em B.O.D. favorece significativamente a germinação de *Aechmea perforata* e *Lymania languida*, enquanto *Aechmea conifera* demonstra melhores respostas germinativas em sala de crescimento. Na micropropagação, a *Aechmea conifera* é a menos produtiva com a formação de aproximadamente 85,04 brotos por explante em cada frasco ao final do 4º subcultivo, seguida de *Lymania languida* com 137,27 brotos por explante. A espécie mais produtiva foi *Aechmea perforata* com mais de 150 brotos por explante. A reintrodução das plantas de *A. conifera* se mostrou eficiente com 100% das plantas estabelecidas no seu local de origem. Os resultados deste estudo podem subsidiar ações de conservação a fim de mitigar possíveis impactos causados pela Ferrovia de Integração Oeste Leste – FIOLE na flora local.

**Palavras-chave:** Bromélia, Bromelioideae, *Aechmea*, *Lymania*, germinação de sementes, endemismo.

# IN VITRO CONSERVATION AND MICROPROPAGATION OF BROMELIACEAE OCCURRING ON THE WEST-EAST INTEGRATION RAILWAY TRANSECT – FIOLE

**ABSTRACT:** Bromeliaceae plays a key role in the ecosystems where they are found. These plants can be found in a variety of environments, ranging from humid forests to more arid regions, which contributes to their wide geographic distribution. *Aechmea* Ruiz and Pav. is one of the most diverse genera of the subfamily Bromelioideae and encompasses 243 species distributed in eight subgenera. *Lymania* Read, on the other hand, comprises a botanical group that includes ten species. This dissertation is organized in two chapters that cover studies on the in vitro conservation (Chapter 1) and micropropagation (Chapter 2) of *Aechmea conifera*, *Aechmea perforata* and *Lymania languida*, endemic to Brazil and occurring in Bahia. The first chapter refers to studies of in vitro conservation under conditions of minimal growth. In vitro plants were maintained in two environments, a growth room and a conservation room, and cultivated in two culture media with different concentrations of MS salts (complete MS and MS with half the concentration of salts). The second chapter deals with seed germination in three distinct environments (growth room, B.O.D and greenhouse). In vitro multiplication was performed with MS culture medium, supplemented with 3% sucrose, 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP, 0.01 mg L<sup>-1</sup> ANA, solidified with 2.5 g L<sup>-1</sup> Phytigel® from seedlings from in vitro germination and were evaluated over four subcultures at 45-day intervals. After multiplication, *A. conifera* plants were acclimatized and reintroduced into a natural environment at their local of origin. Cultivation in B.O.D. significantly promotes the germination of *Aechmea perforata* and *Lymania languida*, while *Aechmea conifera* demonstrates better germination responses in the growth room. In micropropagation, *Aechmea conifera* is the least productive with the formation of approximately 85.04 shoots per explant at the end of the 4th subculture, followed by *Lymania languida* with 137.27 shoots per explant. The most productive species was *Aechmea perforata* with more than 150 shoots per explant. The reintroduction of *A. conifera* plants was efficient with 100% of the plants established in their place of origin. The results of this study can support conservation actions in order to mitigate possible impacts caused by the West-East Integration Railway (FIOLE) on the local flora.

**Keywords:** Bromeliad, Bromelioideae, *Aechmea*, *Lymania*, seed germination, endemism.

## Sumário

INTRODUÇÃO .....	11
REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
Mata Atlântica.....	14
Bromeliaceae .....	15
<i>Aechmea</i> .....	18
<i>Lymania</i> .....	19
Ferrovia de Integração Oeste-Leste – FIOL.....	21
Conservação de Recursos Genéticos Vegetais .....	22
Conservação in vitro.....	24
Micropropagação.....	25
REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO I - CONSERVAÇÃO IN VITRO DE TRÊS ESPÉCIES DE BROMELIACEAE OCORRENTES NA BAHIA E REINTRODUÇÃO NO TRANSECTO DA FERROVIA DE INTEGRAÇÃO OESTE- LESTE – FIOL.....	36
INTRODUÇÃO .....	39
MATERIAL E MÉTODOS.....	41
RESULTADO .....	45
DISCUSSÃO .....	48
CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55
CAPÍTULO II - MICROPROPAGAÇÃO DE TRÊS ESPÉCIES DE BROMELIACEAE OCORRENTES NA BAHIA PARA PRODUÇÃO DE MUDAS .....	58
INTRODUÇÃO .....	61
MATERIAL E MÉTODOS.....	63
RESULTADOS.....	66
DISCUSSÃO .....	72
CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS.....	77

## INTRODUÇÃO

Entre os ecossistemas brasileiros, destaca-se a Mata Atlântica, um dos biomas mais biodiversos do planeta (Leme e Marigo, 1993; Franke et al., 2005; Forzza et al., 2013). Suas condições climáticas com temperaturas altas, elevada umidade relativa do ar e precipitações abundantes favorecem o desenvolvimento de uma exuberante vegetação, e desta, destacam-se as bromélias que possuem grande adaptabilidade e variabilidade (Leme e Marigo, 1993; Pereira, 2009).

As bromélias, pertencentes à família Bromeliaceae, são plantas muito diversas e vegetam em uma variedade de ecossistemas, como a Floresta Amazônica, a Mata Atlântica, a Caatinga, os Andes, sendo predominantemente nativas das Américas do Sul, Central e Norte (Diniz e Ferreira, 2000). Apenas uma espécie (*Pitcairnia feliciana*) Harms e Mildbr é encontrada no continente Africano, mais especificamente na Guiné (Jacques-Felix, 2000; Benzing, 2000). Essas plantas apresentam uma ampla variedade de tamanhos e cores, com folhas que vão desde tons de verde até vermelho, roxo e amarelo, além de flores em diversas tonalidades (Koffler et al., 2022), com adaptações para diferentes ambientes e podem ser encontradas em diferentes habitats, como florestas tropicais, cerrados, campos rupestres e regiões litorâneas (Benzing, 2000).

Algumas crescem em árvores como epífitas, enquanto outras são terrestres, se desenvolvem no solo ou como rupícolas. Uma característica distintiva é a presença de uma roseta de folhas formando um copo que acumula água, denominada de fitotelmo (Azeredo e Zanette, 2012), proporcionando um habitat para anfíbios, insetos e outros animais, demonstrando a relevância ecológica desta família (Benzing, 2000; Dal Vesco et al., 2011). Com sua beleza e exuberância, algumas espécies de bromélias são amplamente utilizadas na floricultura como plantas ornamentais e no paisagismo.

O crescimento dos centros urbanos e rurais, principalmente na região da Mata Atlântica tem levado muitas espécies para algum grau de ameaça (Forzza et al., 2013). Essa situação tem contribuído para uma perda expressiva de diversidade, sendo particularmente preocupante para as espécies epífitas, grupo que muitas bromélias estão inseridas (Wanderley e Martins, 2007).

Mais recentemente, o governo federal, com o intuito de alavancar a capacidade de transporte nacional, priorizou o projeto da Ferrovia de Integração

Oeste-Leste (FIOL), uma ferrovia transversal brasileira que tem por extensão 1.527 quilômetros, ligando as cidades de Ilhéus, na Bahia à Figueirópolis no Tocantins. Apesar dos impactos positivos para a região, como a criação de novos empregos e o escoamento de produtos importantes, o impacto ambiental vem preocupando, não apenas as comunidades que poderão ser afetadas pela Ferrovia, mas também a comunidade científica. Na Bahia, a Ferrovia vai perpassar por três biomas: Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado, podendo causar perda de diversidade de espécies silvestres e/ou endêmicas, algumas já ameaçadas de extinção.

Em função disso, vários estudos estão sendo realizados, em âmbitos diversos, a partir de um projeto de avaliação socioambiental integrado da FIOL (ACORDO DE COOPERAÇÃO TÉCNICA Nº 45/2021 – CAPES/FAPESB). A implementação deste projeto visa atenuar os impactos que serão gerados pela construção da ferrovia.

Ações são necessárias tanto na parte de estratégias de reeducação ambiental, bem como investimentos em pesquisas que promovam o desenvolvimento de técnicas de conservação. Essas medidas visam inibir um cenário de erosão genética irreversível, além das ameaças advindas com as mudanças climáticas.

O foco deste trabalho são três espécies de bromélias, *Aechmea conifera*, *Lymania languida*, coletadas no parque Estadual Serra do Conduru – Serra Grande/BA e *Aechmea perforata*, coletada no parque Nacional de Boa Nova – Boa Nova/BA. Essas espécies têm valor ornamental e são alvo de atividades comerciais oriundas de um extrativismo predatório e da perda da biodiversidade devido à expansão urbana e do agronegócio. Um dos problemas identificados é a inexistência de um sistema de produção em larga escala que possa disponibilizar mudas no mercado (Anacleto e Negrelle., 2013; Castro et al., 2022).

O estabelecimento de um sistema eficiente de produção de mudas pode representar uma alternativa viável para mitigar tais danos. A propagação *in vitro*, conhecida como micropropagação, é uma ferramenta que possibilita a obtenção de um grande número de plantas em um espaço físico reduzido e em um período de tempo menor, além da sanidade do material produzido, quando a técnica é utilizada corretamente (Souza et al., 2013).

A micropropagação não é aplicada apenas para produção de mudas, mas também é a base para a conservação *in vitro* de muitas espécies, onde as plantas são mantidas sob condições laboratoriais controladas e com um mínimo de intervenção, garantindo, assim, a manutenção da identidade genética do material a ser conservado. Essa estratégia é recomendada para espécies de propagação vegetativa, espécies com sementes recalcitrantes ou ameaçadas de extinção e tem como base a redução do metabolismo celular por meio da manipulação das condições ambientais (temperatura, fotoperíodo, intensidade luminosa etc) ou do meio de cultivo (Reed et al., 2013).

Esta dissertação está dividida em dois capítulos que abrangem estudos sobre a micropropagação (Capítulo 1) e a conservação *in vitro* (Capítulo 2) das espécies *Aechmea conifera* L.B.Sm., *Aechmea perforata* L.B.Sm. e *Lymania languida* Leme.

Os objetivos desse estudo são o estabelecimento de um protocolo de micropropagação para a produção de mudas em larga escala, assim como estabelecer as melhores condições de conservação *in vitro* com base na estratégia de crescimento lento.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Mata Atlântica

A Mata Atlântica brasileira, em virtude de sua riqueza biológica, é um dos 34 hotspots mundiais, ou seja, uma das prioridades para a conservação da biodiversidade (Myers et al., 2000; Mittermeier et al., 2004), sendo de grande importância para o Brasil e para o mundo. Abrangendo vários estados brasileiros, desde o Rio Grande do Sul, passando por São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia até Rio Grande do Norte, a Mata Atlântica é formada por um mosaico de ecossistemas, com fitofisionomias diferenciadas, devido a diversas características, tais como, condições climáticas, variações do solo, umidade do ar, que a torna um dos mais ricos em biodiversidade, sendo muitas delas endêmicas, ou seja, que só existem nessa região (Tabarelli et al., 2005; Ribeiro et al., 2009)

A Mata Atlântica é caracterizada como um dos biomas mais devastados e mais seriamente ameaçado do planeta e estima-se que restem apenas 12,4% da sua cobertura original, devido à ação antrópica (Myers et al., 2000; Pinto e Brito, 2005; Ribeiro et al., 2009; Fundação SOS Mata Atlântica; INEP, 2021). Os remanescentes florestais são circundados por áreas de paisagem modificadas, conhecidas como matriz (Costa e Silva, 2019). Essa matriz é composta por diferentes tipos de uso do solo, como pastagens, agricultura intensiva, monoculturas e vegetação secundária, o que pode ser desfavorável para as espécies nativas da Mata Atlântica (Ricketts, 2001).

Esse ambiente modificado resulta em um aumento do efeito de borda nos fragmentos florestais, que é causado por diferentes fatores bióticos e abióticos, como modificações na umidade, temperatura, disponibilidade hídrica, incidência solar e poluição. Esses processos influenciam diretamente nas interações intra e interespecíficas, como reprodução, predação, parasitismo, competição, herbívora, polinização e dispersão, o que pode afetar a diversidade e a dinâmica das comunidades presentes nos fragmentos florestais da Mata Atlântica. Por isso, é fundamental compreender e gerenciar adequadamente a matriz ao redor desses fragmentos, buscando minimizar os impactos negativos e favorecer a conservação da biodiversidade desse importante bioma (Benitez-Malvido, 1998; Laurance et al., 2002; Costa et al., 2019).

A condição da Mata Atlântica na Bahia não é de modo algum única, em comparação com o restante do país: de uma área original que correspondia a 36% do território do estado, agora restam menos de 6%. Mesmo assim, esses remanescentes estão extremamente fragmentados, com a maioria possuindo dimensões inferiores a 400 hectares e enfrentando uma forte pressão de degradação (CEAMA, 2023).

Nesse contexto, torna-se de extrema importância discutir estratégias para a conservação desse valioso patrimônio, buscando conciliar a preservação da biodiversidade com o desenvolvimento sustentável das comunidades locais. É, portanto, de grande valia, compreender a importância ecológica de espécies endêmicas do estado da Bahia e desenvolver atividades que podem auxiliar a minimizar essa degradação.

## **Bromeliaceae**

A família Bromeliaceae Juss., constitui um dos maiores grupos de monocotiledôneas, integradas dentro da ordem Poales (APG IV, 2016), possuindo 82 gêneros e 3.742 espécies (Gouda et al., 2023). Porém, com a descrição de novas espécies e o crescente estudo da família, esses números vêm aumentando ao longo dos anos. No Brasil, são encontrados 55 gêneros e 1.403 espécies, destas 1.203 são consideradas endêmicas (Flora e Funga do Brasil, 2020).

As bromélias estão organizadas segundo Smith e Downs (1974; 1977; 1979) em três Subfamílias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae. Sob esse aspecto, análises filogenéticas e moleculares foram realizadas (Givnish et al. (2007; 2011), e esses autores propuseram uma nova divisão referente à antiga Pitcairnioideae em oito subfamílias Bromelioideae, Brocchinioideae, Pitcairnioideae, Hechtioideae, Navioideae, Lindmanioideae, Puyoideae e Tillandsioideae (Givnish et al., 2011).

A família possui uma ampla distribuição geográfica em todos os biomas do território brasileiro, sendo notável sua adaptação às diferentes condições climáticas e ecológicas, destacando-se a Mata Atlântica como um dos principais centros de diversidade (Martinelli et al., 2008; Gomes., 2013) com aproximadamente 940 espécies (Flora e Funga do Brasil, 2020).

As Bromeliáceas têm demonstrado sucesso como colonizadoras de habitats epifíticos, terrestres e rupícolas, com tricomas hidrófilos que tem a capacidade evolutiva de desenvolver estratégias para lidar com a escassez hídrica, e até mesmo na absorção de umidade e nutrientes da atmosfera (Pierce et al., 2001; Horres et al., 2007; Vasconcellos e Oliveira, 2019). As epífitas envolvem a adaptação de recobrir as superfícies foliares, que têm como função refletir o excesso de luminosidade e retardar a transpiração, com o intuito de reduzir o calor provocado pelo sol (Benzing, 2000). Os membros desta família apresentam uma notável versatilidade ecológica (Horres et al., 2007).

A perspectiva distorcida das Bromeliaceae, relacionada ao potencial risco à saúde pública devido à capacidade de reservar água e servir de criadouro para mosquitos transmissores de doenças, causou uma destruição significativa dessas plantas, tanto em ambientes residenciais quanto em habitats naturais. Essa visão errônea demandou uma conscientização para reduzir a destruição deliberada dessa família botânica (Rocha et al., 2004).

Com a habilidade de armazenar água em suas rosetas, elas contribuem para a formação de micro-habitat úmidos e nutritivos que sustentam organismos da fauna e da flora (Dejean e Olmsted, 1997). Essa água presente nas rosetas, em contato com folhas, galhos e outros materiais, promove a decomposição rica em matéria orgânica, facilitando a germinação de sementes de outras espécies (Zaluar e Scarano, 2000; Rocha et al., 2004).

Essas plantas são especialmente importantes como abrigo para organismos invertebrados, o que aumenta a quantidade de recursos e biomassa disponíveis para a fauna e flora adjacente (Benzing, 2000; Dal Vesco et al., 2011; Givnish et al., 2014).

Os microecossistemas que se formam dentro dos tanques das bromélias são como pequenos mundos criados pelo emaranhado de suas folhas, onde a água da chuva é armazenada e a inércia combinada com o acúmulo de material orgânico favorece o estabelecimento dos primeiros níveis tróficos do sistema (Benzing, 2000; Givnish et al., 2014). Como esses níveis estão submersos, permitem que os fitoplânctons se estabeleçam e, a partir deles, ocorra o sequenciamento da cadeia alimentar.

Além disso, as bromélias fornecem recursos florais para polinizadores, principalmente beija-flores (Trochilidae), que são seus visitantes mais comuns. A multiplicidade de espécies de Bromeliaceae em floração atrai um número ainda maior de polinizadores (Varassin e Sazima, 2000).

Assim, conservar essa família de plantas é crucial, pois ela desempenha um papel significativo em seus ambientes, garantindo uma ampla diversidade e contribuindo para a recuperação e riqueza dessas espécies. Não apenas pela importância ecológica, mas também por sua sensibilidade em demonstrar as alterações ambientais, já que as bromélias servem como bioindicadores da qualidade do ar, das condições e qualidade dos sistemas que se deseja preservar (Rocha et al., 2004).

É imprescindível ressaltar a importância dos estudos que abrangem a compreensão da dinâmica dos ecossistemas, não apenas aqueles de grande envergadura, tais como fitofisionomias que são as diferentes formas e estruturas da vegetação em um determinado local. São importantes as macrorregiões que se referem a grandes áreas geográficas com características e padrões específicos que as distinguem de outras regiões, mas também aquelas que ocupam espaços relativamente pequenos, mas igualmente significativos para a manutenção da biodiversidade (Brancaleone, 2016; Ferreira et al., 2019). É notório que, nos tempos atuais, existe uma grande necessidade de compreender os processos inerentes à natureza, sobretudo aqueles relacionados ao funcionamento dos ecossistemas, uma vez que o meio ambiente enfrenta, cada vez mais, os impactos das atividades antrópicas que desencadeiam a degradação ambiental (Brancaleone, 2016).

Do ponto de vista econômico, a família Bromeliaceae tem sido amplamente utilizada como planta ornamental, aplicada em empreendimentos paisagísticos e na ornamentação de ambientes. Entretanto, algumas têm importância na alimentação, como o abacaxi (*Ananas comosus* L Merr.), apreciado como fruta fresca ou processada (Pacheco et al., 2022), em bebidas (Araújo et al., 2009; Silva et al., 2010), bolos (Martin et al., 2012), farinha (Mendes, 2013), geleias (Santini et al., 2013). Além de seu uso alimentar, o abacaxi também pode ser ornamental (Souza et al., 2012) ou voltado para a produção de medicamentos (França-Santos et al., 2009).

Outra espécie de potencial econômico é o “caroá”, *Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez, mais utilizada pelo valor de sua fibra para artesanato, cestarias, e a produção de barbantes, linha de pesca, tecidos e cordas (Nóbrega, 2007).

Entretanto, a busca pelas bromélias de valor ornamental, de forma extrativista, tem levado a perdas significativas de várias espécies da família em seus ambientes naturais (Silva e Holanda, 2010; Negrelle et al., 2011). Assim, como forma de atenuar esse problema são necessárias ações, tanto na direção de desenvolver estratégias de educação ambiental, como no investimento em pesquisas que possibilitem desenvolver técnicas de conservação, a fim de se evitar um cenário de erosão genética irreversível.

Uma das causas do extrativismo das bromélias para seu uso ornamental é a falta de mudas para serem ofertados no mercado (Carvalho et al., 2006). Com isso, o desenvolvimento de um sistema eficiente de produção de mudas também pode ser uma ação complementar para minimizar os danos causados pelo extrativismo predatório.

### ***Aechmea***

*Aechmea* Ruiz e Pav. é um dos gêneros mais diversificados da subfamília Bromelioideae, abarcando uma rica diversidade com aproximadamente 243 espécies agrupadas em oito subgêneros (Gouda et al., 2023). Essas plantas podem ser encontradas desde os Estados Unidos até a Argentina (Reitz, 1983). No Brasil, especialmente, a riqueza desse gênero é notável, com 183 espécies, das quais 154 são endêmicas, distribuindo-se nos biomas da Mata Atlântica, Amazônia, Cerrado, Pampa e Caatinga (Flora e Funga do Brasil, 2020).

*Aechmea* possui um papel fundamental no ecossistema em que habita. Essas plantas podem ser encontradas em diferentes ambientes, desde florestas úmidas até áreas mais áridas, o que contribui para sua ampla distribuição geográfica. Essas plantas, desempenham papel importante na conservação da biodiversidade local, proporcionando habitat e alimento para diversas espécies de aves e insetos, especialmente beija-flores, abelhas, mamangavas e borboletas, que corrobora na polinização dessas plantas (Matallana et al., 2010; Scrok e Varassin, 2011; Faria et al., 2023).

Seu sistema reprodutivo é diversificado, com inflorescências que podem ser simples ou compostas, emergindo geralmente acima ou dentro das rosetas foliares, sustentadas por escapos eretos ou levemente recurvados. As brácteas florais podem ser livres ou parcialmente conatas com os entrenós dos ramos, acrescentando uma complexidade interessante ao processo de polinização. O ovário é ínfero, podendo ou não apresentar hipanto tubular, e os óvulos são geralmente caudados. Os frutos que se desenvolvem após a polinização têm a forma de bagas, um pouco maiores que o ovário, e suas sementes não possuem apêndices, possibilitando a reprodução tanto por meio de brotamento do rizoma quanto por sementes (Martinelli et al., 2008; Faria et al., 2023).

*Aechmea conifera* possui algumas características, como epífita de dossel ou raramente terrestre, com frutos castanho-enegrescidos, com 40 cm de comprimento, bainha enegrescida, flores de pétalas brancas, folhas verde-amareladas, inflorescência estrobiliforme com brácteas azuis acinzentadas; roseta com 2 m de diâmetro, infundibuliforme, folhas rosuladas e espinhos na margem. Sua Inflorescência central, esbranquiçada, sépalas esverdeadas, bainha castanho, folhas com até 1,70 cm de comprimento, pétalas ovadas e pedúnculo medindo cerca de 40 cm de altura. Vale ressaltar, que essas plantas podem ser utilizadas no paisagismo de grandes áreas.

*Aechmea perforata* é uma espécie estritamente terrestre com ocorrência em Floresta Estacional Semidecidual, denominada popularmente como 'Mata de Cipó' ou raramente na Floresta Ombrófila, duas fitofisionomias da Mata Atlântica. A espécie ocorre desde o norte do estado do Espírito Santo ao Nordeste da Bahia. A espécie possui aproximadamente 1,2 m de altura com folhas infundibuliforme, rosuladas com espinhos na margem. À inflorescência é recoberta por uma lanugem esbranquiçada, dando a impressão de um algodão. As flores possuem pétalas azuis e muito atrativas para passeriforme, principalmente o gravatazeiro (*Rhopornis ardesiacus*), ave da família Thamnophilidae e microendêmica da região de Boa Nova e Brejões no estado da Bahia.

### ***Lymania***

*Lymania* Read é um gênero que compreende dez espécies (Gouda et al., 2023) e foi estabelecido com base em características específicas, tais como

pétalas livres e ovário ínfero sulcado ou alado (Read, 1984). Entre as espécies desse gênero, nove são endêmicas do sul da Bahia, encontrando-se restritas ao domínio da Mata Atlântica (Marinho et al., 2007; Sousa Wendt, 2008).

As espécies do gênero *Lymania* compartilham algumas características-chave. Geralmente, formam rosetas com formato semelhante a um tanque, compostas por 5 a 10 folhas com bainhas foliares elípticas e inteiras. As lâminas foliares são lineares, e o escapo é ereto e proeminente, muitas vezes incluso no interior do tanque. O ovário é ínfero, profundamente sulcado ou alado, com um tubo epigínico curto. Essas plantas têm uma propagação mais efetiva por meio de sementes, em detrimento da propagação vegetativa por estolões (Flora e Funga do Brasil, 2020).

Desse grupo de dez espécies presentes no gênero, 3 delas (*L. marantoides*, *L. languida* e *L. smithii*), não foram avaliadas quanto ao risco de ameaça. *Lymania languida* apresenta algumas características como rosetas lageniformes, com aproximadamente 25 a 30 cm de altura durante a floração, compostas por oito a nove folhas, cujo ápice é acuminado e levemente caudado, com espinhos imperceptíveis menores que 0,5 mm. Suas flores são frouxamente dispostas. As sépalas são agudas e conatas na base, de cor verde-clara, enquanto as pétalas são livres e suberetas na antese, com o ápice em um tom variando de branco a azul claro (Flora e Funga do Brasil, 2020).



**Figura 1.** Plantas e inflorescência de *Aechmea conifera*, *Aechmea perforata* e *Lymania languida*.

### **Ferrovia de Integração Oeste-Leste – FIOLO**

O governo federal, com o intuito de alavancar a capacidade de transporte nacional, priorizou o projeto da Ferrovia de Integração Oeste-Leste (FIOLO), com uma extensão de 1.527 quilômetros, ligando as cidades de Ilhéus, na Bahia à Figueirópolis no Tocantins. O empreendimento está dividido em três trechos:

Trecho I: Ilhéus/BA – Caetité/BA, com extensão de 537 km, com mais de 76% de execução física da obra. Trecho qualificado para subconcessão na primeira reunião do Conselho do PPI, em 13 de setembro de 2016. Trecho II: Caetité/BA – Barreiras/BA, com extensão de 485 km, dos quais cerca de 29% das obras estão executadas. Trecho III: Barreiras/BA – Figueirópolis/TO, com extensão aproximada de 505 km, em fase de estudos e projetos (Instituto Brasil Logística, 2021).

O projeto visa formar corredor logístico de transporte, ampliando as possibilidades de escoamento da produção agrícola, mineração e carga em geral, elevando a economia e o desenvolvimento nacional.

De acordo com a Agência Nacional de Transportes Terrestres-ANTT, a expectativa é de que a FIOLO 1, comece a operar em 2025, transportando mais de 18 milhões de toneladas de carga. A probabilidade é de que em 10 anos, esse

volume deva dobrar, superando os 50 milhões de toneladas em 2035, segundo dados do Ministério da Infraestrutura (BRASIL, Ministério da Infraestrutura, 2020).

O trecho I, foco desse estudo, atravessa os seguintes municípios do estado da Bahia: Ilhéus, Uruçuca (coletados *A. conifera* e *L. languida*), Aureliano Leal, Ubaitaba, Gongogi, Itagibá, Itagi, Jequié, Manoel Vitorino, Mirante, Tanhaçu, Aracatu, Brumado, Livramento de Nossa Senhora, Lagoa Real, Rio do Antônio, Ibiassucê e Caetitê, no qual foram coletadas as espécies deste trabalho.

### **Conservação de Recursos Genéticos Vegetais**

As plantas desempenham papel vital na sustentação da vida no planeta terra. No entanto, a biodiversidade vegetal encontra-se sob grande ameaça em escala global, com o número de espécies em risco de extinção crescendo de modo exponencial ano após ano (FAO, 2023).

A parte da biodiversidade vegetal, usada pelo homem, se constitui no recurso fitogenético que pode estar voltado para vários usos. Esses recursos genéticos são cruciais para assegurar a segurança alimentar e econômica, e por isso a importância de ações voltadas à sua conservação (Priyanka et al., 2021).

A conservação de germoplasma se constitui em um instrumento fundamental para a preservação de espécies voltadas para a alimentação e agricultura, assim como a conservação de alelos importantes para o melhoramento genético, tanto para o presente, como para o futuro dos cultivos de importância econômica, social e cultural.

A interferência humana tem conduzido à erosão da diversidade genética de várias espécies de importância social e econômica, a partir da seleção de genes favoráveis e a exclusão de variantes menos desejáveis, resultando em um risco crescente de extinção do material genético que pode ter uso futuro (Sala et al., 2000; Reed et al., 2011; Alho, 2012; Corlett, 2017). Nesse contexto, a conservação de germoplasma emerge como um importante mecanismo de proteção e manutenção da diversidade genética dessas espécies, contribuindo para o fortalecimento da segurança alimentar e a sustentabilidade da produção agrícola e econômica (Carvalho et al., 2002; Assis, 2006). As principais formas de

conservação genética são: *in situ*, *ex situ* e *on farm* (Sebbenn et al., 2007; Walter, 2010; Antunes et al., 2020).

A conservação *in situ* é uma estratégia que tem como objetivo principal manter a máxima diversidade genética das espécies em seus habitats naturais, permitindo um andamento da evolução entre plantas, animais e microrganismos e a preservação dos centros genéticos e geográficos originais da biodiversidade (Kageyama et al., 2001; Engelmann, 2011).

Essa abordagem é considerada mais adequada para a preservação de espécies, especialmente as endêmicas, e contribui para a sustentabilidade e preservação do patrimônio genético (MMA, 2023). Além disso, é uma abordagem que deve ser amplamente incentivada e aplicada em diferentes contextos, especialmente em relação à conservação de espécies endêmicas e ao manejo sustentável da diversidade genética de variedades agrícolas tradicionais. Entretanto, enfrenta várias barreiras, não apenas pela maior complexidade em determinar a variabilidade contida na população conservada, mas também por ser altamente dependente de políticas públicas. A ação antrópica está entre os fatores que mais dificultam essa forma de conservação.

A conservação *ex situ* busca preservar a biodiversidade por meio da manutenção e/ou conservação de espécies fora do seu habitat natural. Em alguns casos, essa abordagem é a única opção viável para garantir a sobrevivência de espécies raras e endêmicas. Essa forma de conservação é fundamental para a preservação da representatividade da biodiversidade e para o avanço da pesquisa científica, visto que oferece uma fonte de material genético para o desenvolvimento de programas de estudos (Sarasan et al., 2006; MMA, 2023).

A conservação *ex situ* abarca várias estratégias, que vão depender da espécie, de seus aspectos reprodutivos, da infraestrutura existente, dentre outros fatores que podem impactar na sua eficiência e manutenção. Outro ponto a se considerar é que algumas estratégias podem ser mais recomendadas como cópia de segurança, caso da conservação *in vitro* e da criopreservação. Além disso, a conservação pode ser realizada tanto em condições de campo, recomendação dada para as espécies de propagação vegetativa quanto em laboratórios, caso

das espécies com sementes ortodoxas (Gonzalez Benito et al., 2004; Pritchard, 2007; Engelmann, 2011).

A conservação "*on farm*" se refere às práticas de conservação de variedades agrícolas tradicionais, associadas a parentes silvestres, implementadas diretamente nas propriedades agrícolas e que podem ter estreita relação com conhecimento tradicional associado. Pode incluir a preservação de habitats naturais, a promoção da diversidade genética de culturas e animais, o manejo sustentável dos recursos hídricos e do solo, entre outras ações (Sunderland et al., 2013).

Para a conservação dos recursos genéticos vegetais, é fundamental que o método de preservação assegure a máxima viabilidade e estabilidade genética dos acessos, bem como a ausência de patógenos. Além disso, o local de armazenamento deve ser facilmente acessível para permitir a multiplicação e uso dos materiais preservados. Os recursos genéticos vegetais podem ser conservados a partir de sementes, grãos de pólen, do cultivo *in vitro* ou até mesmo por meio do plantio direto no campo (Paiva, 1994; Valois et al., 2001). Neste trabalho serão abordados os aspectos da conservação *in vitro* a partir da redução do metabolismo celular das plantas, desacelerando suas taxas de crescimento.

### **Conservação *in vitro***

A importância da conservação *in vitro* dos recursos genéticos, reside no fato de garantir a preservação da diversidade desses recursos. Esta técnica apresenta vantagens significativas, como armazenar o material genético em um ambiente controlado de laboratório, ocupando menos espaço em comparação com outros métodos de conservação. Além disso, contribui para evitar a propagação de doenças. A conservação *in vitro* possibilita conservar uma grande diversidade de plantas colaborando assim, para a manutenção da biodiversidade (Lemos et al., 2002; Coelho et al., 2020).

Um dos aspectos da conservação *in vitro* é reduzir o número de intervenções/subcultivos durante a permanência *in vitro* e, dessa forma, evitar contaminações oportunistas e variações somaclonais. Com esse foco, a estratégia de crescimento lento, ou seja, reduzir o metabolismo celular da planta para desacelerar seu crescimento, tem sido usada por várias espécies

(Elgelman, 2011). Para a redução do crescimento das plantas in vitro podem ser utilizadas várias abordagens, principalmente alterações nas condições de cultivo, tais como temperatura, luminosidade, meio de cultura etc. (Rocha, 2010). Para abacaxi, a redução na concentração de sais e da temperatura resulta em uma redução significativa do crescimento das plantas in vitro (Silva et al., 2016

A conservação in vitro é uma das alternativas que pode minimizar os danos causados pela extração de um grande número de bromélias, caracterizadas como raras, ameaçadas ou criticamente ameaçadas (Guerra e Dal Vesco, 2010).

De acordo com Silva et al. (2020), a conservação do germoplasma de bromélias precisa considerar a diversidade genética das condições naturais da espécie e para isso se recomenda o uso de sementes silvestre germinadas in vitro como estratégia de estabelecimento.

### **Micropropagação**

A micropropagação ou multiplicação in vitro é uma das técnicas de cultura de tecidos que oferece uma alternativa à propagação vegetativa convencional, por ser uma ferramenta eficiente para a produção de plantas em larga escala. Representa um conjunto de técnicas a partir do cultivo de pequenos propágulos (células, tecidos e órgãos), em um meio de crescimento apropriado, sob condições assépticas que favoreçam a regeneração da planta (Carvalho et al., 2006). Este processo exige condições ambientais controladas no que tange à luminosidade, fotoperíodo, temperatura e umidade relativa (Wendling et al., 2006), podendo ainda atender outros requisitos peculiares à espécie que será cultivada.

Já existem trabalhos de micropropagação para algumas espécies de bromélieaceae, como o de Silva et al., (2012) que utilizou *Nidularium Innocentii* Lem. e *Nidularium Procerum* Lindm. Silva et al., (2020) com *Alcantarea nahoumii*. e Faria Souza et al., (2023) com a espécie *Balansae* Mez.

A micropropagação permite a produção em massa de plantas geneticamente idênticas a partir de pequenos explantes de tecido vegetal, como brotos ou meristemas, em condições assépticas e controladas. Isso é

especialmente importante para espécies raras ou ameaçadas, onde a coleta de material de propagação diretamente do habitat pode ser prejudicial à população.

Além da conservação, a micropropagação também é útil na produção comercial de bromélias. Ela oferece um meio eficiente de obter grandes quantidades de plantas uniformes em um curto período de tempo, garantindo assim a disponibilidade contínua no mercado (Zottich et al., 2018; Martinez et al., 2019; Mantovani e Gonçalves, 2020).

A micropropagação de bromélias, por meio de sementes silvestres pode ser uma estratégia para reduzir o impacto do estresse antrópico sobre a diversidade destas espécies. A possibilidade de obtenção de grande número de plantas torna esta técnica uma ferramenta muito importante para a conservação. Além disso, o estabelecimento de protocolos de propagação in vitro permitirá a comercialização de mudas, evitando assim a extração e atividades que gerem a destruição de seus habitats naturais, como é o caso da Ferrovias de Integração Oeste Leste – FIOLE, que, apesar dos aspectos positivos, pode causar grandes impactos ambientais.

## REFERÊNCIAS

ALHO, C. J. R. Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 26, n. 74, p. 151-166, 2012.

ANACLETO, A.; NEGRELLE, R. R. B. Produção de bromélias no Estado do Paraná, Brasil. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 19, n. 2, p. 121-136, 2013.

ANTUNES, T. J.; COSTA, C. B. N.; SANTOS, V. C.; COSTA, J. A. S. Plantas ornamentais no Jardim Botânico FLORAS. **Paubrasilia**, Porto Seguro, v. 3, n. 2, p. 14-24, 2020.

APG - Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 181, p. 1-20, 2016.

ARAÚJO, K. G. L.; SABAA-SRUR, A. U. O.; RODRIGUES, F. S.; MANHÃES, L. R. T.; CANTO, M. W. D. Utilização de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cv. Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos: estudo da composição química e aceitabilidade. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 56-61, 2009.

ASSIS, F. S. Importância e conservação dos recursos genéticos vegetais. **SEMOG-Semana de Mobilização Científica-Importância e conservação dos recursos genéticos vegetais**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2006.

AZEREDO, T. E. V.; ZANETTE, V. C. Aspectos florísticos, taxonômicos e ecológicos de bromélias da mata atlântica do Sul de Santa Catarina, Brasil. **Revista de Estudos Ambientais**, Santa Catarina, v. 14, n. 4, p. 20-43, 2012.

BENITEZ-MALVIDO, J. Impact of forest fragmentation on seedling abundance in a tropical rain forest. **Conservation Biology**, Washington, v. 12 n. 2, p. 380-389, 1998.

BENZING, D. H. **Bromeliaceae**: Profile and adaptive radiation. Cambridge: Cambridge University Press, New York, 2000. 690 p.

BRANCALIONE, L. Educação Ambiental: Refletindo Sobre Aspectos Históricos, Legais e Sua Importância No Contexto Social. **Revista de Educação do IDEAU**, Caxias do Sul, v. 11, n. 23, p. 1809–6220, 2016.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 28 p.

CARVALHO, P. C. L. D.; SOARES FILHO, W. D. S.; RITZINGER, R.; CARVALHO, J. A. Conservation of germplasm of tropical fruits with farmer's participation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, p. 277-281, 2002.

CASTRO, A. C. R.; CORREIA, D.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H.; FRANCO, J., CAVALCANTI, T. B., SILVA, D. A. Brazilian ornamental phylogenetic resources in Embrapa germplasm banks: obstacles and opportunities. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 28, n. 4, p. 396-406, 2022.

COELHO, N.; GONÇALVES, S.; ROMANO, A. Endemic Plant Species Conservation: Biotechnological Approaches. **Plants**, Basel, v. 9, n. 3, p. 345, 2020.

CORLETT, R. T. A bigger toolbox: biotechnology in biodiversity conservation. **Trends in biotechnology**, Cambridge, v. 35, n. 1, p. 55-65, 2017.

COSTA, A.; GALVÃO, A.; SILVA, L. G. Mata Atlântica brasileira: análise do efeito de borda em fragmentos florestais remanescentes de em *hotspot* para conservação da biodiversidade. **Geomae**, Campo Mourão, v.10, n.1, p.112-123, 2019.

DAL VESCO, L. L. D.; STEFENON, V. M.; WELTER, L. J.; SCHERER, R. F.; GUERRA, M. P. Induction and scale-up of *Billbergia zebrina* nodule cluster cultures: implications for mass propagation, improvement and conservation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 128, n. 4, p. 515-522. 2011.

DEJEAN, A.; OLMSTED, I. Ecological studies on *Aechmea bracteata* (SWARTZ) (Bromeliaceae). **Journal of Natural History**, Abingdon, v. 31, n. 9, p. 1313-1334, 1997.

DINIZ, M. F.; FERREIRA, L. T. Bancos genéticos de plantas, animais e microrganismos: garantia da segurança alimentar do terceiro milênio. **Biociência**, Natal, v. 13, p 34-38, 2000.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. **In Vitro Cellular Developmental Biology - Plant**, New York, v. 45, p. 5-16. 2011.

FAO. 2023. The State of Food and Agriculture 2023 – Revealing the true cost of food to transform agrifood systems. Rome, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cc7724en> Acesso em: 30 nov. 2023

FARIA, A. P. G.; ROMANINI, R. P.; KOCH, A. K.; SOUSA, G. M.; SOUSA, L. O. F.; WANDERLEY, M. G. L.; SILVA, T. S. *Aechmea in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB5753>>. Acesso em: 28 jul. 2023

FARIA SOUZA, M. J. M.; THOMAZ, D. V.; CARNEIRO, L. A.; DE AGUIAR, D. V. A.; VAZ, B. G.; SOUSA, C. M.; DOS SANTOS, P. A. In vitro micropropagation of *Bromelia balansae* Mez.: effects of light intensity and growth regulators on plant development. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 12, n. 3, 2023.

FERREIRA, L. C.; MARTINS, L. C. F.; MEROTTO, S. C.; RAGGI, D. G.; SILVA, J. G. F. Educação ambiental e sustentabilidade na prática escolar. **Revista Brasileira de Educação Ambiental**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 201–214. 2019.

Flora e Funga do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 23 mar. 2023.

FORMAN, R. T. T. Land mosaics: The ecology of landscapes and regions. Cambridge **University Press**, Cambridge. v. 1, n. 1, p. 217-234, 1997.

FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; LEME, E. M. C.; VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L.; LOUZADA, R. B.; MONTEIRO, R. F.; JUDICE, D. M.; FERNANDEZ, E. P.; BORGES, R. A. X.; PENEDO, T. S. A.; MONTEIRO, N. P.; MORAES, M. A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 315-397, 2013.

FRANÇA-SANTOS, A.; ALVES, R. S.; LEITE, N. S.; FERNANDES, R. P. M. Estudos bioquímicos da enzima bromelina do *Ananas comosus* (abacaxi). **Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 5, n 11, 2009.

FRANKE, C. R.; ROCHA, P. L. B. D.; KLEIN, W.; GOMES, S. L. **Mata Atlântica e biodiversidade**. Salvador, 2005, 476 p.

GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; EE, B. VAN, RIINA, R.; SCHULTE, K., HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SMITH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular phylogenetics and evolution**, Madison, v. 71, p. 55-78, 2014.

GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; VAN EE, B.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SMITH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, New York, v. 98, p. 872-895, 2011.

GOMES, J. M. L.; SILVA, N. N. F. Bromeliaceae das restingas do estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza Online**, Santa Teresa, v. 11, p. 79-89, 2013.

GONZALEZ BENITO, M.; CLAVERO, R.; LÓPEZ, A. J. The use of cryopreservation for germplasm conservation of vegetatively propagated crops. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 2, n. 3, p. 341-351, 2004.

GOUDA, E. J.; BUTCHER, D.; DIJKGRAAF, L. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5. **Utrecht University Botanic Gardens**, (continuamente atualizado) <http://bromeliad.nl/encyclopedia/>. Acesso em: 23 mar. 2023.

- GUERRA, M. P.; VESCO, L. L. D. Strategies for the micropropagation of bromeliads. **Protocols for in vitro propagation of ornamental plants**, New York, v. 589, p. 47-66, 2010.
- HORRES, R.; SCHULTE, K.; WEISING, K.; ZIZKA, G. Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae) - evidence from molecular and anatomical studies. **Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany**, Claremont, v. 23, n. 1, p. 27-43, 2007.
- JACQUES-FÉLIX, H.; JACQUES-FÉLIX, H. The discovery of a bromeliad in Africa: *Pitcairnia feliciana*. **Selbyana**, Sarasota, p. 118-124, 2000.
- KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B.; VENCOVSKY, R. Conservação *in situ* de espécies arbóreas tropicais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 149-158, 2001.
- KOFFLER, S.; SOARES, F. M.; GHILARDI-LOPES, N. P.; ALBERTINI, B.; DRUCKER, D. P.; SALIM, J. A.; CARVELL, C. **FIT Count Brasil: monitoramento de visitantes florais por contagem**. Santo André: UFABC, Série Ciência Cidadã, v. 7, p. 90, 2022.
- LAURANCE, Willian. F. Hyperdynamism in fragmented habitats. **Journal of Vegetation Science**, Grangaerde, v. 13, n. 3, p. 595–602, 2002.
- LEME, E. M. C.; MARIGO, L. C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual, 1993. 183 p.
- LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. M.; ALENCAR, L. M. C.; NETO, C. E. R.; ALBUQUERQUE. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, 2002.
- MANTOVANI, A.; GONÇALVES, A. N. Micropropagação de Bromeliaceae: estado da arte e perspectivas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Maringá, v. 22, p. 1-8. 2020.
- MARINHO, F. J. E.; CUNHA, M. S.; FONTOURA, T. Fenologia da espécie *Lymania azurea* leme (Bromeliaceae) na reserva biológica de Una, BA. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007, Caxambu. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**. São Paulo: Sociedade de Ecologia do Brasil, 2007.
- MARTIN, J. G. P.; MATTA JÚNIOR, M. D.; ALMEIDA, M. A.; SANTOS, T.; SPOTO, M. H. F. Avaliação sensorial de bolo com resíduo de casca de abacaxi para suplementação do teor de fibras. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 14, n. 3, p.281-287. 2012.
- MARTINEZ, R.; CHAVES, N.; BORGES, A. L.; SANTOS, A. L. W. Micropropagation of *Aechmea blanchetiana* and *Neoregelia cruenta* var. *Lineata*

(Bromeliaceae) through indirect organogenesis. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 25, p. 257-262, 2019.

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

MATALLANA, G.; GODINHO, M. A. S.; GUILHERME, F. A. G.; BELISARIO, M.; COSER, T. S.; WENDT, T. Breeding systems of Bromeliaceae species: evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. **Plant Systematics and Evolution**, Berlim, v. 289, n. 1-2, p. 57-65, 2010.

MENDES, B. A. B. **Obtenção, caracterização e aplicação de farinha das cascas de abacaxi e de manga**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 2013.

MITTERMEIER, R. A.; GIL, P.R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G. A. B. **Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions**. CEMEX S. A, México, p.392, 2004.

MMA. **Conservação *in situ*, *ex situ* e *on farm***. Brasil, 2023. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/licita%C3%A7%C3%B5es-e-contratos/item/7611-conserva%C3%A7%C3%A3o-in-situ,-ex-situ-e-on-farm.html#portal-siteactions> Acesso em: 01 abril, 2023.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NEGRELLE, R. R. B.; ANACLETO, A.; MITCHELL, D. Bromeliad ornamental species: conservation issues and challenges related to commercialization. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 34, n. 1, p. 91-100, 2011.

NÓBREGA, M. M. S. **Compósitos de matriz poliéster com fibras de caroá *Neoglaziovia variegata*: caracterização mecânica e sorção de água**. 2007. 123 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2007.

PACHECO, N. I.; MENDES, L. A. P. P. F.; CARNEIRO, G. de S.; LOPES, D. C.; COUTINHO, I. V. L.; SILVA, A. K. A. P.; RODRIGUES, K. B. R.; DEUS, L. R. S.; SILVA, A. P.; SOUSA, T. Y. L. L. Caracterização do abacaxi e sua casca como alimento funcional: revisão narrativa. **Research, Society and Development**, Itabira, v. 11, n. 3, 2022.

PAIVA, J. R. Conservação *ex situ* de Recursos Genéticos de Plantas na Região tropical úmida. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 24, n. 1/2, p. 63–80, 1994.

PEREIRA, A. B. Mata Atlântica: uma abordagem geográfica. **Nucleus**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 1-27, 2009.

PIERCE, S.; MAXWELL, K.; GRIFFITHS, H.; WINTER, K. Hydrophobic trichome layers and epicuticular wax powders in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, Oxford, v. 88, n. 8, p. 1371-1389, 2001.

PINTO, L. P.; BRITO, M. C. W. Dinâmica da perda da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira: uma introdução. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. (Ed.). Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas. Belo Horizonte, **Fundação SOS Mata Atlântica e Conservação Internacional**, 2005. 472 p.

PRITCHARD, M. H. W. Cryopreservation of desiccation-tolerant seeds. **Cryopreservation and freeze-drying protocols**, New Jersey, v. 368, p. 185-201, 2007.

PRIYANKA, V.; KUMAR, R.; DHALIWAL, I.; KAUSHIK, P. Germplasm conservation: instrumental in agricultural biodiversity - A review. **Sustainability**, Switzerland, v. 13, n. 12, p. 6743, 2021.

RATSIRARSON, J.; SILANDER, J. A. Structure and dynamics in *Nepenthes madagascariensis* pitcher-plant micro-communities. **Biotropica**, Washington, v. 28, n. 2, p. 218-227, 1996.

READ, R. W. The 'Evolution' of a new genus, *Lymania* gen. nov. **Journal of the Bromeliad Society**, Orlando, v. 34, p. 199-216, 1984.

REED, B. M.; SARASAN, V.; KANE, M.; BUNN, E.; PENCE, V. C. Biodiversity conservation and conservation biotechnology tools. **In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant**, New York, v. 47, p. 1-4, 2011.

REED, B. M.; WADA, S.; DE NOMA, J.; NIEDZ, R. P. Mineral nutrition influences physiological responses of pear in vitro. **In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant**, New York, v. 49, p. 699-709, 2013.

REITZ, R. Bromeliáceas e a malária - bromélia endêmica. **Flora Ilustrada Catarinense**, (ed.). Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, Fasc. BROM. 59 p, 1983.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**. Essex, v. 142, p. 1141-1153. 2009.

RICKETTS, T. The matrix matters: Effective isolation in fragmented landscapes. **The American Naturalist**. Chicago, v. 158, n.1, p. 87-99, 2001.

ROCHA, C. F. D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; NUNES-FREITAS, A. F.; ROCHA-PESSÔA, T. C.; DIAS, A. D. S.; ARIANI, C. V.; MORGADO, L. N. Conservando

uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, Viçosa, v. 2, n. 1, p. 52-68, 2004.

ROCHA, M. A. C. **Multiplicação e conservação de Bromeliáceae Ornamentais**. 2010. 102 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas BA, 2010.

SALA, O. E.; CHAPIN, F. S.; ARMESTO, J. J.; BERLOW, E.; BLOOMFIELD, J.; DIRZO, R.; HUBER-SANWALD, E.; HUENNEKE, L. F.; JACKSON, R. B.; KINZIG, A.; LEEMANS, R.; LODGE, D. M.; MOONEY, H. A.; OESTERHELD, M.; POFF, N. L.; SYKES, M. T.; WALKER, B. H.; WALKER, M.; WALL, D. H. Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. **Science**, Washington, v. 287, n. 5459, p. 1770–74, 2000.

SANTINI, A. T.; SOUZA, B. S.; OLIVEIRA, D. C.; OLIVEIRA, M. D.; BORGES, S. S.; CARDOSO, P. F. **Aproveitamento da casca de abacaxi na confecção de geleia**. In: Simpósio de Pós-Graduação do Instituto Federal Sul de Minas, Inconfidentes. 2013.

SARASAN, V.; CRIPPS, R.; RAMSAY, M. M.; ATHERTON, C.; MCMICHEN, M.; PRENDERGAST, G.; ROWNTREE, J. K. Conservação *In vitro* de plantas ameaçadas – Progresso na última década. **In Vitro Cellular Developmental Biology – Plant**, New York, v. 42, p. 206–214, 2006.

SUNDERLAND, T.; POWELL, B.; ICKOWITZ, A.; FOLI, S.; PINEDO-VASQUEZ, M.; NASI, R.; E PADOCH, C. Food security and nutrition. **Center for International Forestry Research**, Indonésia, v.1, n.1, p.11, 2013.

VARASSIN, I. G.; SAZIMA, M. Recursos de Bromeliaceae utilizados por beija-flores e borboletas em Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, Santa Teresa, v. 11, n. 12, p. 57-70, 2000.

SCROK, G. J.; VARASSIN, I. G. Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 25, n. 3, p. 571-576, 2011.

SEBBENN, A. M.; FREITAS, M. L. M.; ZANATTO, A. C. S.; MORAES, E.; MORAES, M. A. Conservação ex situ e pomar de sementes em banco de germoplasma de *Balfourodendron riedelianum*. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 101-112, 2007.

SILVA, C. E.; HOLANDA, F. S. R. Indicadores de sustentabilidade para avaliação de agroecossistemas extrativistas: o caso da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no Baixo São Francisco, Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 9, n. 1, p. 15-36, 2010.

SILVA, J. L. A.; DANTAS, D. L. L.; GASPARETO, O. C. P.; FALCÃO FILHO, R. DOS S. Utilização de abacaxi para elaboração de vinhos: avaliação físico-química e aceitabilidade. **Holos**, Natal, v. 3, p. 108–118, 2010.

SILVA, A. L. L.; COSTA, J. D. L.; ALCANTARA, G. B.; CARVALHO, D. C.; SCHUCK, M. R.; BIASI, L. A.; SOCCOL, C. R. Micropropagation of *Nidularium innocentii* Lem. and *Nidularium procerum* Lindm. (Bromeliaceae). **Pakistan Journal of Botany**, Paquistão, v. 44, n. 3, p. 1095-1101, 2012.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Bromelioideae (Bromeliaceae. **Neotropica Monograph**, New York, v. 14, p. 1493-2141, 1979.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae. **Neotropica Monograph**, New York, v. 14, p. 1-658, 1974.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Tillandsioideae (Bromeliaceae. **Neotropica Monograph**, New York, v. 14, p. 663-1492, 1977.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; INPE. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**: período 2019/2020, relatório técnico. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2021, 73 p.

SOUSA, L. O. F.; WENDT, T. Taxonomy and conservation of the genus *Lymania* (Bromeliaceae) in the southern Bahian Atlantic Forest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Rio de Janeiro, v. 157, n. 1, p. 47-66, 2008.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. 2 ed., Brasília, v. 1, pp. 345-372, 2013.

SOUZA, F. V. D.; CARVALHO, A. D.; SOUZA, E. D. O Abacaxi ornamental. **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, p. 18-39, 2012.

TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J. M. C.; HIROTA, M. M.; BEDÊ, L. C. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**. Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 132-138, 2005.

VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L.; GOES, M. Conservação ex situ de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARESINGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 29-55, 2001.

VASCONCELLOS, V. C.; OLIVEIRA, J. M. S. Descrição morfológica e anatômica da estrutura floral em *Dyckia ibicuiensis* Strehl (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, Itapetinga, v. 6, n. 6, p. 58-69, 2019.

WALTER, B. M. T. **Manual de Curadores de Germoplasma Vegetal**: coleta de germoplasma. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2010.

WANDERLEY, M. G. L.; MARTINS, S. E. Bromeliaceae. **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**, São Paulo, v. 5, p. 39-162, 2007.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 59 p.

ZALUAR, H. L. T.; SCARANO, F. R. Facilitação em restingas de moitas: Um século de buscas por espécies focais. In: ESTEVES, F.A.; LACERDA, L. D. 1ª Edição. **Ecologia de restingas e lagoas costeiras**. Rio de Janeiro, 2000. 3-23p.

ZOTTICH, U. P.; VIEIRA, M. L. C.; KLEIN, R.; e CHALFUN, A. In vitro culture of *Vriesea reitzii* Leme and *Vriesea scalaris* Gaudich. ex Schult. f. (Bromeliaceae) using different cytokinins. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 24, p. 15-22, 2018.

## **CAPÍTULO I**

# **CONSERVAÇÃO IN VITRO DE TRÊS ESPÉCIES DE BROMELIACAE OCORRENTES NA BAHIA E REINTRODUÇÃO NO TRANSECTO DA FERROVIA DE INTEGRAÇÃO OESTE- LESTE – FIOLE<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Artigo a ser publicado na Genetic Resources and Crop Evolution.

## CONSERVAÇÃO IN VITRO DE TRÊS ESPÉCIES DE BROMELIACEAE OCORRENTES NA BAHIA E REINTRODUÇÃO NO TRANSECTO DA FERROVIA DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE – FIOLE

**RESUMO:** *Aechmea* e *Lymania* são gêneros de Bromeliaceae que apresentam variabilidade de formas, hábitos de crescimento e potencialidades. As três espécies são endêmicas do Brasil e possuem importância ecológica e potencial ornamental. Como estratégia alternativa para preservar essa diversidade, a conservação in vitro é uma técnica eficaz, pois sofre poucas intervenções e preserva a identidade genética e a qualidade fitossanitária do que está sendo conservado. Dessa forma, esse trabalho objetivou estabelecer e avaliar a conservação in vitro das espécies *Aechmea conifera* L.B.Sm, *Aechmea perforata* L.B.Sm e *Lymania languida* Leme (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia e endêmicas do Brasil. As plântulas de aproximadamente 5 cm, obtidas de sementes coletadas em populações naturais foram conservadas in vitro, sob crescimento mínimo. As plântulas foram estabelecidas em dois meios de cultura i) MS e ii) metade da concentração de sais MS adicionados de 2 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®, suplementados com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e incubadas em dois ambientes diferentes: sala de crescimento (25 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 μE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e sala de conservação (18 ± 1 °C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de 22 μE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) onde foram avaliadas 18 meses após seu estabelecimento (540 dias). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (espécies, concentração do MS e dois ambientes) com 26 repetições por tratamento, sendo cada repetição, constituída de uma plântula por tubo. Aos 180, 360 e 540 dias, foram avaliadas a altura da planta (cm), número de folhas verdes, número de folhas senescentes e número de raízes. Os dados foram submetidos à análise de variância, as médias das espécies foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05) ou teste F (p<0,05). A sala de conservação com temperatura de 18 °C e ½ MS foram eficientes para reduzir o crescimento das plantas in vitro das espécies *A. conifera*, *A. perforata* e *L. languida*. Essas condições para a conservação in vitro demandam menos manuseio, um maior intervalo entre subcultivos e menos probabilidades de variações somaclonais. A reintrodução das plantas de *A. conifera* se mostrou eficiente, com um pagamento de 100% das plantas introduzidas.

**Palavras-chave:** Bromélias, Cultura de tecidos, espécies endêmicas.

**IN VITRO CONSERVATION OF THREE BROMELIACEAE SPECIES FOUND IN  
BAHIA AND REINTRODUCTION IN THE WEST-EAST INTEGRATION  
RAILWAY TRANSECT – FIOLE**

**ABSTRACT:** *Aechmea* and *Lymania* are genera of Bromeliaceae that exhibit variability of shapes, growth habits, and potentialities. These three species are endemic to Brazil and hold both ecological importance and ornamental potential. As an alternative strategy for preserving this diversity, in vitro conservation proves to be effective, requiring minimal interventions while maintaining the genetic identity and phytosanitary quality of the conserved specimens. Thus, this study aimed to establish and evaluate the in vitro conservation of the species *Aechmea conifera* L.B.Sm, *Aechmea perforata* L.B.Sm e *Lymania languida* Leme (Bromeliaceae) occurring in Bahia and endemic to Brazil. Seedlings of approximately 5 cm, obtained from seeds collected in natural populations, were conserved in vitro, under minimum growth. The seedlings were established in two culture media i) DM and ii) half the concentration of MS salts added to 2 g L<sup>-1</sup> of Phytigel®, supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> of sucrose and incubated in two different environments: growth room (25 ± 1 °C, photoperiod of 16 hours and luminous intensity of 30 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and conservation room (18 ± 1 °C, photoperiod of 12 hours and luminous intensity of 22 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) where they were evaluated 18 months after its establishment (540 days). The experimental design was completely randomized in a 3 x 2 x 2 factorial scheme (species, MS concentration and two environments) with 26 replicates per treatment, each replication consisting of one seedling per tube. At 180, 360 and 540 days, plant height (cm), number of green leaves, number of senescent leaves and number of roots were evaluated. The data were submitted to analysis of variance, and the means of the species were compared by Tukey's test (p<0.05) or F-test (p<0.05). The conservation room with a temperature of 18 °C and 1/2 MS were efficient to reduce the growth of in vitro plants of the species *A. conifera*, *A. perforata* and *L. languida*. These conditions for in vitro conservation require less handling, promote a longer interval between subcultures and less probability of somaclonal variations. The reintroduction of *A. conifera* plants proved to be efficient, with a setting of 100% of the introduced plants.

**Keywords:** Bromeliads, Tissue culture, endemic species.

## INTRODUÇÃO

Bromeliaceae é composta por 3.764 espécies distribuídas em 82 gêneros (Gouda et al., 2023). Entre esses gêneros, destaca-se o gênero *Aechmea*, que conta com um total de 243 espécies, sendo o maior da subfamília Bromelioideae (Gouda et al., 2023). A grande maioria das espécies é encontrada na região da Mata Atlântica, especialmente em áreas localizadas a leste da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Flora e Funga do Brasil, 2020). *Aechmea* são plantas herbáceas, contém inflorescências simples ou compostas, de hábito terrícola ou epífita, com coloração intensa o que contribuem para o grande potencial ornamental (Terao et al., 2005; Vizentin et al., 2017).

Outro gênero que também possui um elevado grau de endemismo é o *Lymania*, sendo endêmica do estado da Bahia, exceto *L. smithii* Read que tem uma distribuição geográfica mais ampla para os estados de Pernambuco e Alagoas (Siqueira-Filho et al., 2006). Na maioria dos casos, a distribuição geográfica restrita das espécies que vivem em fragmentos de Mata Atlântica, as coloca sob diferentes níveis de ameaça, desde 'Em perigo' (EN) até ' criticamente em perigo' (CR) (Forzza et al. 2013).

Além da destruição de seus habitats por ações antrópicas, o valor ornamental dessas espécies tem causado perdas significativas em populações naturais, por uma atividade extrativista predatória, causando perda de diversidade e erosão genética. Na Bahia, a construção da Ferrovia de Integração Oeste Leste – FIOLE, tem preocupado a comunidade científica pelo impacto que pode causar no trecho por onde vai passar, afetando a biodiversidade dessa região (OIKOS, 2009). O alto grau de endemismo dessas regiões representa um risco de perda de espécies, sem possibilidade de reposição.

Essa condição de endemismo e ameaça, deixa evidente a fragilidade dessas espécies e a necessidade de se estabelecer estratégias de conservação, sejam *in situ* ou *ex situ*. Dentre as estratégias *ex situ*, a conservação de Bromeliaceae pode ser feita em telado, *in vitro* ou em criopreservação (Silveira et al., 2009; Silva et al., 2020; Oliveira et al., 2021).

Atualmente, na Bahia, encontra-se o Banco de Germoplasma de Bromélia (BGB-Bromélia), mantido pelo Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Esta coleção conta com um total de mais de 2.100 acessos conservados em condições de ripado de madeira, bem como aproximadamente 250 exemplares mantidos na conservação *in vitro* como cópia de segurança. Todas as coletas realizadas obedeceram rigorosamente ao marco regulatório, garantindo a integridade e legalidade da coleção. Esta coleção tem desempenhado um papel fundamental no apoio à diversas pesquisas relacionadas à biologia floral e reprodutiva, propagação, e conservação do germoplasma (Mota et al., 2023).

A conservação *ex situ* de bromélias deve considerar a preservação da diversidade genética existente na natureza. Portanto, a amostragem da coleta deve ser feita dentro de populações naturais. Especificamente na conservação *in vitro*, é crucial observar essa prática para evitar a clonagem de um único genótipo coletado. Para esse fim, é aconselhável utilizar sementes provenientes de várias plantas dentro da população natural, e a germinação *in vitro* e a conservação *in vitro* devem ser aplicadas em conjunto para permitir a manutenção desta diversidade (França et al., 2021).

A conservação *in vitro*, quando conduzida corretamente, é uma técnica que viabiliza a manutenção de plantas em condições controladas de laboratório, minimizando ao máximo as intervenções e preservando a identidade genética do material (Engelmann, 2011). A qualidade fitossanitária das plantas conservadas será sempre resultado da matriz que foi introduzida, por isso a importância da qualidade e sanidade dos explantes que são utilizados para a conservação *in vitro*.

Dentre as abordagens da conservação *in vitro*, a redução do metabolismo celular das plantas torna seu crescimento *in vitro* mais lento, demandando menos intervenções para renovação (subcultivos) e reduzindo os riscos de variações somaclonais. Essa redução pode ser alcançada pela intervenção em diversos fatores, como no meio de cultura (redução de sais, fontes de carboidratos, uso de inibidores, reguladores etc.) ou no ambiente de incubação (redução da temperatura, fotoperíodo e diminuição da intensidade de luminosidade (Engelmann, 2011; Rajasekharan e Sahijram, 2015; Chauhan et al., 2019).

Segundo Silva et al. (2018), a conservação e germinação in vitro de Bromeliaceae, podem ser cruciais para manter a variabilidade genética da espécie, uma vez que, na condição de telado nem sempre é viável devido a manutenção de várias plantas da mesma população, risco de perdas, além de um espaço físico considerável. O BAG in vitro é uma cópia de segurança da coleção principal mantida em condições de telado na Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Partindo desse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o crescimento de plantas in vitro, das espécies *Aechmea conifera* L.B.Sm, *A. perforata* L.B.Sm e *Lymania languida* Leme (Bromeliaceae) ocorrentes em Uruçuca e Boa Nova trechos da Ferrovia de Integração Oeste Leste - FIOLE na Bahia, em diferentes condições de cultivo para determinar seu melhor desempenho para a conservação in vitro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta de Material vegetal**

Foram coletados exemplares de plantas, em populações naturais, das espécies *Aechmea conifera* (HURB 29448), *A. perforata* (HURB 28017) e *Lymania languida* (HURB 27855) para retirada das sementes de frutos maduros e sua posterior germinação in vitro. Expedições foram efetuadas no Parque Estadual Serra do Conduru (14°29'39" S 39°08'14" W), Uruçuca, Bahia para coleta da *Aechmea conifera* e *Lymania languida* e no Parque Nacional de Boa Nova (14°23'40" S 40°05'12" W), Boa Nova, Bahia para coleta da *A. perforata*.

As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO no: 81949-1 e as atividades realizadas estão devidamente cadastradas no SISGEN. Os exemplares das espécies coletadas foram incorporados no Herbário do Recôncavo (HURB), no Banco de Germoplasma de Bromélias, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

## Conservação in vitro

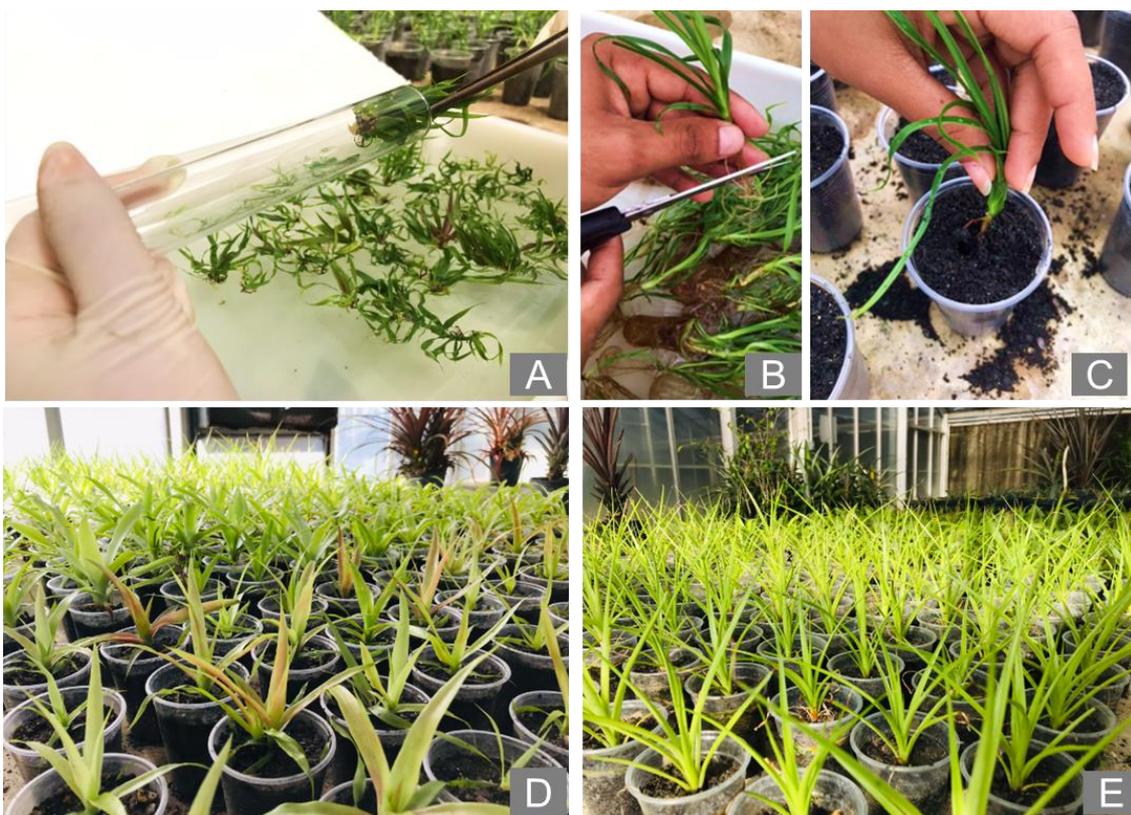
Plântulas com aproximadamente 5 cm de comprimento, provenientes da germinação in vitro em sala de crescimento, foram estabelecidas em tubos de ensaio (25 x 150 mm) contendo 30 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) e metade da concentração dos sais de MS, 2 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® e suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose em duas condições de incubação: 1) sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1 °C, intensidade luminosa de 40 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 h e sala de conservação com temperatura de 18 ± 1 °C intensidade luminosa de 22 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 12 horas. Após esta transferência determinou-se que o termo plântula fosse substituído por planta, uma vez que, com a realização do subcultivo, não é mantida a condição de plântula.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo, sendo: 3 espécies (*A. conifera*, *A. perforata* e *L. languida*), 2 ambientes (sala de crescimento e sala de conservação) e 2 concentrações de sais de MS (MS completo e ½ MS), suplementado com 3% de sacarose sem qualquer regulador de crescimento. Foram utilizadas 26 repetições por tratamento, sendo cada repetição uma planta por tubo de ensaio. Foram realizadas avaliações aos 180 dias, 360 dias e 540 dias após o cultivo (Tabela 1) das seguintes variáveis: altura da planta (cm); número de folhas verdes; número de folhas senescentes e número de raízes. A altura da planta, ocorreu por medição direta aproximada com régua graduada, ocorrendo sem que houvesse a remoção da planta de dentro do tubo de ensaio. Os dados foram submetidos à análise de variância, as médias entre as espécies foram realizadas pelo teste de Tukey (p <0,05) e as médias comparando o meio de cultura e ambientes de cultivo foram realizadas pelo teste de F (p<0,05) utilizando o programa estatístico R Core Team (2022).

## Aclimatização

Em paralelo ao estabelecimento das plantas na conservação in vitro, plantas restantes das espécies germinadas in vitro na sala de crescimento foram aclimatizadas após 120 dias em casa de vegetação com aproximadamente 10 a 15 cm de altura, de 9 a 12 folhas verdes e de 6 a 10 o número de raízes. Sendo

17 plantas de *Aechmea perforata*; 28 de *Aechmea conifera* e 22 de *Lymania languida*. O meio de cultura foi removido com água corrente e as plantas transferidas para copos descartáveis de 200 mL contendo substrato Vivato®. A irrigação foi realizada duas vezes ao dia (de manhã e no final da tarde), mantendo-se em casa de vegetação a 50% de luminosidade e temperatura de  $29 \pm 2$  °C. A duração da aclimatização variou de seis a oito meses, até as plantas serem levadas para o ambiente natural.



**Figura 1.** A) Limpeza das raízes e remoção do meio de cultura. B) Redução das raízes. C) Estabelecimento das plantas em substrato. D) Desenvolvimento da *Aechmea perforata* aos 160 dias de aclimatizadas. E) Desenvolvimento da *Aechmea conifera* aos 160 dias de aclimatizadas.

### Reintrodução em ambiente natural

A reintrodução em ambiente natural foi realizada com plantas que apresentavam bom desenvolvimento de parte aérea e sistema radicular abundante (Figura 3).

*Aechmea conifera* por ser uma espécie epífita e coletada inicialmente no Parque Estadual da Serra do Conduru (PESC) foi reestabelecida na mesma área

original. Foram transportadas e reintroduzidas 25 plantas para o PESC. A retirada dos tubetes foi feita no momento da fixação em árvores, que foi realizada utilizando fibra de coco (Figura 4A), ou troncos de madeira de árvores mortas (Figura 4B). Vale destacar que podem ser utilizadas fibras de distintas palmeiras (dendezeiro, licurizeiro). O monitoramento vem sendo realizado com base no georreferenciamento, imagens e com a colaboração de funcionários do PESC. As outras duas espécies (*Aechmea perforata* e *Lymania languida*), precisam obter um maior ganho de massa para serem reintroduzidas.

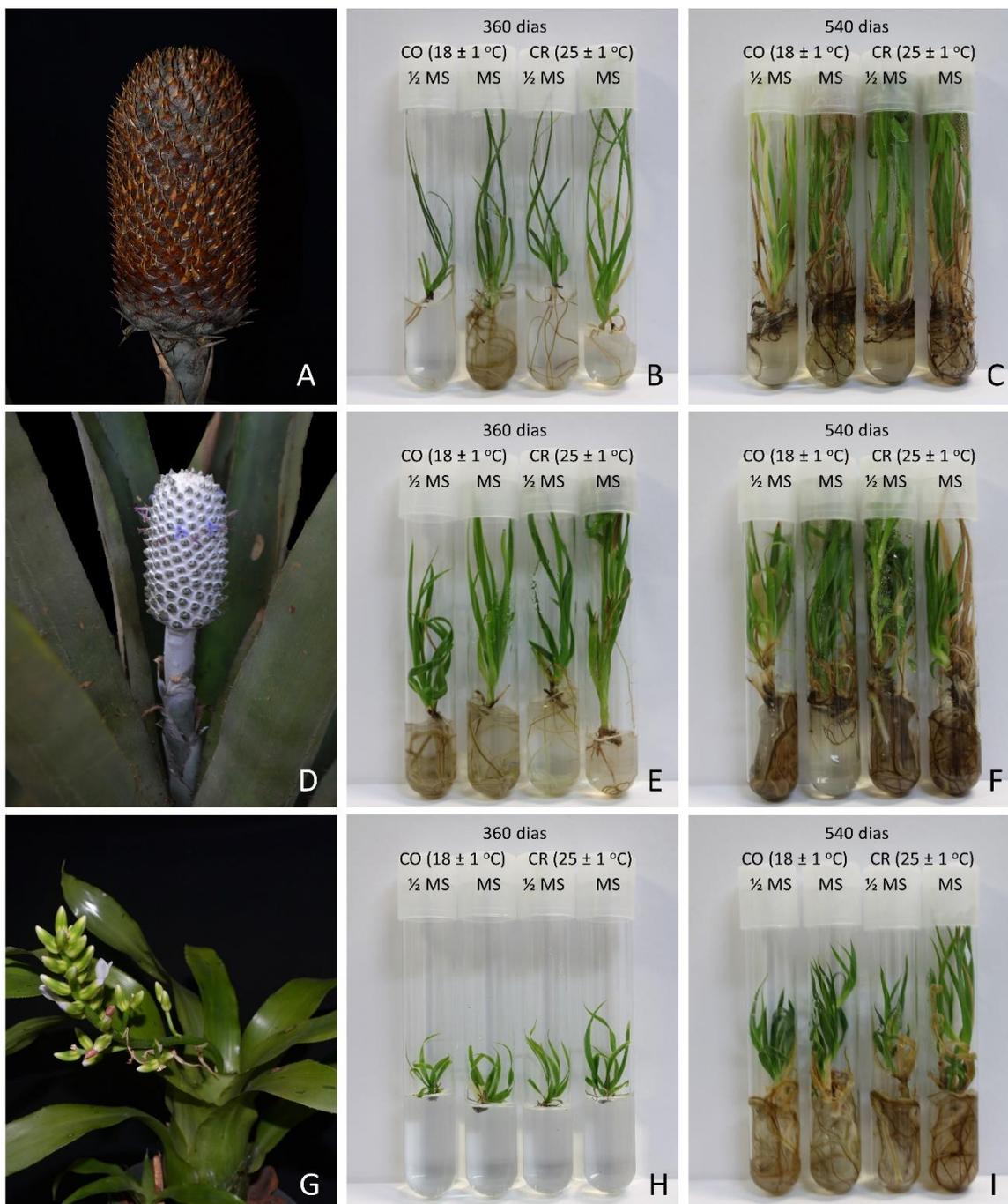
## RESULTADO

Os resultados mostram uma interação significativa entre os fatores estudados (espécie, meio de cultura e ambiente de cultivo) e o seu desdobramento (Tabela 1 e Figura 2).

**Tabela 1.** Conservação in vitro de três espécies de Bromeliaceae nas diferentes concentrações de sais de MS e condições de cultivo ao longo de 540 dias de avaliação.

Tratamento	180 dias		360 dias		540 dias	
	½ MS	MS	½ MS	MS	½ MS	MS
<i>Aechmea conifera</i>						
Altura Média de Planta (cm)						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	7,13 bA	9,12 aA	8,75 bA	10,65 aA	9,73 bA	11,15 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	6,13 bB	7,27 aB	8,02 bB	9,28 aB	8,75 bB	10,12 aB
Número Médio de Folhas Verdes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	8,28 bA	10,15aA	8,15 bA	9,15 aA	8,09 bA	9,32 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	6,32 bB	8,13 aB	7,00 bB	8,28 aB	7,13 bB	8,18 aB
Número Médio de Folhas Senescentes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	0,15	0,28	1,16 bA	2,12 aA	3,10 bA	4,12 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	0,00	0,00	0,98 bA	1,34 aA	2,08 bB	2,98 aB
Número Médio de Raízes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	5,12 aA	5,35 aA	6,18 aB	7,21 aA	6,90 bA	9,32 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	4,12 bB	5,02 aA	4,90 aB	6,92 aA	6,51 bA	9,03 aA
<i>Aechmea perforata</i>						
Altura Média de Planta (cm)						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	8,95 bA	10,33 aA	8,75 bA	11,33 aA	9,95 bA	12,55 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	6,92 bB	8,25 aB	8,13 bB	9,85 aB	9,05 bB	10,13 aB
Número Médio de Folhas Verdes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	7,88 bA	9,18 aA	8,53 bA	9,75 aA	6,09 bA	7,32 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	6,71 bB	8,10 aB	7,12 bB	8,28 aB	5,33 bB	6,18 aB
Número Médio de Folhas Senescentes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	0,21	0,20	4,16 bA	5,50 aA	5,33 bA	6,68 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	0,09	0,00	1,93 bA	2,75 aA	3,07 bB	3,85 aB
Número Médio de Raízes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	8,95 aA	9,51 aA	11,95 aA	12,35 aA	15,09 aA	14,21 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	7,31 aB	6,98 aB	9,53 aB	8,95 aB	11,20 aB	11,95 aB
<i>Lymania languida</i>						
Altura Média de Planta (cm)						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	2,92 bA	3,95 aA	4,35 bA	5,28 aA	5,26 bA	6,95 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	2,11 bB	2,83 aB	3,91 bB	4,53 aB	4,33 bB	5,21 aB
Número Médio de Folhas Verdes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	7,29	8,10	5,85 aB	5,91 aB	3,21 aB	2,91 aB
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	6,95	7,13	6,98 aA	7,11 aA	5,78 aA	5,21 aA
Número Médio de Folhas Senescentes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	0,05	0,11	2,16 bA	3,22 aA	4,18 bA	5,21 aA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	0,00	0,00	0,87 bB	2,21 aB	2,92 bB	3,72 aB
Número Médio de Raízes						
Sala de crescimento (25 ± 1 °C)	4,95 aA	4,21 bA	5,21 aA	4,12 bA	6,31 aA	5,53 bA
Sala de conservação (18 ± 1 °C)	3,92 aB	3,88 aB	4,17 aB	3,95 aB	5,11 aB	4,95 aB

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas na linha e maiúsculas nas colunas para cada variável analisada, não diferem entre si a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.



**Figura 2.** A) inflorescência *Aechmea conifera*. B) Plantas conservadas in vitro em sala de conservação (CO) a 18° C e em sala de crescimento (CR) a 25 °C com ½ MS e MS completo aos 360 dias. C) Plantas conservadas in vitro em sala de conservação (CO) a 18° C e em sala de crescimento (CR) a 25 °C com ½ MS e MS completo aos 540 dias. D) inflorescência *Aechmea perforata*. E) Plantas conservadas in vitro em sala de conservação (CO) a 18° C e em sala de crescimento (CR) a 25 °C com ½ MS e MS completo aos 360 dias. F) Plantas conservadas in vitro em conservação (CO) a 18° C e em sala de crescimento (CR) a 25 °C com ½ MS e MS completo aos 540 dias. G) *Lymania languida*. H) Plantas conservadas in vitro em sala de conservação (CO) a 18° C e em sala de crescimento (CR) a 25 °C com ½ MS e MS completo aos 360 dias. I) Plantas conservadas in vitro em sala de conservação a (CO) 18° C e em sala de crescimento a (CR) 25 °C com ½ MS e MS completo aos 540 dias.

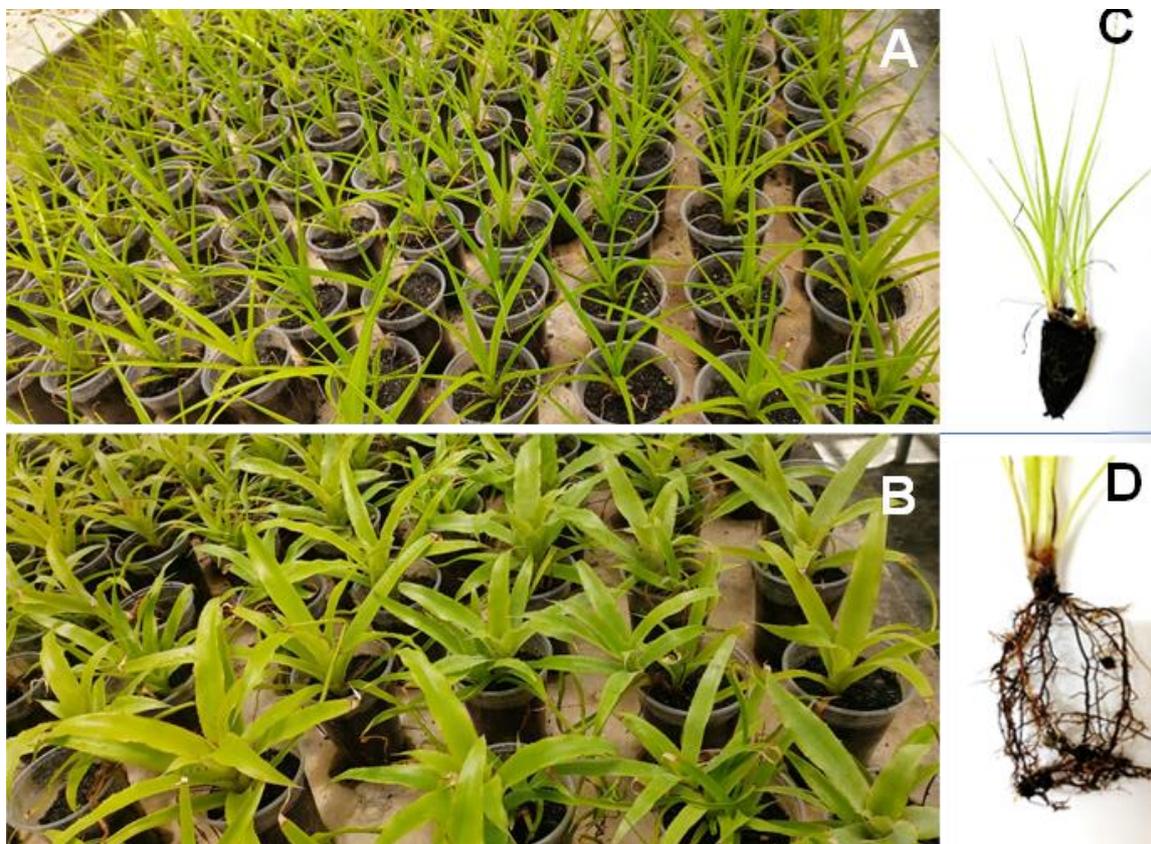
Considerando as duas condições de incubação (sala de crescimento e conservação), as diferenças entre ambos os ambientes são marcantes, com plantas mais desenvolvidas em sala de crescimento. A diferença no crescimento entre a sala de conservação, que tem uma temperatura mais baixa, e a sala de crescimento padrão ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) é perceptível nas duas espécies de *Aechmea* durante os três períodos de avaliação. Isso é evidente ao compararmos o crescimento, a altura das plantas e o número de folhas verdes, que são menores na sala de conservação. Além disso, percebeu-se um efeito da concentração dos sais da solução MS, independente do ambiente de cultivo. As plantas apresentaram um crescimento mais robusto na concentração completa de MS, exceto no caso do número médio de raízes, que não apresentou diferença entre as concentrações em ambas as espécies.

Esse comportamento, em relação à concentração de sais do MS, foi observado para todas as variáveis, ao longo dos três períodos de avaliação, com as duas espécies de *Aechmea*. O número de folhas senescentes aumentou ao longo dos três períodos de avaliação independente das condições de incubação, mas há uma influência das concentrações de sais nos dois últimos períodos (360 e 540 dias), com menos folhas senescentes no meio com  $\frac{1}{2}$  do MS.

*Lymania languida* apresenta valores bem diferentes dos que foram observados para as duas espécies de *Aechmea* com um crescimento mais lento em ambas as condições de incubação, mas com uma diferença significativa entre os dois ambientes considerando a altura da planta e o número de raízes ao longo dos três períodos de avaliação. Altura da planta e número de folhas senescentes aumentaram ao longo dos três períodos de avaliação, mas o número de folhas verdes decresce em ambos os ambientes de cultivo, ainda que o maior crescimento tenha sido registrado no ambiente de conservação ao contrário das espécies de *Aechmea*. Por outro lado, o número médio de raízes apresentou valores muito inferiores aos que foram obtidos com as espécies de *Aechmea*.

Não houve registro de perda das plantas aclimatizadas no substrato Vivato® para *A. conifera* e *A. perforata* (Figura 3A-B). Aos 120 dias as plantas já possuíam folhas novas e um número considerável de raízes (Figura 3C-D). Devido ao tamanho reduzido das plantas de *L. languida* e por ser uma espécie estritamente epífita a mesma não foi aclimatizada tendo permanecido até 180 dias. Quanto ao

transplante/reintrodução das 25 plantas da espécie *A. conifera* no Parque Estadual da Serra do Conduru, não foi registrada nenhuma perda nos oito meses de monitoramento realizado, apesar do crescimento ser bem lento (Figura 4).



**Figura 3.** Aclimatização de *Aechmea conifera* L.B.Sm (A) e *Aechmea perforata* (B) em casa de vegetação. Planta retirada do tubete para fixação em área natural (C) e volume de raízes antes da fixação (D).

## DISCUSSÃO

*Aechmea conifera* é uma espécie epífita, endêmica do Brasil e ocorre no Nordeste, nos estados da Bahia e Alagoas. Seu domínio fitogeográfico é a Mata Atlântica e vegeta principalmente o dossel da Floresta Ombrófila. Já *Aechmea perforata* pode-se apresentar como epífita e terrícola, com ocorrência na Bahia e norte do Espírito Santo. O domínio fitogeográfico dessas espécies são a Mata Atlântica com fitofisionomia da Floresta Ombrófila ou Floresta Estacional Semidecidual.

*Lymania languida* é uma espécie estritamente epífita, microendêmica com distribuição apenas no município de Uruçuca. Nunca foi avaliada quanto ao risco

de extinção, mas acredita-se que ela está entre as espécies criticamente ameaçadas. Seu desenvolvimento in vitro foi bem inferior às duas espécies de *Aechmea*, ressaltando sua fragilidade e a necessidade de melhorar suas condições de cultivo.

Neste tipo de estudo, é preciso avaliar o conjunto das múltiplas variáveis envolvidas antes de se determinar qual o melhor tratamento para a conservação in vitro. A estratégia mais utilizada para esse tipo de conservação, a médio prazo, é a redução do metabolismo celular, que leva a um crescimento mais lento, aumentando os intervalos entre subcultivos, diminuindo custos, mão de obra e variações genéticas (Pacheco et al., 2016; Silva et al., 2016; Chauhan et al., 2019). Dentre as variáveis avaliadas a altura da planta é um dos indicadores usados, mas a planta conservada precisa manter sua viabilidade, sua capacidade de regeneração e multiplicação. Por isso, é preciso manter seu vigor, com um sistema de enraizamento estabelecido, número de folhas significativo e uma senescência mais tardia.

Os resultados encontrados neste trabalho, deixam evidente o efeito da temperatura, do fotoperíodo nos parâmetros de crescimento das plantas, independente do gênero ou espécie. A temperatura mais baixa reduziu o metabolismo da planta, reduzindo sua taxa de crescimento e confirmando a eficiência desse fator no estabelecimento de condições de crescimento lento, como já observado em outras espécies da família (Silveira et al., 2009). Silva et al. (2020), avaliando os mesmos fatores na conservação in vitro de *Alcantarea nahoumii* (Leme) J. R. Grant encontraram resultados similares, com a redução de crescimento mais acentuada na sala de conservação, na temperatura mais baixa de 20 °C.

Vários estudos fazem referência ao uso de diferentes fatores para reduzir o crescimento de plantas e aumentar o intervalo entre subcultivos, uma vez que quanto menos intervenções feitas durante a conservação, menores são os riscos, tanto de contaminação, quanto de variação somaclonal (Silva et al., 2020).

Em soma à temperatura, a concentração de sais do MS é outro fator que vem sendo considerado em vários estudos voltados para a conservação in vitro de Bromeliaceae. A redução dos sais pode favorecer uma redução de crescimento sem comprometer o vigor da planta, mas nem sempre isso acontece. Silva et al.

(2020) no estudo com *Alcantarea nahoumii* concluíram que a redução na concentração de sais do MS comprometeu o desenvolvimento fisiológico das plantas e optaram pela conservação com a concentração completa de sais do MS. Uma das observações interessantes mencionadas no trabalho foi em relação ao número de folhas senescentes, revelando que apesar do maior crescimento observado no tratamento com a concentração completa do MS e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, não houve comprometimento ou envelhecimento das plantas conservadas, conseqüentemente não houve um aumento de folhas senescentes. Assim, os autores consideraram este tratamento o melhor para a conservação *in vitro* de *A. nahoumii*. Já para abacaxizeiro, a conservação é realizada com a ½ da concentração do MS adicionada de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 2,4 g L<sup>-1</sup> de Phytigel (Silva et al., 2016). Das variáveis avaliadas, o número de folhas senescentes é um indicador importante das condições fisiológicas da planta e sua interação com a concentração de sais do MS deve sempre ser observada.

Silva et al. (2016) ao fazer a validação da conservação *in vitro* de abacaxi destacam as condições estabelecidas em sala de conservação para a redução do crescimento. As plantas utilizadas já tinham dez anos na conservação *in vitro* em condições de crescimento lento (fotoperíodo de 12 horas; 18°C de temperatura, meio de cultura sem reguladores de crescimento e sais MS), com um intervalo de subcultivo de 24 meses. O processo de validação de um protocolo é fundamental para o estabelecimento das condições ideais de conservação e a recomendação é que seja feito *in vitro* e *in vivo* em condições de campo (Silva et al., 2016; 2021).

Além desses fatores, o uso de reguladores tem sido relatado para a conservação *in vitro* de algumas espécies de Bromeliaceae, como em *Neoregelia mucugensis* Leme. Constatou-se que o tratamento contendo MS ½ e 7,8 g L<sup>-1</sup> de manitol foi o mais indicado para a conservação *in vitro* dessa espécie com manutenção da capacidade regenerativa dos seus tecidos (Lima et al., 2021).

As duas espécies de *Aechmea* apresentaram comportamentos similares, ainda que *A. perforata* tenha apresentado um crescimento mais vigoroso, principalmente para o número de raízes, variável importante no resgate posterior da planta. É preciso avaliar que esse crescimento impacta também na senescência da planta, como observado pelo número de folhas senescentes aos 540 dias, principalmente na temperatura mais alta e na concentração completa do

MS. No entanto, ao se observar o número de raízes para *A. perforata* e *L. languida* não há diferença significativa, considerando a sala de conservação (18°C), entre as concentrações de sais do MS.

A quantidade de folhas senescentes foi maior nas salas de crescimento a 25 °C em comparação com as salas de conservação a 18 °C. Não apenas as concentrações de sais do MS influenciam o processo de senescência das folhas, mas temperaturas mais altas também (Freitas, 2018).

Na Figura 2 é possível observar o crescimento aos 360 dias e aos 540 dias de cultivo para as três espécies avaliadas. Tanto o número de folhas, como o número de raízes crescem de forma significativa entre os dois períodos. As plantas das duas espécies de *Aechmea*, aos 540 dias incubadas em câmara de crescimento, em meio MS ou ½ MS, já indicam a necessidade de transferência para meio fresco, ou seja, subcultivar (Figura 2C e F). Para essas duas espécies, a sala de conservação e ½ MS são recomendações a serem feitas. Já para *L. languida* o crescimento é bem mais lento (Figura 2H-I), o que provavelmente vai determinar um intervalo bem maior de subcultivo, se comparada com as duas espécies de *Aechmea*. Os dois indicadores importantes para se determinar a necessidade de subcultivo é a altura da planta (folhas tocando a tampa do tubo) e número de folhas senescentes.

O que parece ser crucial para a conservação das três espécies são a temperatura, luminosidade, fotoperíodo, concentrações do MS, entre outros. O Banco de Germoplasma de Bromélias da Embrapa Mandioca e Fruticultura mantém aproximadamente 250 acessos conservados a 18°C, com 30g de sacarose, um fotoperíodo de 12 horas e utilizando metade da concentração padrão do meio MS. Com base nos resultados apresentados aqui, as três espécies podem ser mantidas nas mesmas condições, o que facilitaria a operação, o manejo e o planejamento do banco de germoplasma.

As pesquisas voltadas à conservação *in vitro* de espécies da família Bromeliaceae têm apresentado resultados promissores, como os estudos com *Vriesea reitzii* (Rech Filho et al., 2005) e a *Vriesea inflata* (Pedroso et al., 2010). Max (2019), por sua vez, conduziu uma análise envolvendo 57 espécies de Bromeliaceae, cujos resultados indicaram que a sala de conservação a  $19 \pm 1$  °C

com intensidade luminosa de  $22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 12 horas. foi mais adequada para lograr um crescimento mais lento, aumentando o intervalo para intervenções (subcultivos).

Em diferentes contextos, são identificadas abordagens similares para muitas outras espécies de propagação vegetativa, banana, mandioca, cana-de-açúcar, vetiver, dentre outras (Lemos et al., 2002; Santos et al., 2012).

No que concerne aos resultados deste trabalho, foi demonstrado claramente a eficácia da sala de conservação ( $18 \text{ }^\circ\text{C}$ ) para a redução do crescimento e a conservação in vitro dessas espécies.

### **Reintrodução em ambiente natural**

A reintrodução em ambiente natural é uma das etapas fundamentais deste trabalho e a confirmação de que o processo foi exitoso se dá por meio de monitoramento das plantas reintroduzidas e devidamente georreferenciadas.

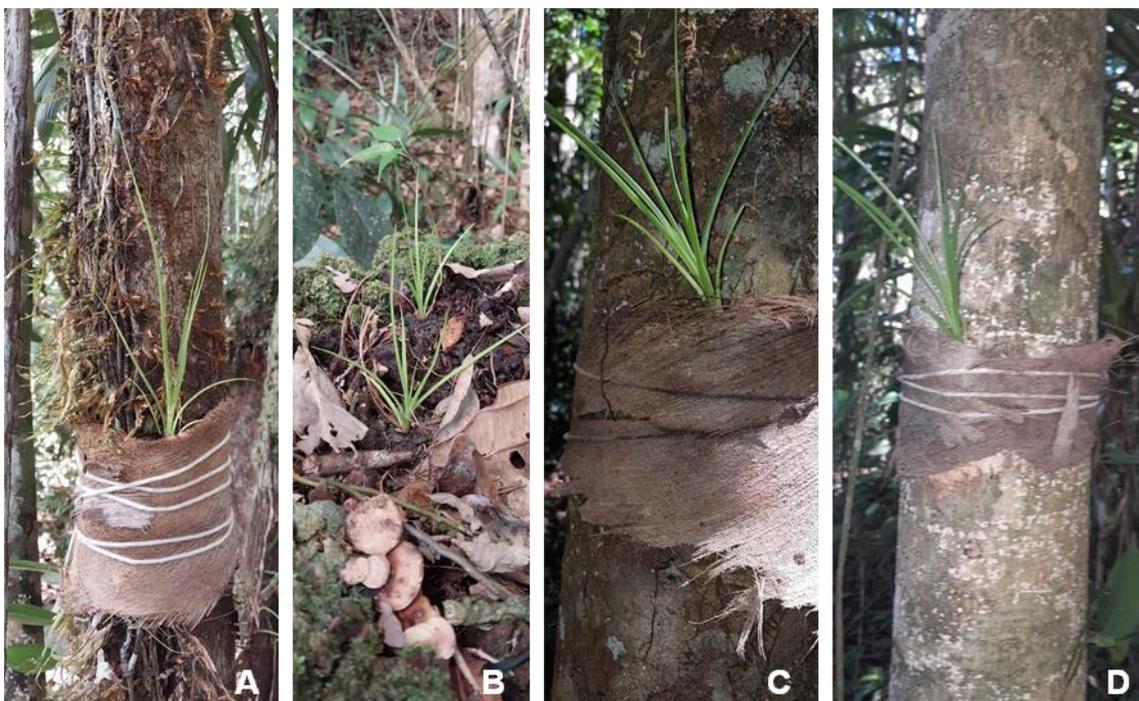
Não existem dados, nem registros de reintrodução de espécies de Bromeliaceae a partir de plantas micropropagadas, como as que foram utilizadas neste trabalho, mas existem registros de transplante de mudas para ambiente natural.

Domene (2018) avaliou o transplante artificial de espécies epífitas, principalmente o efeito da idade de plantio, do local de transplante, do tamanho das mudas e das espécies hospedeiras utilizadas. Tanto o local de fixação quanto o tamanho das mudas não interferiram na sobrevivência e no desenvolvimento das espécies epífitas transplantadas. De acordo com o estudo, o transplante de espécies epífitas para florestas jovens ou maduras é uma estratégia viável para superar as limitações naturais de recolonização que estas florestas apresentam.

Melo et al., (2016) avaliaram o transplante artificial de 66 plantas do gênero *Hohenbergia* em fragmentos da Mata Atlântica, na Baía de Aratu em Salvador. Após o monitoramento por três anos das plantas, os autores concluem que o transplante teve êxito e recomendam a técnica, como forma de minimizar a erosão nos ambientes fragmentados. Em outro estudo de transplante de Bromeliaceae, em uma zona de floresta tropical no sul da Costa Rica foram introduzidas 60 plantas da espécie *Werauhia gladioliflora* e a sobrevivência dos transplantes após

nove meses variou entre os locais, de 65 a 95% (Fernandez Barrancos et al., 2017).

Neste trabalho, foram transplantadas/ reintroduzidas 25 plantas de *Aechmea conifera* e monitoradas por oito meses (abril 2023 a novembro 2023) no PESC. O crescimento muito lento das plantas pode ter várias causas, desde a forma como foi fixada, a origem da muda (micropropagada) e/ou a adaptação da planta ao ambiente natural. Não existem referências para esse tipo de muda em ambiente natural, mas a aclimatização de mudas *in vitro* de Bromeliaceae, incluindo o abacaxi é muito lenta e largamente registrada na literatura (Figura 4).



**Figura 4.** Plantas fixadas em área de ambiente natural no Parque Estadual da Serra do Conduru, Uruçuca, Bahia sobre árvores com fibra de coco (A), sobre tocos (B) e após oito meses de monitoramento (C e D).

Atualmente estão em casa de vegetação 130 plantas de *Aechmea conifera*, 109 plantas de *Lymania languida* para novas inserções no Parque Estadual Serra do Conduru – PESC, Serra Grande, Bahia e 112 de *Aechmea perforata* para reintrodução no Parque Nacional de Boa Nova, Boa Nova, Bahia. Com altura média de 15 cm, com aproximadamente 6 meses de aclimatação.

## CONCLUSÃO

A temperatura na sala de conservação a 18 °C e ½ MS são eficientes para reduzir o crescimento das plantas in vitro das espécies *A. conifera*, *A. perforata* e *L. languida*;

Essas condições para a conservação in vitro dessas espécies demandam menos manuseio, um maior intervalo entre subcultivos e menos probabilidades de variações somaclonais;

A reintrodução das plantas de *A. conifera* mostra-se eficiente, com um pegamento de 100% das plantas introduzidas.

## REFERÊNCIAS

CHAUHAN, R.; SINGH, V.; QURAIISHI, A. In vitro conservation through slow-growth storage. **Synthetic Seeds: Germplasm Regeneration, Preservation and Prospects**, Cham, p. 397-416, 2019.

DOMENE, F. Reintroduction of vascular epiphytes in forest restoration plantations. 2018. 67 f. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Programa de Pós-Graduação Recursos Florestais, **Universidade de São Paulo**, 2018.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. **In Vitro Cellular Developmental Biology - Plant**, New York, v. 45, p. 5-16. 2011.

FERNANDEZ BARRANCOS, E. P.; REID, J. L.; ARONSON, J. Tank bromeliad transplants as an enrichment strategy in southern Costa Rica. **Restoration Ecology**, Malden, v. 25, n. 4, p. 569-576, 2017.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Lymania* R.W. Read. **REFLORA**. 2020. (continuamente atualizado). Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 12 jul 2023.

FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; LEME, E. M. C.; VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L.; LOUZADA, R. B.; MONTEIRO, R. F.; JUDICE, D. M.; FERNANDEZ, E. P.; BORGES, R. A. X.; PENEDO, T. S. A.; MONTEIRO, N. P.; MORAES, M. A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 315-397, 2013.

FRANÇA, R. R. N.; SOUZA, F. V. D.; MOURA, H. C. P.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, E. H. Germinação e conservação de sementes de Bromelioideae (Bromeliaceae) com potencial ornamental. **Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos**, V simpósio. Mossoró – RN, p. 113, 2021.

FREITAS, L. C. M. A. S. **Conservação in vitro de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em diferentes temperaturas e concentrações de nitrato de prata**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, **Universidade Federal do Recôncavo da Bahia**. Cruz das Almas, 2018.

GOUDA, E. J.; BUTCHER, D. DIJKGRAAF, L. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5. **University Botanic Gardens**, (continuamente atualizado). <http://bromeliad.nl/encyclopedia/>. 2023.

LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; RAMALHO NETO, C. E.; ALBUQUERQUE, M. M. Conservação in vitro de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, 2002.

LIMA, A. P. P. S.; BASTOS, F. D. J. O.; LIMABRITO, A.; FERNANDES, G. B.; SANTANA, J. R. F. D. Modulation of culture medium on the ex situ conservation of *Neoregelia mucugensis* Leme (Bromeliaceae). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 34, p. 763-771, 2021.

MAX, D. A. S. **Conservação In Vitro de Bromélias em condições de crescimento lento**. 2019. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso II, (Bacharelado em Biologia) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas BA, 2019.

MELO, T. D. S.; BENATI, K. R.; PERES, M. C.; TINÔCO, M. S.; DE ANDRADE, A. R.; ALVES, M. D. Bromeliad translocation in Atlantic Forest fragments, Brazil. **Conservation Evidence**, Reino Unido, v. 13, p. 88-92, 2016.

MOTA, S.; FARO, I. A. M.; CAVALCANTE, B. P.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S., CARVALHO COSTA, M. A. P.; SOUZA, E. H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 322, p. 112447, 2023.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, New York, v. 15 n. 3, p.473-497. 1962.

OLIVEIRA, R. S.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, S. O.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, E. H. Cryopreservation and low-temperature storage of seeds of *Tillandsia* species (Bromeliaceae) with ornamental potential. **3 Biotech**, Heidelberg, v. 11, n. 4, p. 1-15, 2021.

PACHECO, G.; SIMÃO, M. J.; VIANNA, M. G.; GARCIA, R. O.; VIEIRA, M. L. C.; MANSUR, E. In vitro conservation of *Passiflora* A review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 211, p. 305-311, 2016.

PEDROSO, A. N. V.; LAZARINI, R. A. DE M.; TAMAKI, V.; NIEVOLA, C. C. In vitro culture at low temperature and ex vitro acclimatization of *Vriesea inflata* an ornamental bromeliad. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 407-414, 2010.

R CORE TEAM. **R A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2022.

RAJASEKHARAN, P. E.; SAHIJRAM, L. In vitro conservation of plant germplasm. **Plant biology and biotechnology** New Delhi, v. 2, n. 1, p. 417-443, 2015.

RECH FILHO, A.; VESCO, L. D.; 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**, Dordrecht, v. 14, p. 1799-1808, 2005.

SANTOS, T. C.; ARRIGONI-BLANK, M. D. F.; BLANK, A. F.; MENEZES, M. D. A. In vitro conservation of vetiver accessions, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty (*Poaceae*). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 963-970, 2012.

SILVA, R. L.; FERREIRA, C. F.; DA SILVA LEDO, C. A.; DE SOUZA, E. H.; DA SILVA, P. H.; DE CARVALHO COSTA, M. A. P.; SOUZA, F. V. D. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after 10 years of in vitro conservation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 127, n. 1, p. 123-133, 2016.

SILVA, S. S. S.; SOUZA, E. H.; NEPOMUCENO, C.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C. Micropropagation and in vitro conservation of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), an endemic and endangered species of the Brazilian Atlantic Forest. **Acta scientiarum. Biological sciences**, Maringá, v. 42, p. 1-6, 2020.

SILVA, S. S. S.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V.; MAX, D. A.; ROSSI, M. L.; COSTA, M. A. Post-seminal development and cryopreservation of endemic or endangered bromeliads. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 93, 2021.

SILVA, T. D. S.; WANDERLEY, M. D. G. L.; MELO, J. I. M. D. Flora of Paraíba State, Brazil: *Aechmea* Ruiz e Pav. (Bromeliaceae). **Biota Neotropica**, Paraíba, v. 18, 2018.

SILVEIRA, D. G.; SOUZA, F. V. D.; PELACANI, C. R.; SOUZA, A. D. S.; LEDO, C. A. D. S.; SANTANA, J. R. F. D. Micropropagation and in vitro conservation of *Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez, a fiber producing bromeliad from Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, p. 923-932, 2009.

SIQUEIRA FILHO, J. A.; SANTOS, A. M.; LEME, E. M.; CABRAL, J. S. Atlantic Forest fragments and bromeliads in Pernambuco and Alagoas: distribution, composition, richness, and conservation. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste, biodiversidade, conservação e suas bromélias**. Rio de Janeiro, p. 101-131, 2006.

TERAO, D.; CARVALHO, A. C. P.; BARROSO, T. C. S. F. Flores tropicais. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, p. 225, 2005.

VIZENTIN, É T. B. S.; SOUZA, M. D. A.; SILVA, I. V. Morfologia do fruto, semente e desenvolvimento pós-seminal de *Aechmea angustifolia* Poepp. Endl. (Bromeliaceae). **Magistra**, Cruz das Almas, v. 28, n. 1, p. 110–118, 2017.

## **CAPÍTULO II**

### **MICROPROPAGAÇÃO DE TRÊS ESPÉCIES DE BROMELIACAE OCORRENTES NA BAHIA PARA PRODUÇÃO DE MUDAS<sup>1</sup>**

---

<sup>2</sup>Capítulo a ser ajustado e submetido aos Anais da Academia Brasileira de Ciências.

## MICROPROPAGAÇÃO DE TRÊS ESPÉCIES DE BROMELIACEAE OCORRENTES NA BAHIA PARA PRODUÇÃO DE MUDAS

**RESUMO:** Bromeliaceae, com sua biodiversidade notável e características botânicas singulares, tem relevância no contexto da flora nacional. A família abriga uma vasta gama de espécies, com distintos hábitos, cores e flores exuberantes. Entretanto, muitas espécies têm enfrentado situações de risco de extinção devido ao extrativismo predatório, expansão agrícola e urbana a exemplo da Ferrovia de Integração Oeste Leste – FIOLE, que pode causar alterações em nichos ecológicos causando um desequilíbrio ambiental. Nessa perspectiva, esse estudo teve como objetivo desenvolver um protocolo para a produção in vitro de mudas de três espécies: *Aechmea conifera*, *Aechmea perforata* e *Lymania languida*. Como material de partida foram utilizadas sementes coletadas em populações naturais, que foram desinfestadas e inoculadas em tubos de ensaio contendo 20 mL de meio de cultura com metade da concentração de sais do MS, suplementado com 3% de sacarose e 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®. As sementes foram incubadas em três condições de temperaturas, 25°C em sala de crescimento (in vitro), 30°C em B.O.D. (in vitro) e 32 °C em casa de vegetação. As taxas de germinação das plântulas foram avaliadas ao 20º dia após o cultivo. As plântulas obtidas foram utilizadas como material de partida para o ensaio de micropropagação e cultivadas em frascos, contendo 20 mL do meio de cultura MS suplementado com 3% de sacarose, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 0,01 mg L<sup>-1</sup> de ANA, solidificado com 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®. Foram realizados quatro subcultivos em intervalos de 45 dias. *Aechmea conifera* obteve os melhores resultados de germinação com 94% na sala de crescimento, 85% na B.O.D. e 84% em casa de vegetação. *Aechmea perforata* obteve como melhor resultado de germinação a B.O.D. com 83%, seguido da *Lymania languida* com 79% neste mesmo ambiente. O comportamento das duas espécies de *Aechmea*, ao longo dos subcultivos, foi similar, de acordo com a taxa de crescimento geométrico, mas com diferentes valores no número de brotos por explante. O maior valor (150 brotos por explante) foi obtido para *A. perforata*, seguido por *L. languida* (127 brotos por explante) e *A. conifera* (85 brotos por explante).

**Palavras-chave:** Bromélias, multiplicação in vitro, endemismo.

## MICROPROPAGATION OF THREE BROMELIACEAE SPECIES OCCURRING IN BAHIA FOR SEEDLING PRODUCTION

**ABSTRACT:** Bromeliaceae, with its remarkable biodiversity and unique botanical characteristics, holds significance in the context of the national flora. The family encompasses a wide range of species with distinct habits, colors, and exuberant flowers of various hues. However, many species have faced situations of risk of extinction due to predatory extraction, agricultural and urban expansion. This is exemplified by projects such as the construction of the West-East Integration Railway – FIOLE which can cause changes in ecological niches, leading to an environmental imbalance. From this perspective, this study aimed to develop a protocol for the *in vitro* production of seedlings of three species: *Aechmea conifera*, *Aechmea perforata*, and *Lymania languida*. Seeds collected from natural populations were used as starting material, which were disinfected and inoculated into test tubes containing 20 mL of culture medium with half the concentration of MS salts, supplemented with 3% sucrose and 2.5 g L<sup>-1</sup> of Phytigel®. The seeds were incubated under three temperature conditions: 25°C in a growth room (*in vitro*), 30°C in a B.O.D. incubator (*in vitro*), and 32°C in a greenhouse. Seedling germination rates were evaluated on the 20th day after cultivation. The obtained seedlings were used as starting material for the micropropagation assay and cultivated in flasks containing 20 mL of MS culture medium supplemented with 3% sucrose, 0.5 mg L<sup>-1</sup> of BAP and 0.01 mg L<sup>-1</sup> of NAA, solidified with 2.5 g L<sup>-1</sup> of Phytigel®. Four subcultures were performed at intervals of 45 days. *Aechmea conifera* achieved the best germination results with 94% in the growth room, 85% in the B.O.D., and 84% in the greenhouse. *Aechmea perforata* obtained its best germination result in the B.O.D. with 83%, followed by *Lymania languida* with 79% in the same environment. The behavior of the two *Aechmea* species, throughout the subcultures, was similar, according to the geometric growth rate, but with different values in the number of shoots. The highest value (150 shoots) was obtained for *A. perforata*, followed by *L. languida* (127 shoots) and *A. conifera* (85 shoots).

**Keywords:** Bromeliads, *in vitro* multiplication, endemism.

## INTRODUÇÃO

Bromeliaceae possui 3.764 espécies distribuídas em 82 gêneros (Gouda et al., 2023) que habitam diferentes biomas com uma variedade de hábitos, podendo ser terrestres, rupícolas ou epífitas. Além disso, as Bromeliaceae são conhecidas por produzir sementes geralmente em grandes quantidades (Forzza et al., 2020) caracterizando uma capacidade reprodutiva significativa que contribui para a grande diversidade de bromélias ocorrentes no Brasil. Até o momento, foram catalogadas 1.403 espécies no país, sendo que 85,7% endêmicas (Flora e Funga do Brasil, 2020).

Dentre os gêneros da família, *Aechmea* Ruiz e Pav. é o maior da subfamília Bromelioideae (Gouda et al., 2023) com 183 espécies ocorrentes no Brasil e 154 endêmicas (Faria et al., 2023). Algumas das principais características das espécies são plantas com folhas rosuladas, geralmente serreadas, frutos do tipo baga, sementes numerosas recobertas por mucilagem, pequenas, formato elíptico ou cuneiforme, variando a coloração de verde ao negro, normalmente necessitam do suporte fornecido por árvores para seu desenvolvimento (Luiz-Santos e Wanderley, 2012; Miyamoto, 2013).

Com o objetivo de agrupar as espécies do gênero *Aechmea*, que apresentavam pétalas livres e ovário ínfero sulcado ou alado, o gênero *Lymania* foi criado por Robert W. Read (1984), especificamente do subgênero *Lamprococcus* (Souza e Wendt, 2008). Esse gênero possui 10 espécies e é encontrado principalmente na região da Mata Atlântica, no sul da Bahia (Mota et al., 2023) e devido à sua natureza epífita, essas plantas dependem da sombra para sobreviver (Siqueira Filho e Machado, 2000).

Em termos de características morfológicas, as espécies de *Lymania* possuem roseta lageniforme, atingindo cerca de 25 a 30 cm de altura, e geralmente possuem oito a nove folhas. Os frutos dessas plantas têm formato de baga e suas sépalas variam de agudas a arredondadas (Forzza et al., 2020).

Apesar da grande diversidade dentro da família, várias espécies estão ameaçadas, principalmente, devido ao extrativismo predatório ocasionado pelo valor ornamental para a floricultura e paisagismo (Negrelle et al., 2011; Mota et al., 2023). A exploração dos recursos naturais é influenciada não apenas pelos

benefícios econômicos, mas também pelos efeitos ambientais que podem surgir. Um exemplo disso é a construção da Ferrovia de Integração Oeste-Leste (FIOL), cuja implementação, acarretará alguns impactos adversos no meio ambiente (Oikos, 2009). Nesse contexto, é possível destacar a grande riqueza ecológica ao longo do trajeto da ferrovia, o que têm despertado preocupações entre estudantes e pesquisadores sobre uma possível perda de algumas espécies que estão ameaçadas ou criticamente ameaçadas de extinção.

Assim, a produção de mudas pode ser uma das estratégias para minimizar esse panorama, além de subsidiar a reintrodução dessas espécies nas populações naturais ameaçadas.

A micropropagação de plantas é uma das técnicas de cultura de tecidos que pode proporcionar a produção de plantas em larga escala em um meio adequado e ambiente controlado, de temperatura, fotoperíodo e luminosidade. Já existem protocolos eficientes para algumas espécies de Bromeliaceae (Souza et al., 2013; Santa-Rosa et al., 2013; Lima et al., 2020).

Para espécies de propagação vegetativa, caso de algumas bromélias, inclusive o abacaxizeiro, a micropropagação é ideal para garantir a multiplicação de clones, mantendo a fidelidade genética da matriz usada para a produção das mudas. O mesmo princípio não pode ser aplicado para outras bromeliaceae silvestres, onde a manutenção da variabilidade genética encontrada nas populações naturais precisa ser preservada. Por isso, o material de partida a ser usado para a micropropagação de bromélias silvestres, endêmicas e ameaçadas deve ser oriundo de sementes coletadas em populações naturais, considerando, inclusive uma amostragem espacial dentro da população. Essa estratégia tem especial relevância quando se aborda a conservação *in vitro* dessas espécies (Sasamori et al., 2019; Bertsouklis et al., 2022).

Em vista disso, esse trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo de produção de mudas de *Aechmea conifera*, *A. perforata* e *Lymania languida* por micropropagação, a fim de possibilitar a oferta de mudas para o mercado, mas também para reintrodução dessas espécies em ambiente por onde deverá passar a construção da Ferrovia de Integração Oeste Leste – FIOL.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de frutos maduros foram coletadas em populações naturais de *Aechmea conifera* L.B.Sm. (HURB 29448) e *Lymania languida* Leme (HURB 27855) no Parque Estadual Serra do Conduru, Uruçuca, Bahia e *Aechmea perforata* L.B.Sm. (HURB 28017) no Parque Nacional de Boa nova, Boa Nova, Bahia. As espécies também foram coletadas e harborizadas no Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Bahia. Exemplares vivos foram também coletados e incorporados ao Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélia) do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura e UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO nº: 81949-1 e as atividades realizadas estão devidamente cadastradas no SISGEN.

**Tabela 1.** Locais de coleta das sementes e ocorrência de endemismo das espécies de Bromeliaceae na região da Ferrovia.

<b>Espécies</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Endemismo</b>
<i>Aechmea conifera</i>	Uruçuca - BA	14° 49' 47.94" S 39° 13' 77.77" W	BA, AL
<i>Aechmea perforata</i>	Boa Nova - BA	14° 39' 12.39" S 40° 15' 70.69" W	BA, ES
<i>Lymania languida</i>	Uruçuca - BA	14° 49' 60.34" S 39° 13' 69.73" W	BA (Uruçuca)

### Germinação in vitro

As sementes das três espécies de bromélias, foram desinfestadas em câmara de fluxo laminar com etanol a 70% (v/v) por 5 minutos, seguida por imersão em solução de hipoclorito de sódio com princípio ativo de 2 % em água destilada autoclavada, contendo três gotas de detergente Tween® por 10 minutos.

Em seguida, foram enxaguadas três vezes em água destilada autoclavada e estabelecidas em tubos de ensaio de 25 mm de diâmetro e 150 mm de tamanho, contendo 20 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) com a metade da concentração dos sais, suplementado com 3% de sacarose sem qualquer regulador de crescimento, e 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®, com o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Na sequência, as sementes foram estabelecidas em três diferentes condições de temperatura (25 ± 1 °C, em câmara de crescimento, 30 ± 1 °C em B.O.D. e temperatura de casa de vegetação (aproximadamente 32 ± 2 °C). A emergência do eixo embrionário (1 mm) foi o critério utilizado para considerar o início da germinação (Pereira et al., 2008).

As variáveis calculadas foram a porcentagem de germinação (G): calculada pela fórmula  $G = (N/100) \times 100$ , em que: N = número de sementes germinadas ao final do teste. Índice de Velocidade de Germinação (IVG): calculado pela fórmula  $IVG = \sum (n_i / t_i)$ , em que: n<sub>i</sub> = número de sementes que germinaram no tempo 'i'; t<sub>i</sub> = tempo após instalação do teste. Tempo Médio de Germinação (TMG): calculado pela fórmula  $TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$ , em que: n<sub>i</sub> = número de sementes germinadas por dia; t<sub>i</sub> = tempo de incubação. Todas as variáveis seguiram a regra de Análise de sementes (Brasil, 2009).

Para a germinação em casa de vegetação, as sementes foram introduzidas em bandejas com células de fundo perfurado com substrato Vivatto®. No momento da semeadura, as sementes foram depositadas na superfície do substrato. O experimento foi instalado em temperatura ambiente (aproximadamente 32 ± 2 °C) em casa de vegetação. As avaliações seguiram o mesmo padrão que as germinadas in vitro.

### **Análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 (espécies x ambientes) com quatro repetições, sendo cada repetição composta por 25 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento. As avaliações foram realizadas diariamente durante 20 dias. Os dados de porcentagem de germinação, IVG e TMG foram submetidos à análise de variância

e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas no programa estatístico R Core Team (2022).

### **Micropropagação**

Plântulas das três espécies, oriundas da germinação *in vitro* em sala de crescimento, foram utilizadas como explante de partida para montagem do experimento de microporpagação. As plântulas com aproximadamente 7 cm, foram cortadas na base para retirada das raízes e subcultivadas em frascos com meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 3% de sacarose, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 0,01 mg L<sup>-1</sup> de ANA, solidificado com 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® e previamente autoclavado a 120 °C por 20 minutos. Foram realizados 4 subcultivos em intervalos de 45 dias para obtenção de brotos que foram quantificados em cada subcultivo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três espécies com 26 repetições sendo cada repetição composta por um frasco contendo inicialmente 1 (um) explante. Ao final de cada subcultivo foram coletados os dados de números de brotos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas no programa estatístico R Core Team (2022).

Para o cálculo do potencial propagativo utilizou-se a taxa de crescimento geométrico ( $r$ ), entre dois subcultivos subsequentes, dada pela expressão:

$$TCG = \left( \sqrt[t]{V_f/V_i} - 1 \right) \times 100$$

Onde:  $TCG$  é a taxa de crescimento geométrico;  $V_f$  é o número de plantas no final de cada subcultivo;  $V_i$  é o número de plantas no início de cada subcultivo;  $t$  é o tempo entre os subcultivos, 45 dias.

Para os dados do número médio de brotos foi ajustado um modelo log-linear de Poisson, considerando o número de brotos como variável dependente e os subcultivos como variáveis independentes, para cada espécie estudada.

## RESULTADOS

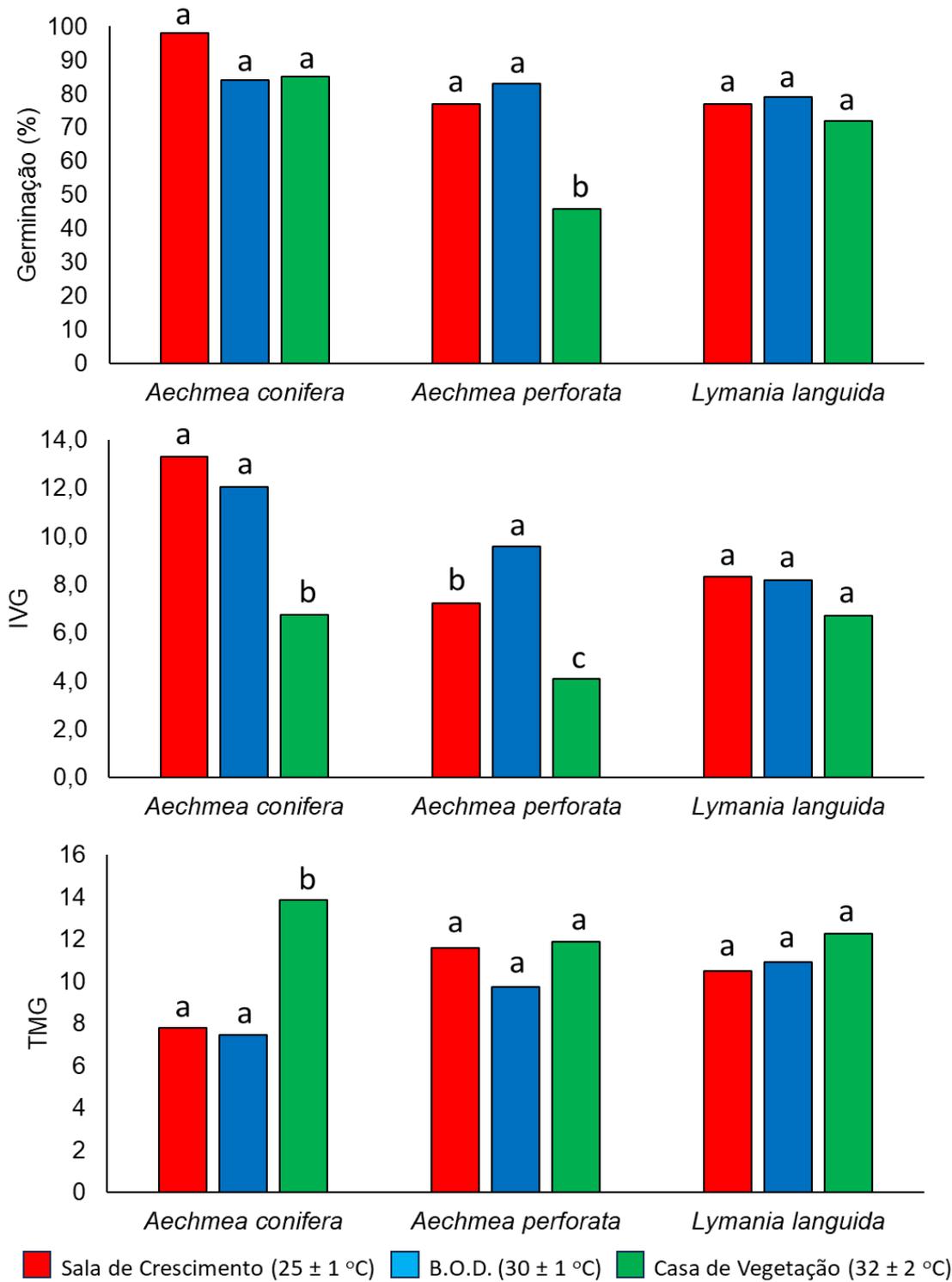
### Germinação

Com base nos resultados houve interação entre os fatores estudados, "espécie" e "ambiente" para todas as variáveis analisadas. Ao considerar os fatores isolados, observou-se que apenas para o tempo médio de germinação no fator "espécie" não houve variação significativa.

Para a porcentagem de germinação os melhores resultados foram obtidos com *A. conifera* que alcançou acima de 84% de germinação nos três ambientes (Figura 1A). *Aechmea perforata* respondeu de forma diferente a depender do ambiente com o melhor resultado em B.O.D com 83%, que por sua vez não diferiu da sala de crescimento com 77% de germinação. Já *Lymania languida* registrou 79% de germinação em B.O.D, mas não apresentou diferença significativa entre os três ambientes (Figura 1A).

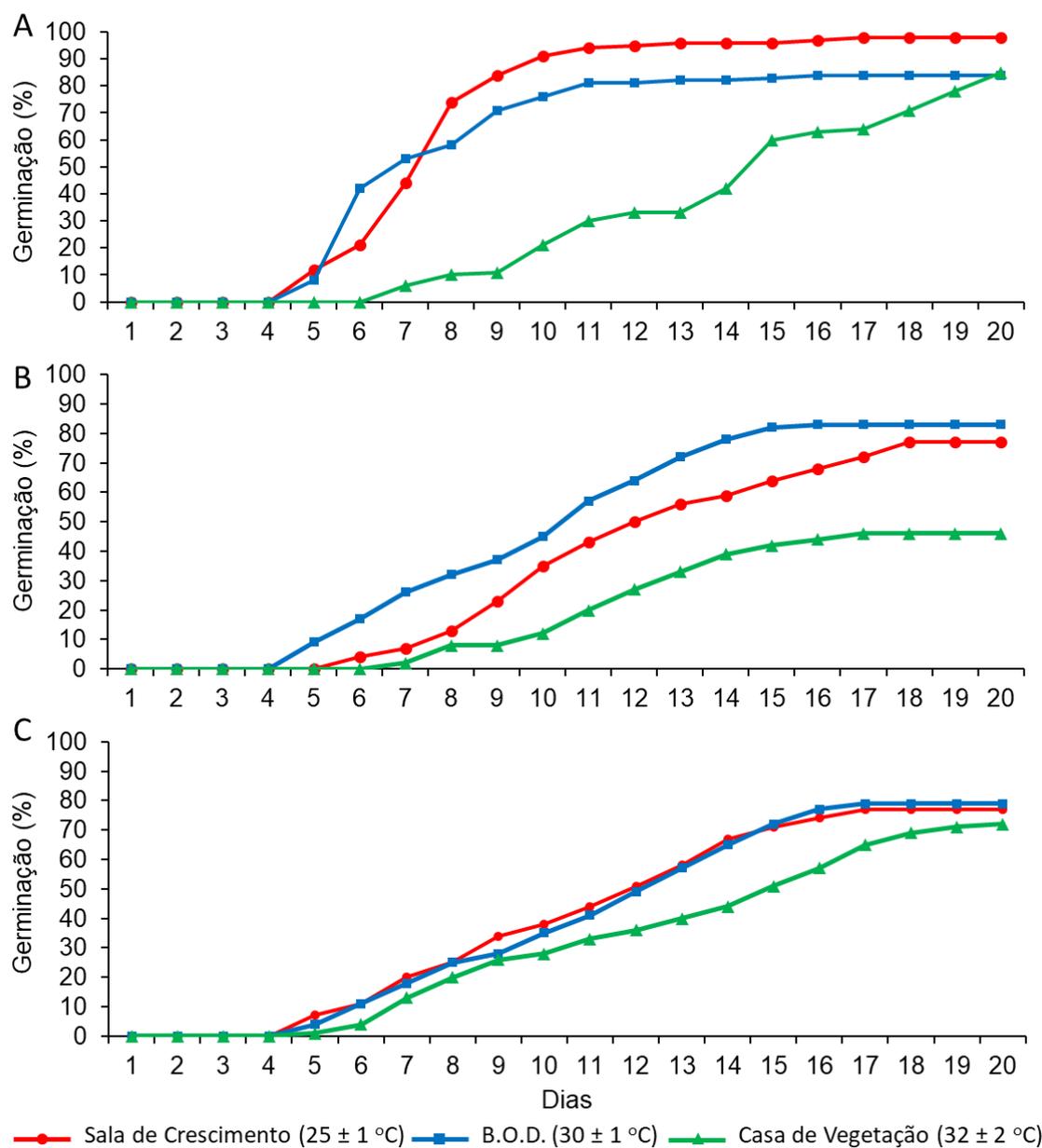
Para o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), *A. conifera* apresentou melhores valores de IVG nas condições de sala de crescimento e B.O.D, em relação a casa de vegetação. Já para *A. perforata* foi registrado maior IVG em BOD seguido da sala de crescimento e a menor velocidade de germinação ocorreu na casa de vegetação. O comportamento de *L. languida* não diferiu estatisticamente nas três condições (Figura 1B).

No que se refere ao tempo médio foi registrada variação entre os três ambientes avaliados. Apenas *A. conifera* apresentou maior tempo médio quando as sementes foram germinadas em casa de vegetação (Figura 1C).



**Figura 1.** Variáveis quantitativas da germinação de sementes de três espécies de Bromeliaceae em função de diferentes ambientes. A) Porcentagem de germinação. B) Índice de velocidade de germinação (IVG). C) Tempo médio de germinação (TMG). Letras minúsculas compara as médias entre as espécies em cada ambiente.

Ao analisar o processo de germinação ao longo do tempo, é possível notar que as sementes submetidas ao ambiente de casa de vegetação exibiram uma menor porcentagem de germinação, ocorrendo também de forma mais tardia, especialmente para as espécies *A. conifera* e *A. perforata* (Figura 2A-B). Por outro lado, o ambiente de sala de crescimento proporcionou uma taxa de germinação de 98% para a espécie *A. conifera* a partir do 17º dia após a semeadura, enquanto na espécie *A. perforata* a maior taxa de germinação ocorreu em B.O.D, com 83% a partir do 16º dia. Em relação à espécie *L. languida*, não foram observadas variações expressivas entre os três ambientes avaliados (Figura 2C).

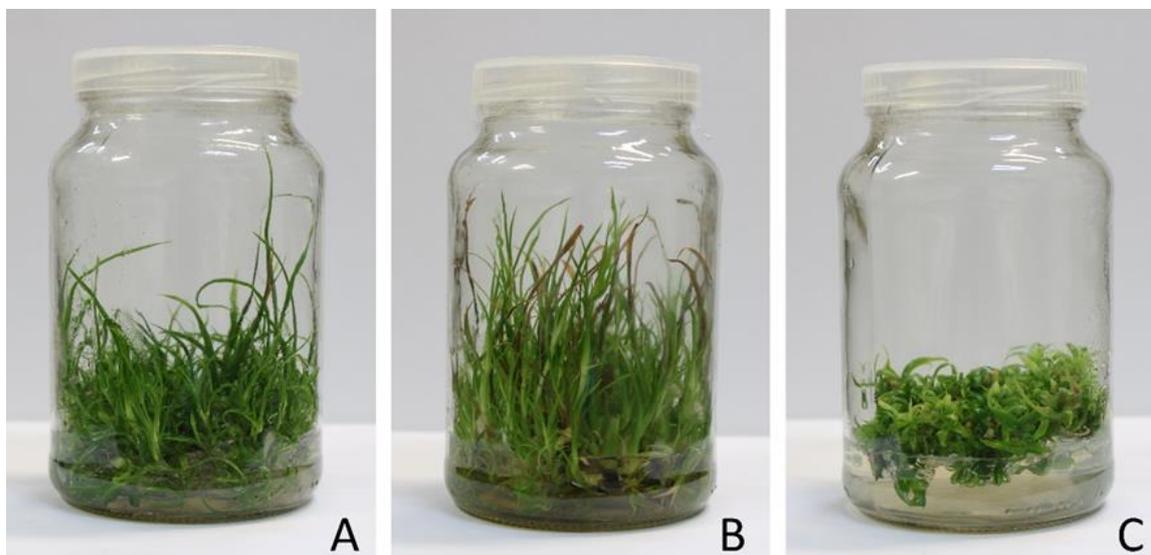


**Figura 2.** Germinação de sementes de três espécies de Bromeliaceae em função do tempo e de diferentes ambientes. A) *Aechmea conifera*. B) *Aechmea perforata*. C) *Lymania languida*.

### Micropropagação

No decorrer dos estudos sobre multiplicação, os valores relacionados à taxa de crescimento geométrico e ao número de brotos por explante produzidos pelas espécies em cada subcultivo estão apresentados na Tabela 2. As três espécies mostraram comportamento similar no que se refere ao aumento do número de brotos por explante à medida que se avança nos subcultivos. *Aechmea*

*conifera* é a espécie menos produtiva com a formação de aproximadamente 85,04 brotos/ explante ao final do 4º subcultivo, seguida de *Lymania languida* com 137,27 brotos/ explante. A espécie mais produtiva foi *Aechmea perforata* com mais de 150 brotos/ explante (Tabela 2, Figura 3).



**Figura 3.** Multiplicação in vitro apresentando grande número de brotos no quarto subcultivo em sala de crescimento. A) *Aechmea conifera*. B) *Aechmea perforata*. C) *Lymania languida*.

Espécies	Número de brotos por explante			
	S1	S2	S3	S4
<i>Aechmea conifera</i>	1,85	6,00	21,08	85,04
<i>Aechmea perforata</i>	4,29	11,77	38,69	152,35
<i>Lymania languida</i>	2,10	11,69	38,00	137,27

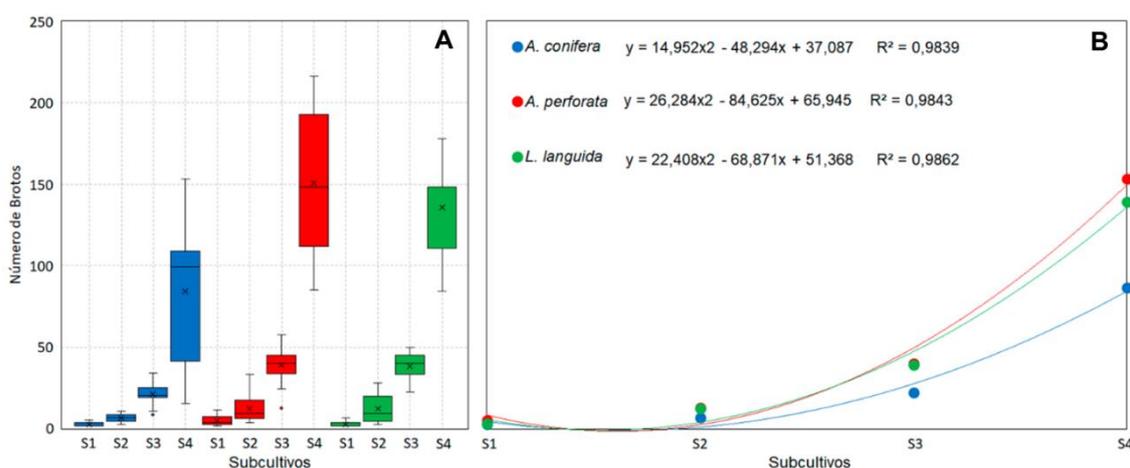
  

Espécies	Taxa de crescimento geométrico		
	S1 - S2	S2-S3	S3-S4
<i>Aechmea conifera</i>	2,65	2,83	3,15
<i>Aechmea perforata</i>	2,27	2,68	3,09
<i>Lymania languida</i>	3,89	2,65	2,90

**Tabela 2.** Número médio de brotos por explante e taxa de crescimento geométrico das três espécies avaliadas em quatro subcultivos (S1, S2, S3 e S4).

As taxas de crescimento geométrico (Tabela 2) mostram um comportamento diferente, para a *Lymania languida*, com uma queda no intervalo entre o segundo e o terceiro subcultivo e uma elevação no intervalo entre o terceiro e o quarto subcultivo.

A variação observada entre as espécies durante os quatro subcultivos pode ser observada na Figura 4A (Box Plot múltiplo), confirmando esse comportamento in vitro em relação as espécies.



**Figura 4.** Boxpot do número de brotos por explante produzidos (A) e estimados pelo modelo polinomial (B) em função de quatro subcultivos em três espécies de Bromeliaceae (*A. conifera*, *A. perforata* e *L. languida*).

Por outro lado, e de forma complementar, a Figura 4B evidencia o modelo polinomial com as curvas ajustadas correspondentes às espécies nos quatro subcultivos. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram acima de 97% mostrando a confiabilidade no ajuste dos dados. Apesar do comportamento similar, de crescimento, à medida que se avança nos subcultivos, para as três espécies, ficam bem evidentes as diferenças na produção de brotos.

## Discussão

A germinação *in vitro* de Bromeliaceae tem sido objeto de estudo e altas porcentagens de germinação têm sido registradas para diferentes espécies (Pulido-Rueda et al., 2018; Pereira et al., 2011). Tarré et al. (2007), avaliaram as espécies *Encholirium reflexum*, *E. magalhaesii*, *E. subsecundum*, *E. scrutor* e *E. Pedicellatum*, *E. heloisae*, *Dyckia sordida* e *D. ursina* e não identificaram diferenças significativas no poder germinativo das sementes quando submetidas às temperaturas variando de 20 a 30 °C com porcentagens superiores a 60 %. De maneira similar, Vieira et al. (2007) conduziram um estudo com a espécie *Dyckia tuberosa* (Vell.) e constataram que essa espécie apresentou êxito na germinação com 93 % ao ser exposta a temperaturas de 20 a 40 °C.

Ao compararmos os resultados desse estudo com o trabalho de Ferreira et al. (2020), observamos que eles utilizaram sementes de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B.Sm. para a propagação *in vitro* em uma sala de crescimento mantida a  $24 \pm 2$  °C, empregando o meio de cultura MS. Nesse estudo, as concentrações de macronutrientes foram variadas em 25 %, 50 % e 100 %, enquanto outros tipos de agentes de suporte foram empregados: ágar, hidrogel, papel de filtro. Os resultados demonstraram que a utilização de 100 % do meio MS e ágar como agente solidificante resultou em um potencial germinativo acima de 60%.

Dias et al. (2021) com *Aechmea aquilega* (Salisb.) Griseb. e *Bromelia balansae* Mez e Garcia et al. (2021) com *Aechmea miniata* (Beer) hort. ex Baker e *A. blanchetiana*, obtiveram porcentagens de germinação acima de 90% utilizando meio de cultura MS em sala de crescimento.

No estudo de germinação *in vitro* de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms, conduzido por Naves (2001), foram realizados testes empregando meio de cultura MS com distintas concentrações de macronutrientes. Neste mesmo trabalho foi realizada uma comparação entre o processo de germinação *in vitro* e o desenvolvimento em ambiente de casa de vegetação. Os resultados obtidos destacaram que as taxas mais favoráveis de germinação se manifestaram nas concentrações compreendidas entre 50% e 75% dos macronutrientes. Ademais, constatou-se que a germinação *in vitro* apresentou níveis superiores de eficácia, contrastando com os resultados observados em casa de vegetação. No contexto *ex vitro*, as avaliações foram iniciadas a partir do quadragésimo dia, uma vez que os pesquisadores argumentaram que, sob as condições da casa de vegetação, o crescimento das plântulas se processa de forma mais lenta.

Resultados consonantes foram observados por Anacleto (2008), que investigou o processo de germinação da espécie *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb. em condições *ex vitro*. O autor observou que as sementes iniciaram o processo de germinação entre o quarto e o oitavo dia após a semeadura, atingindo o pico máximo no vigésimo dia, mediante a utilização de diferentes substratos. No contexto dessa pesquisa, verificou-se que a *Aechmea perforata* apresentou um padrão semelhante, com início do processo germinativo entre o sexto e o oitavo dia, alcançando o ponto máximo aos dezoito dias (Figura 2C).

No estudo voltado à germinação da espécie *Vriesea incurvata* Gaudich., conduzido por Muraro (2014), foram observadas porcentagens reduzidas de germinação em diferentes substratos, distribuídos em vasos localizados sob o dossel florestal. O processo de germinação ocorreu após trinta e seis dias de monitoramento, e o ápice desse processo foi observado após cinquenta dias. Investigações realizadas por Stringheta et al. (2005) também observaram um desenvolvimento gradual das plântulas em espécies do gênero *Tillandsia*, quando submetidas a distintos substratos. Durante um período de trinta dias, não se verificaram disparidades significativas no desenvolvimento e tamanho das plântulas.

Assim, as altas temperaturas, podem causar possíveis danos nas sementes, resultando em efeitos prejudiciais sobre o processo de germinação (Rios et al., 2016). À medida que as temperaturas se elevam, ocorre um

incremento na taxa metabólica (Marcos Filho, 2005). Esse fenômeno aumenta as diferenças nos requisitos de temperatura das sementes da família Bromeliaceae, podendo, assim, afetar os padrões típicos de germinação dessas espécies (Terré et al., 2007).

Contudo, em uma abordagem feita por Rocha et al. (2022) foi conduzido um teste de germinação com quatro substratos (papel Germitest, areia, Plantmax® e vermiculita) em uma câmara de germinação BOD com temperatura constante de 30 °C e fotoperíodo de 12 horas, utilizando iluminação fluorescente com  $32,85 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Como resultado, demonstraram que tanto a germinação quanto o índice de velocidade de germinação das sementes de *Hohenbergia belemii* L.B.Sm. Read e *Neoregelia compacta* (Mez) L.B.Sm. foram influenciados pelos substratos utilizados. O substrato exerce significativa influência nos processos de germinação e no subsequente crescimento das plântulas, desempenhando um papel crucial na retenção de água e nutrientes, na aeração, na estrutura e no grau de infestação por patógenos (Oliveira et al., 2021; Silva et al., 2021).

Divergindo desse enfoque, o estudo realizado por Duarte (2018) abordou a germinação de sementes pertencentes às espécies *Vriesea bituminosa* Wawra, *V. friburgensis* Mez e *Racinaea aeris-incola* (Mez) M.A.Spencer L.B.Sm., sob temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30 e  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , tanto em condições de luz (fotoperíodo de 12 horas) quanto no escuro. Concluiu-se que houve um atraso no processo de germinação quando as sementes foram submetidas a condições de ausência de luz. Marques et al. (2014) alcançaram resultados semelhantes com essas observações para as espécies *Aechmea nudicaulis*, *Dickia saxatilis*, *Racinaea aeris-incola*, *Tillandsia stricta*, *Vriesea friburgensis*.

### **Micropropagação**

A composição do meio de cultivo, o balanço de reguladores de crescimento, o estado fisiológico da matriz doadora do explante, dentre outros fatores, podem afetar as taxas de formação de brotos (Souza et al., 2013). Existem vários registros sobre multiplicação in vitro de Bromeliaceae, Rocha (2010) demonstrou que a concentração de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP resultou em 8,81 brotações por explante após 255 dias de cultivo para multiplicação de *A. bromeliifolia*, *A. distichantha* e *A.*

*multiflora*. No entanto, a elevação para cerca de 6 mg L<sup>-1</sup> comprometeu a morfogênese, sugerindo efeitos fitotóxicos.

De maneira semelhante, Carvalho et al. (2009) obtiveram 3,75 brotos por explante para abacaxi ornamental com 13,32 µM de BAP, enquanto Pasqual et al. (2008) obtiveram em média 21 brotações por explante de *Ananas comosus* var. *erectifolius* utilizando 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Galvanese et al. (2007) constataram que a combinação de 6 mg L<sup>-1</sup> de BAP com 1 mg L<sup>-1</sup> de ANA resultou em 62 brotações por explante para *Aechmea blanchetiana* enquanto Borges et al. (2003) obtiveram 32,6 brotos por explante em *Ananas lucidus* Miller ao utilizar 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ANA. Esses registros deixam evidente a variação da resposta, a depender do gênero, espécie e/ou condições experimentais estabelecidas no número de brotos obtidos.

A busca por concentrações ideais de reguladores de crescimento são fundamentais para o desenvolvimento de brotos saudáveis. No entanto, Silva et al. (2002) reportaram efeito negativo na multiplicação de abacaxizeiro ao utilizar altas concentrações de BAP. Santos et al. (2008) observaram que concentrações de BAP acima de 1,2 mg L<sup>-1</sup> reduziram os brotos de *Ananas comosus* var. *bracteatus* em todos os subcultivos. Esse efeito adverso pode ser atribuído à fitotoxicidade causada pelas altas concentrações de regulador de crescimento, destacando a importância da calibração dos protocolos para cada espécie (Rech Filho et al., 2005). A literatura sugere que concentrações menores de BAP são mais indicadas em Bromeliaceae (Macêdo et al., 2003; Viñas et al., 2012; Ribeiro et al., 2021).

No contexto geral, a concentração de reguladores de crescimento exerce influência direta no sucesso da micropropagação. É válido ressaltar, que concentrações elevadas podem também aumentar a incidência de variação somaclonal, resultando em material heterogêneo inadequado para comercialização (Bairu et al., 2011).

Garcia et al. (2021) observou que para as espécies *Aechmea miniata* e *A. blanchetiana* a utilização da concentração de 1,3 mg L<sup>-1</sup> de BAP resultou não somente no aumento do número de brotos, mas também na manifestação de

características atípicas, como a formação de brotos diminutos desprovidos de raízes ou em quantidades reduzidas, indicando um desenvolvimento limitado.

Com maiores porcentagens de brotações, Rosa et al. (2013), concluíram que menores concentrações de BAP na multiplicação de *A. blanchetiana* e *A. distichantha*, foram suficientes para atender bons resultados. No presente estudo, a concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP demonstrou ser eficaz para a espécie *Aechmea perforata* e *Lymania languida* na produção de mudas em um período de 180 dias, já para *Aechmea conifera* é necessário testar novas concentrações de BAP para obtermos melhores resultados.

## CONCLUSÃO

Para as espécies *Aechmea perforata* e *Lymania languida* de bromélias, o cultivo em B.O.D. resulta em melhores respostas germinativas enquanto para *Aechmea conifera* a sala de crescimento promoveu maior germinação.

A espécie *Aechmea perforata*, tem maior potencial propagativo in vitro quando comparada às espécies *Aechmea conifera* e *Lymania languida*.

Houve aumento no número médio de brotos obtidos ao longo dos subcultivos das espécies estudadas, sendo esse aumento significativo no quarto período de cultivo.

O protocolo utilizado deixa evidente a possibilidade de produção de mudas das três espécies para objetivos de reintrodução em populações naturais ameaçadas.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. R. A.; SOUZA, E. H.; COSTA, E. M. R.; SOUZA, F. V. D. Vegetative propagation strategies in commercial pineapple cultivars. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 36, n. 3, p. 513–523, 2023.
- ANACLETO, A.; NEGRELLE, R. R. B.; KOEHLER, H. S. Germinação de *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb (Bromeliaceae) em diferentes substratos alternativos ao pó de xaxim. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, p. 73-79, 2008.
- BAIRU, M. W.; AREMU, A. O.; VAN STADEN, J. Somaclonal variation in plants causes and detection methods. **Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v. 63, p. 147-173, 2011.
- BERTSOUKLIS, K.; PANAGAKI, K. P. In Vitro germination and propagation of *Dyckia brevifolia*, an ornamental and endangered bromeliad. **Horticulturae**, Basel, v. 8, n. 5, p. 390, 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395 p.
- BORGES, N. S. S.; CORREIA, D.; ROSSETTI, A. G. Influência do meio bifásico na multiplicação de gemas e no alongamento de brotos in vitro de *Ananas lucidus* Miller. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, p. 37-44, 2003.
- CARVALHO, A. C. P. P.; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação in vitro de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 27, n.1, p.103-108, 2009.
- DUARTE, A. A.; LEMOS FILHO, J. P.; MARQUES, A. R. Seed germination of bromeliad species from the campo rupestre: thermal time requirements and response under predicted climate-change scenarios. **Flora**, Amsterdam, v. 238, p.119-128, 2018.
- ENDRES JÚNIOR, D.; SASAMORI, M. H.; SCHMITT, J. L.; DROSTE, A. Survival and development of reintroduced *Cattleya intermedia* plants related to abiotic factors and herbivory at the edge and in the interior of a forest fragment in South Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 32, p. 555-556, 2018.
- FERREIRA, F. D.; DE ANDRADE, S. M. P.; FRANCO, W. C. G.; SOUZA, M. M. Avaliação in vitro de substratos na germinação e no desenvolvimento de

*Aechmea blanchetiana* (backer) I. B.Sm. In: **Floricultura, plantas ornamentais e cultura de tecidos de plantas**. Viçosa – MG, p. 31-43, 2020.

FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; LEME, E. M. C.; VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L.; LOUZADA, R. B.; MONTEIRO, R. F.; JUDICE, D. M.; FERNANDEZ, E. P.; BORGES, R. A. X.; PENEDO, T. S. A.; MONTEIRO, N. P.; MORAES, M. A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 315-397, 2013.

GARCIA, F. R.; NEPOMUCENO, C. F.; ROCHA, M. A. C. D.; BRITO, A. L.; SANTANA, J. R. F. D. Micropropagation of *Aechmea miniata* and *Aechmea blanchetiana*, **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 72, p. 1-10, 2021.

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; DIJKGRAAF, L. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5. Utrecht University Botanic Gardens, online. 2023. (cont. atualizado)

LUIZ-SANTOS, A.; WANDERLEY, M. G. L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Bromeliaceae-Bromelioideae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 89-107, 2012.

LIMA, A. P. P. S.; BRITO, A. L.; SANTANA, J. R. F. Micropropagation of Chapada Diamantina ornamental bromeliad. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 2, e. 20180922, 2020.

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

MARCOS FILHO, J. Deterioração de sementes. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ**, Londrina, v. 12, p. 291-352, 2005.

MARQUES, A. R.; ATMAN, A. P.; SILVEIRA, F. A.; LEMOS-FILHO, J. P. Are seed germination and ecological breadth associated? Testing the regeneration niche hypothesis with bromeliads in a heterogeneous neotropical montane vegetation. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 215, n. 1, p. 517-529, 2014.

MIYAMOTO, S. N. A. **O gênero *Aechmea* Ruiz e Pav. (Bromeliaceae – Bromelioideae) no Estado Paraná, Brasil**. 2013. 122 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) -Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 2013.

MURARO, D.; NEGRELLE, R. R. B. Germinação e sobrevivência de *Vriesea incurvata* Gaudich. sob dossel florestal em diferentes substratos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Curitiba, v. 13, p. 251-258, 2014.

- NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. D. A. Temperature effects on germination of amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, São Carlos, v. 22, n. 1, p. 1-6, 2000.
- NAVES, V. C. **Propagação in vitro de bromélia imperial *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms**. 2001. 76 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2001.
- NEGRELLE, R. R. B.; ANACLETO, A.; MITCHELL, D. Bromeliad ornamental species: conservation issues and challenges related to commercialization. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 34, n. 1, p. 91-100, 2011.
- OLIVEIRA, R. S.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS, I. L.; SOUZA, S. O.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, E. H. Cryopreservation and low-temperature storage of seeds of *Tillandsia* species (Bromeliaceae) with ornamental potential. **3 Biotech**, Heidelberg, v. 11, n. 4, p. 186, 2021.
- OIKOS – 2009, Pesquisa Aplicada LTDA. **Estudo de impacto ambiental (EIA) das obras de implantação da Ferrovia Oeste Leste (EF 334), entre Figueirópolis (TO) e Ilhéus (BA)**. Disponível em: [https://www.ilheus.ba.gov.br/abrir\\_arquivo.aspx/RIMA\\_\(FERROVIA\\_DE\\_INTEGRACAO\\_OESTE-LESTE\)?cdLocal=2&arquivo=%7B8EED021C-A427-1EAC-DB2AB4C6B73BC01E%7D.pdf](https://www.ilheus.ba.gov.br/abrir_arquivo.aspx/RIMA_(FERROVIA_DE_INTEGRACAO_OESTE-LESTE)?cdLocal=2&arquivo=%7B8EED021C-A427-1EAC-DB2AB4C6B73BC01E%7D.pdf). Acesso em: 10 set. 2023.
- PEREIRA, A. R.; PEREIRA, T. S.; RODRIGUES, Â. S.; ANDRADE, A. C. S. D. Seed and post-seminal development morphology on Bromeliaceae species. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 1150-1162, 2008.
- PEREIRA, E., LIMA, A.; NOGUEIRA, E.; COUTO, D.; SOARES, T. C. Germinação in vitro de *Pitcairnia flammea* (Bromeliaceae): efeito do meio de cultivo e do carvão ativo. **Enciclopedia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 13, 2011.
- PULIDO-RUEDA, E. E.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; NEGRELLE, R. *In vitro* germination and growth of *Vriesea incurvata* Gaudich. (Bromeliaceae), **Acta Agron**, Palmira, v. 67, n. 1, p. 140-145, 2018.
- R CORE TEAM. **R A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2022.
- READ, R. W. The 'Evolution' of a new genus, *Lymania* gen. nov. **Journal of the Bromeliad Society**, Florida, v. 34, p. 199-216, 1984.
- RECH FILHO, A.; VESCO, L. D.; 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**, Dordrecht, v. 14, n.1, p.1799–1808. 2005.

RIBEIRO, C. H. M.; CARLOS, R. P.; BONIFÁCIO, T. C.; DE SOUZA, M. M.; DA PAZ, J. I. V.; TAVARES, Q. G.; PONTES, D. S.; DIAS, M. V.; ABRANCHES, M. D. O.; CURI, P. N. Indução in vitro de brotações em explantes de pitaiá vermelha em diferentes concentrações de BAP. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 23, n. 2, p. 80-90, 2021.

RIOS, P. A. F.; ARAÚJO NETO, J. C.; FERREIRA, V.; NEVES, M. I. R. D. S. Seed morphometry and germination of *Aechmea costantinii* (Mez) LB Sm. (Bromeliaceae). **Revista Caatinga**, Rio Largo, v. 29, p. 85-93, 2016.

ROCHA, M. A. C. **Conservação e multiplicação in vitro de espécies de Bromeliaceae ornamentais**. 2010. 99 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010.

ROSA S. S.; SOUZA, F. V. D.; VIDAL, A. M.; LEDO, C. A. S.; SANTANA, J. R. F. Micropropagation of the ornamental vulnerable bromeliads *Aechmea blanchetiana* and *Aechmea distichantha*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 112-118. 2013.

ROCHA, M. A. C.; DE SOUZA, E. H.; SOARES, T. L.; SOUZA, F. V. D.; ALFAYA, M. C. F.; CARVALHO COSTA, M. A. P. Comparative seed germination, morphology and post-seminal development of two Bromeliaceae species with ornamental potential. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 44, p. 1-12, 2022.

SANTOS, M. D. M.; RIBEIRO, D. G.; TORRES, A. C. Brotações adventícias de abacaxizeiro ornamental sob o efeito de benzilaminopurina, ácido naftalenoacético e períodos de subcultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n.9, p.1115-1120, 2008.

SANTA-ROSA, S.; SOUZA, F. V.; VIDAL, Á. M.; LEDO, C. A. DA S.; SANTANA, J. R. Micropropagation of the ornamental vulnerable bromeliads *Aechmea blanchetiana* and *Aechmea distichantha*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 112–118, 2013.

SASAMORI, M. H.; ENDRES-JÚNIOR, D.; DROSTE, A. Conservation of *Vriesea flammea* LB Sm., an endemic Brazilian bromeliad: effects of nutrients and carbon source on plant development. **Brazilian Journal of Biology**, Novo Hamburgo, v. 80, n. 2, p. 437-448, 2019.

SILVA, A. B. O.; PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. R.; MOREIRA, M. A.; DUTRA L. F. Influência da *benzilaminopurina* e do *benomyl* na proliferação in vitro de abacaxizeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v. 26, n. 6, p. 1190-1196, 2002.

SILVA, B. F. B.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, R. S.; LEDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D. Strategies for vegetative propagation and viral cleaning of a miniature

ornamental pineapple hybrid. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 43, 2021.

SILVA, S. S. S.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; MAX, D. S.; ROSSI, M. L.; COSTA, M. A. P. C. Post-seminal development and cryopreservation of endemic or endangered bromeliads. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 1, 2021.

SIQUEIRA FILHO, J. A.; MACHADO, I. C. Fenologia e Biologia floral em *Araecoccus parviflorus* (Mart. ex Schultes f.) Lindl. e *Lymania smithii* R.W. Read, espécies ameaçadas da Floresta Atlântica Nordeste. In: Congresso Brasileiro de Botânica, Brasília, p. 51, 2000.

SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A.; MENEZES, M. C.; SILVEIRA, D. G., SANTOS, V. S. Micropropagação da mandioca. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (ed.). Aspectos práticos da micropropagação de plantas. 2 ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, p. 345-371, 2013.

SOUZA, E. H.; AONA, L.Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Lymania involucrata* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 489, n. 2, p. 209-215, 2021.

SOUZA, E. M. D.; LEDO, C. A. D. S.; SOUZA, E. H. D.; SOUZA, F. V. D. Propagation potential of commercial pineapples and impact of the subculture interval on production planning. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 54, n. 1, e. 20228404, 2023.

STRINGHETA, A. C. O.; SILVA, D. J. H.; CARDOSO, A. A.; FONTES, L. E. F.; BARBOSA, J. G. Germinação de sementes e sobrevivência das plântulas de *Tillandsia geminiflora* Brongn, em diferentes substratos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 165-170, 2005.

TARRÉ, E.; PIRES, B. B. M.; GUIMARÃES, A. P. M.; CARNEIRO, L. A.; FORZZA, R. C.; MASUR, E. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. ex Schult. Schult. f. and *Dyckia* Schult. Schult.f. species (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 777-783, 2007.

TOLEDO-ACEVES, T.; WOLF, J. H. Germination, and establishment of *Tillandsia eizii* (Bromeliaceae) in the canopy of an oak forest in Chiapas, Mexico. **Biotropica**, Washington, v. 40, n. 2, p. 246-250, 2008.

VIEIRA, D. C. M.; SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germinação de sementes de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas em luz e escuro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 2, p.183-188, 2007.

VIÑAS, M.; FERNÁNDEZ-BRENES, M.; AZOFEIFA, A.; JIMÉNEZ, V. M. In vitro propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis*) [FAC Weber] Britton Rose) cv. Cebra. **In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant**, New York, v. 48, p. 469-477, 2012.