



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE



**CARACTERÍSTICAS FITOTÉCNICAS E ANATÔMICAS DE
PLÂNTULAS MICROPROPAGADAS DE
Tillandsia bulbosa HOOK**

MÁRCIA RAQUEL MOURA VASCONCELOS

2016



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE



MÁRCIA RAQUEL MOURA VASCONCELOS

CARACTERÍSTICAS FITOTÉCNICAS E ANATÔMICAS DE PLÂNTULAS
MICROPROPAGADAS DE *Tillandsia bulbosa* HOOK

Dissertação apresentado à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientadora

Prof^a. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank

Co-orientadora

Prof^a. Dra. Maria Aparecida Moreira

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2016

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

V331c Vasconcelos, Márcia Raquel Moura.
Características fitotécnicas e anatômicas de plântulas micropropagadas de *Tillandsia bulbosa* Hook / Márcia Raquel Moura Vasconcelos; orientadora Maria de Fátima Arrigoni-Blank. – São Cristóvão, 2016.
45 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, 2016.

1. Plantas ornamentais. 2. Adubação. 3. Bromeliácea.
I. Arrigoni-Blank, Maria de Fátima, orient. II. Título.

CDU 582.548.11

MÁRCIA RAQUEL MOURA VASCONCELOS

**CARACTERÍSTICAS FITOTÉCNICAS E ANATÔMICAS DE PLÂNTULAS
MICROPROPAGADAS DE *Tillandsia bulbosa* HOOK**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 30 de julho de 20 16.

Profa. Dra. Maria Aparecida Moreira
UFS

Profa. Dra. Ana Catarina Lima de Oliveira
IFS


Profa. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank
UFS/PPGAGRI
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

AGRADECIMENTOS

A Deus...

À minha família...

Aos meus pais Marcos e Cácia, obrigada por acreditarem nos meus sonhos e me ajudarem a vivê-los, sempre acreditando em uma capacidade que nem eu sabia que tinha dentro de mim. Sempre aprendi muito com vocês e se cheguei até aqui, é porque vocês sempre estiveram comigo.

Aos meus irmãos Michele e Moisés, pelo carinho e amizade, pelo apoio, paciência, incentivo e confiança quando mais precisei. Vocês são meu porto-seguro. Obrigada por tudo!!!

À minhas amigas Kátia, Vanessa e Gardênia, obrigada por ouvir meus desabafos, e fazer com que cada dificuldade pareça sempre menor, mais fácil de ser superada. Amo vocês.

Aos meus amigos de Sergipe e Minas. Obrigada por todos os momentos de descontração e energias positivas que sempre renovaram minhas forças para continuar. Sem vocês a vida não teria tanta graça.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank pela oportunidade da realização do mestrado, pela confiança em mim depositada e pela ajuda para a realização deste trabalho.

À minha co-orientadora Dra. Maria Aparecida Moreira, muito obrigada por me ajudar nos experimentos, gráficos, estatística e pela contribuição com seu conhecimento. Meu muito obrigada.

Aos amigos do Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal obrigada pela convivência e alegrias divididas, pelas conversas, novas ideias, empréstimos, risadas e convivência. Em especial Carol, Milena, Thays, Dennis, Andréa, Jefferson, Rosana, Larissa, Karynne, Fran, Matheus e Elton. Obrigada por estarem sempre disponíveis para ajudar. Vocês são demais! Adorei poder fazer parte desta equipe!

À Universidade Federal de Sergipe por possibilitar o desenvolvimento do trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida, possibilitando assim o meu crescimento pessoal e profissional.

Obrigada a todos que de alguma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho. Com certeza, durante esses anos aprendi muita coisa além do que aqui consta. Muita coisa além de resultados e experimentos. Muita coisa que ficará para os outros dias que ainda estão por vir.

Muito obrigada a todos!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1 Botânica	2
2.2 Aclimatização e adubação	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1 Obtenção do material vegetal	6
3.2 Aspectos nutricionais	6
3.2.1 Experimento 1: Alternativas de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de <i>T. bulbosa</i>	6
3.2.2 Experimento 2: Influência da adubação na fase de aclimatização das mudas micropropagadas de <i>T. bulbosa</i>	6
3.3 Análise do substrato	7
3.4 Aspectos anatômicos	7
3.4.1 Anatomia foliar	7
3.4.2 Microscopia eletrônica de varredura	8
3.5 Análises estatísticas	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
4.1 Alternativas de substratos na aclimatização de mudas de <i>T. bulbosa</i> micropropagadas	9
4.2 Influência da adubação na fase de aclimatização das mudas micropropagadas de <i>T. bulbosa</i>	16
5. CONCLUSÕES	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	32

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de <i>T. bulbosa</i> de plântulas cultivadas <i>in vitro</i> (A) e aclimatizadas por 20, 40 e 60 dias (B, C e D respectivamente)	12
2	Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de <i>T. bulbosa</i> de plantas com 60 dias de aclimatização (A-B)	13
3	Microscopia de varredura da superfície adaxial de folhas de <i>T. bulbosa</i> , cultivadas <i>in vitro</i> (A-D)	14
4	Detalhes dos tricomas foliares de <i>Tillandsia bulbosa</i> A-B	14
5	Detalhes dos estômatos em secção transversal (de folhas de <i>T. bulbosa</i> de plantas plântulas cultivadas <i>in vitro</i> (A) e aclimatizadas em casa de vegetação por 20, 40 e 60 dias (B, C e D respectivamente)	15
6	Comprimento de raiz (cm) (A), massa (mg) fresca (B) e seca (C) de raiz e relação entre a massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) (D) de mudas de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização	18
7	Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de <i>T. bulbosa</i> de com 50% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (D) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP	22
8	Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de <i>T. bulbosa</i> com 100% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (D) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP	23
9	Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de <i>T. bulbosa</i> com 200% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (D) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP	24
10	Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de <i>T. bulbosa</i> com 400% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (D) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP	25

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Sobrevivência (%), altura (cm), número de folhas e comprimento da raiz (cm) de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função de diferentes misturas de substratos aos 60 dias de cultivo	9
2	Massa fresca e seca (g) da raiz e da parte aérea de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função de diferentes misturas de substratos aos 60 dias de cultivo	9
3	Área foliar (mm ²), área do feixe vascular (µm ²), espessuras (µm) das epidermes abaxial e adaxial demudas de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do tempo de aclimatização.....	10
4	Espessuras (µm) das cutículas abaxial e adaxial e dos parênquimas aquífero e clorofiliano e do limbo foliar de mudas de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do tempo de aclimatização	11
5	Sobrevivência (%) e altura de planta (cm) demudas de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização	16
6	Número de folhas e massa (mg) fresca e seca da parte aérea demudas de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização	17
7	Área foliar (mm ²) e área do feixe vascular (µm ²) de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização	19
8	Espessuras (µm) das epidermes abaxial e adaxial e das cutículas abaxial e adaxial de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização.....	20
9	Espessuras (µm) dos parênquimas aquífero e clorofiliano e espessura (µm) do limbo foliar de <i>Tillandsia bulbosa</i> em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização	21

RESUMO

VASCONCELOS, Márcia Raquel Moura. **Características fitotécnicas e anatômicas de plântulas micropropagadas de *Tillandsia bulbosa* Hook.** São Cristóvão: UFS, 2016. 35p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

As bromélias são conhecidas mundialmente por seu potencial ornamental. No Brasil as espécies de *Tillandsia* podem ser encontradas na Mata Atlântica, Floresta Amazônica e campos rupestres. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência de misturas de substratos e adubação com nitrogênio, fósforo e potássio em plântulas micropropagadas de *Tillandsia bulbosa*, aliados a análises anatômicas das folhas. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS). O primeiro experimento foi implantado em delineamento inteiramente casualizado, testando cinco misturas de substratos, sendo pó de coco: húmus de minhoca (2:1); pó de coco: húmus de minhoca: areia (1:1:1); pó de coco: húmus de minhoca: areia (2:1:1); pó de coco: húmus de minhoca: areia (2:2:1) e vermiculita: húmus de minhoca (2:1). O segundo experimento foi implantado em delineamento inteiramente casualizado, onde foram usadas ureia, fosfato supersimples e cloreto de potássio como fontes de NPK, respectivamente, testando 50, 100, 200 e 400%, distribuídos nos seguintes tratamentos: aplicação total no plantio; $\frac{1}{2}$ no plantio e $\frac{1}{2}$ aos 80 dias após plantio; $\frac{1}{3}$ no plantio, $\frac{1}{3}$ aos 50 dias após plantio e $\frac{1}{3}$ aos 100 dias após plantio; e $\frac{1}{4}$ no plantio, $\frac{1}{4}$ aos 30 dias após plantio, $\frac{1}{4}$ aos 60 dias após plantio e $\frac{1}{4}$ aos 120 dias após plantio. Foi realizado o estudo anatômico nos dois experimentos de aclimatização, sendo que no primeiro foram coletadas folhas na implantação e a cada 20 dias (0, 20, 40 e 60 dias) e no segundo experimento as folhas foram coletadas aos 180 dias. Os resultados obtidos no primeiro experimento de misturas de substrato mostraram que a *T. bulbosa* respondeu de forma similar às diferentes misturas de substratos testadas, durante a fase de aclimatização. As plantas a partir de 60 dias da aclimatização, apresentam características anatômicas que podem favorecer a adaptação delas às condições de campo. Adubação com 50 e 100% de adubo, a base de nitrogênio, fósforo e potássio, proporcionou os melhores resultados no desenvolvimento das mudas quando aplicadas no plantio, sem haver a necessidade do parcelamento. O aumento das concentrações de adubo influenciou no desenvolvimento e no espessamento celular das folhas.

Palavras-chaves: Bromeliaceae, substratos, adubação e anatomia foliar.

*Comitê Orientador: Maria de Fátima Arrigoni-Blank – UFS (Orientadora), Maria Aparecida Moreira – UFS (Co-orientadora).

ABSTRACT

VASCONCELOS, Márcia Raquel Moura. **Phytotechnical and anatomical characteristics of micropropagated plantlets of *Tillandsia bulbosa* Hook.** São Cristóvão: UFS, 2016. 35p. (Thesis - Master of Science in Agriculture and Biodiversity).*

Bromeliads are known worldwide for its ornamental potential. In Brazil the species of *Tillandsia* can be found in the Atlantic Forest, Amazon Forest and rock grassfields. The aim of this study was to investigate the influence of substrate mixtures and fertilization with nitrogen, phosphorus and potassium in micropropagated plantlets of *Tillandsia bulbosa*, allied with anatomical analyzes of the leaves. The experiments were conducted in the Laboratory of Tissue Culture and Plant Breeding of the Department of Agricultural Engineering (DEA), Federal University of Sergipe (UFS). The first experiment was carried out in a completely randomized design, testing five substrate mixtures, being coconut coir: earthworm castings (2:1); coconut coir: earthworm castings: sand (1:1:1); coconut coir: earthworm castings: sand (2:1:1); coconut coir: earthworm castings: sand (2:2:1); and vermiculite: earthworm castings (2:1). The second experiment was carried out in a completely randomized design, where we used urea, simple superphosphate phosphate and potassium chloride as NPK sources, respectively, testing 50, 100, 200 and 400%, distributed in the following treatments: full application at planting; $\frac{1}{2}$ at planting and $\frac{1}{2}$ at 80 days after planting; $\frac{1}{3}$ at planting, $\frac{1}{3}$ at 50 days after planting and $\frac{1}{3}$ at 100 days after planting; and $\frac{1}{4}$ at planting, $\frac{1}{4}$ at 30 days after planting, $\frac{1}{4}$ at 60 days after planting and $\frac{1}{4}$ at 120 days after planting. We performed an anatomical study in both acclimatization experiments, and the first leaves were collected in the implementation and every 20 days (0, 20, 40, and 60 days) and in the second experiment, leaves were collected at 180 days. We performed an anatomical study in both acclimatization experiments, and in the first assay leaves were collected at the implantation and at every 20 days (0, 20, 40 and 60 days), and in the second experiment, leaves were collected at 180 days. The results of the first experiment showed that the substrate *bulbosa* T. responded similarly to the different substrate mixtures used in the acclimatization phase. The results obtained in the first experiment of substrate mixtures showed that *T. bulbosa* responded similarly to the different tested substrate mixtures, during the acclimatization phase. Plants from 60 days of acclimatization, show anatomical features that can facilitate adaptation to field conditions. Fertilization with 50 and 100% of fertilizer, based on nitrogen, phosphorus and potassium, provided the best results in the development of plantlets when applied at planting, without the need of installment. The increase in fertilizer concentrations influenced the development and thickening of cell leaves.

* Advising Committee: Maria de Fátima Arrigoni-Blank – UFS (Advisor), Maria Aparecida Moreira – UFS (Co-Advisor).

1. INTRODUÇÃO

As espécies da família Bromeliaceae são conhecidas mundialmente por seu grande potencial ornamental, pela importância biológica, por serem bioindicadoras de ambientes e servirem de habitat para pequenos grupos de animais, principalmente os anfíbios. Constitui uma das mais amplas famílias de plantas no Brasil com 3.172 espécies subordinadas a 58 gêneros e podem ser encontradas na Mata Atlântica, Floresta Amazônica e Campos Rupestres (MARTINELLI et al., 2008; RIBEIRO et al., 2009). O arranjo das folhas em muitas plantas desta família forma um bulbo, no qual se acumulam água e detritos que contribuem para a nutrição dessas plantas (BENZING, 2000).

As bromélias são plantas de amplo potencial ornamental, devido as suas inflorescências vistosas, e por isso estão sendo exploradas comercialmente de forma indiscriminada, o que tem causado o desaparecimento de várias espécies, principalmente da Mata Atlântica. Face ao problema, nas últimas décadas a cultura *in vitro* tem sido uma alternativa para a produção em larga escala, visando propagar, proteger e conservar principalmente as espécies nativas (MARTINS et al., 2015).

São necessários avanços no conhecimento da biologia de bromeliáceas para conhecer e compreender algumas características morfo-anatômicas e fisiológica das plantas antes de procedimentos como a aclimatização e adubação, para o melhor aproveitamento dessas espécies, tanto para fins ornamentais como para a conservação (SANTOS et al., 2015).

Caracterizar a morfologia e anatomia das folhas colabora na descrição taxonômica das plantas, além da compreensão de estratégias adaptativas. Comparar as características de folhas de plantas provenientes da propagação *in vitro* e de plantas cultivadas em casa de vegetação podem auxiliar no ajuste e no aprimoramento de protocolos de propagação das mesmas, bem como proporcionam informações sobre a plasticidade fenotípica das plantas (SANTOS et al., 2015).

No período de aclimatização, se faz necessário a utilização de substratos adequados conforme a espécie e também, quando necessário, o uso de adubos. Os nutrientes mais utilizados no processo de adubação química são fósforo, nitrogênio e potássio, que devem ser aplicados em condições ajustadas às requisições de cada cultivo e a metodologia de adubação empregada (LONE et al., 2010).

Tendo em vista esse contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência de misturas de substratos e adubação com nitrogênio, fósforo e potássio em plântulas micropropagadas de *Tillandsia bulbosa*, aliados a análises anatômicas das folhas.

REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Botânica

A família Bromeliaceae é encontrada em ambientes terrestres, rupícola, epífitas e saxícolas (MARTINS et al., 2015). É uma família tipicamente, neotropical, apresentando 31 gêneros em mais de 2.000 espécies distribuídas em três subfamílias: Pitcairnioideae, Bromelioideae e Tillandsioideae, que são separadas de acordo com as características das flores, morfologia dos frutos e sementes (PITTA e MENEZES, 2002). Vários estudos filogenéticos e morfológicos comprovam que esta é uma família monofilética (BARFUSS et al., 2005).

A família é reconhecida por sua importância ecológica, devido ao fato de no interior de sua roseta, resultante da presença de bainhas foliares imbricadas, formar-se um micro ecossistema, chamado fitotelmata, composto pelo acúmulo de água e matéria orgânica associada a organismos aquáticos (FIORATO, 2009). A superfície foliar é recoberta por tricomas especializados, as escamas foliares, típicas da família e que desempenham um importante papel ecológico e fisiológico, responsável por adaptações que permitem a sua ocorrência em diferentes habitats (BENZING, 2000).

A subfamília *Tillandsioideae* é um grupo monofilético, sendo a maior subfamília com, aproximadamente, 1100 espécies distribuídas em nove gêneros: *Alcantarea* (16 spp.), *Catopsis* (21 spp.), *Pitcairnia* (2 spp.), *Guzmania* (176 spp.), *Mezobromelia* (9 spp.), *Racinaea* (56 spp.), *Tillandsia* (551 spp.), *Vriesea* (188 spp.) e *Werauhia* (73 spp.) (BARFUSS et al., 2005; CHEW et al., 2010).

O gênero *Tillandsia* inclui cerca de 550 espécies de arquitetura altamente variável, com indivíduos variando de 1m de altura a pequenos epífitos de cerca de 3 cm de altura (TILL, 2000). As espécies são encontradas em toda área de distribuição de *Bromeliaceae* sendo responsável pela grande amplitude geográfica desta família (BENZING, 2000).

Esse gênero possui plantas que são altamente adaptadas a suportar o estresse hídrico, quando adultas, pois nessa fase do ciclo evolutivo, possuem reservatório de água, o mesmo não ocorre em espécies jovens (BADER et al., 2009).

Outra adaptação da família Bromeliaceae é o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) (CRAYN et al., 2004). O CAM é uma adaptação fotossintética que surgiu, independentemente, várias vezes na evolução das plantas vasculares, possivelmente por meio da reorganização de vias metabólicas já existentes em plantas C3 (WEST-EBERHARD et al., 2011). Assim como a fotossíntese C4, o CAM é considerado um mecanismo de concentração de gás carbônico (CO₂) em torno do sítio ativo da enzima ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) presente nas plantas vasculares (KEELEY e RUNDEL, 2003).

Devido ao comportamento estomático, as plantas CAM são dotadas de uma melhor eficiência no uso da água em comparação com as plantas de fotossíntese C3 e C4, permitindo-as colonizar com sucesso ambientes xeromórficos e epífitos (LÜTTGE, 2004; LÜTTGE, 2011).

A subfamília Tillandsioideae, assim como a família Bromeliaceae, provavelmente teve origem a partir de espécies ancestrais que realizavam a fotossíntese C3. O CAM surgiu posteriormente e é possível que esteja relacionado à evolução de espécies mais xerófitas, como, por exemplo, as que apresentam a forma atmosférica (CRAYN et al., 2004, GIVINISH et al., 2011).

As espécies de *Tillandsia* são muito utilizadas na ornamentação por possuir belas flores. Um exemplo é a *T. velutina*, cuja popularidade é devido à coloração rosa ou vermelho que se desenvolve no centro da roseta. Encontradas em toda América Latina, são plantas bioindicadoras de ambientes devido à grande quantidade de tricomas presentes em suas folhas que além de adquirirem os nutrientes do ar, são capazes de absorver metais pesados

encontrados na atmosfera, sendo assim consideradas fitorreguladores de ambientes (LI et al., 2015).

A *Tillandsia bulbosa* é uma espécie epífita que possui corpo ligeiramente alongado, com altura entre 10-23cm; caule pouco alongado em forma de bulbo. Folhas rosuladas, polísticas, recurvas; bainha suborbicular, muito distinta da lâmina; lâmina linear-filiforme, subereta a patente, retorcida, verde a acinzentadas, ápice acuminado-subulado. Escapo ereto ou recurvo, ultrapassando a roseta e brácteas vermelhas. A inflorescência é simples ou com ramificações, raque visível e flores dísticas. Possui brácteas florais avermelhadas, excedendo as sépalas, estreitamente ovais, ápice agudo, eretas, ligeiramente encurvadas no ápice. As sépalas são vermelhas, oblongas, lepidotas. As pétalas são azuis ou violeta, lineares, ápice agudo; estames livres, exsertos, mais longos que o gineceu, filetes retos, complanados, ligeiramente dilatados em direção ao ápice, anteras basifixas; ovário ovóide, estilete mais longo que as pétalas (FIORATO, 2009).

2.2. Aclimatização e adubação

As exigências do mercado, cada vez mais competitivo, acentuam a necessidade de se desenvolverem técnicas cada vez mais adequadas ao cultivo de bromélias (AMARAL et al., 2009). Para produção comercial de mudas micropropagadas, precisa-se aprimorar e/ou adequar técnicas de cultivos durante a fase de aclimatização, visando aumentar a eficiência e diminuir custos, além da necessidade de aprimoramento de substratos, recipientes e nutrição (BREGONCI et al., 2008).

Com a finalidade de promover essa adaptação, alguns estudos têm sido desenvolvidos, como o uso de diferentes substratos (MOREIRA et al., 2007; FREITAS et al., 2011), diferentes tempos de aclimatização (BERILLI et al., 2011) e adubos (BREGONCI et al., 2008).

As maiores demandas na produção de mudas ornamentais resultaram em estudos e pesquisas envolvendo desde o desenvolvimento de vasos e recipientes a substratos e técnicas de propagação eficientes para o desenvolvimento eficaz dessas plantas (AMARAL et al., 2010). A escolha de um substrato adequado far-se-á necessário principalmente para as plantas cultivadas em vaso, como também um prévio conhecimento das características químicas e físicas dos substratos a serem utilizados. Além disso, o substrato deve ser capaz de reter água sem comprometer o oxigênio as plantas (LUDWIG et al., 2014).

O pó de coco é um excelente material orgânico utilizado como componente nas misturas de substratos devido as suas propriedades de retenção de água, aeração do meio de cultivo e estimulador do enraizamento (OLIVEIRA e HERNANDEZ, 2008).

A vermiculita também é bastante utilizada na composição de substratos porque atua na melhoria das condições físicas do solo como boa retenção de umidade, alta porosidade e baixa densidade, o que muitas vezes proporciona maior facilidade para a plântula emergir, além de participar da absorção de fósforo e nitrogênio do solo (DINIZ et al., 2006).

O húmus de minhoca é um componente muito utilizado em preparo de substratos, e por apresentar microporosidade elevada, está sempre associado a um ou mais elementos, como por exemplo, a areia, o pó de coco e a vermiculita (OLIVEIRA et al., 2012).

O substrato pode ser composto por um único componente, mais dificilmente, será encontrado um que se adeque as todas as necessidades nutricionais para um ótimo desenvolvimento da planta. Por esse motivo, os substratos são compostos de uma mistura de dois ou mais material. Porém, o substrato pode mesmo assim não suprir todas as necessidades nutricionais das plantas, sendo assim necessário uma fertilização complementar através de adubos químicos (NOMURA et al., 2008).

A adubação química em bromeliáceas vem sendo bastante utilizada, sendo o abacaxi a espécie mais estudada (AMARAL et al., 2009). A adubação pode ser realizada através da aplicação foliar ou radicular, ou em ambos, mas é necessário ter conhecimento dos ciclos

biológicos da planta. Os nutrientes mais utilizados no processo de adubação química são o nitrogênio, o fósforo e o potássio (NPK), que devem ser aplicados em condições ajustadas às requisições de cada cultivo e a metodologia de adubação empregada (LONE et al., 2010). Nas plantas cultivadas em vaso é imprescindível a adubação quando se deseja obter um ótimo crescimento e desenvolvimento das mudas (AMARAL et al., 2009).

O estabelecimento das proporções ideais de NPK para cada gênero e/ou espécie de bromélias, faz-se necessário, porque as plantas de alguns gêneros, como, por exemplo, *Neoregelia* e *Billbergia*, quando adubadas com formulações ricas em nitrogênio, podem perder o colorido das folhas (PAULA, 2000).

Em bromélias, à medida que as plantas alcançam pleno desenvolvimento vegetativo, começam a responder melhor à adubação com ureia, de forma linear crescente, por ser o nitrogênio o principal elemento promotor de desenvolvimento vegetativo (FERREIRA et al., 2007). Em abacaxizeiros, a adubação nitrogenada é um dos aspectos mais relevantes para seu desenvolvimento, possibilitando incremento no crescimento de mudas como foi verificado por Freitas et al. (2012).

As bromélias absorvem nutrientes de acordo com o seu hábito. Espécies terrestres adquirem os nutrientes através absorção pelas raízes em contato com o solo; as epífitas absorvem os nutrientes da água da chuva e de partículas provenientes da atmosfera pelos tricomas, um anexo epidérmico localizado na base das folhas (LEME e MARIGO, 1993).

O estudo da anatomia vegetal vem além de entender a distribuição e organização dos principais tecidos no corpo do vegetal, também pode ser utilizada para visualizar a ocorrência de plasticidade nas folhas, ou seja, reorganização celular, já que essas modificações ocorrem para ajustar o desempenho da planta em resposta a diferentes condições ambientais (RIBEIRO et al., 2012; SANTOS et al., 2013).

As alterações morfofisiológicas e bioquímicas podem provocar a plasticidade das plantas, modificando as características estruturais, bem como os tecidos de plantas (especialmente nas folhas), como o mesofilo, espessuras da parede celular, distância entre feixes vasculares, espessura da superfície da epiderme abaxial e adaxial, número de feixes vasculares e densidade estomática (SANTOS et al., 2013).

As folhas do gênero *Tillandsia*, geralmente apresentam escamas (tricomas), nos sulcos longitudinais, revestindo as duas epidermes, onde se distribuem em fileiras, nas duas superfícies foliares. Na maioria das espécies do gênero, as escamas se dispõem ao acaso por toda a superfície da folha e em fileiras longitudinais, na superfície abaxial. O disco celular é formado por quatro células centrais, circundadas por dois anéis celulares, sendo o interno constituído por oito células e denominado pericentral, e o externo formado por 16 células e chamado subperiférico (PROENÇA e SAJO, 2007).

Com relação aos estômatos, estes podem se distribuir em sulcos ao longo das folhas, como em *Bromelia balansae*, *Billbergia portiana*, *Ananas ananassoides*, *Billbergia distachia* e *Acanthostachys strobilacea* ou se dispõem em fileiras longitudinais, como em *Vriesea* sp. e *T. pohliana*. Em *Vriesea* sp., os estômatos estão posicionados no mesmo nível das demais células da epiderme e podem estar posicionados acima das demais células epidérmicas como em *D. tuberosa* (PROENÇA e SAJO, 2007).

As condições ambientais como água e luz, podem influenciar a anatomia foliar nos primeiros estádios de desenvolvimento até a fase adulta, modificando a sua morfologia, anatomia e fisiologia (CASTRO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012).

Outros fatores, como a nutrição mineral podem influenciar a composição e organização estrutural, ou seja, quando a planta recebe ou deixa de receber macro e/ou micronutrientes, evidenciam-se modificações em sua estrutura anatômica que podem alterar a espessura de tecidos e os conteúdos de pigmentos (MARCHNER, 1995).

Os estudos anatômicos que visam analisar os efeitos dos nutrientes na anatomia são importantes, visto que a anatomia da planta pode influenciar na translocação de nutrientes (ROSELEM e LEITE, 2007).

Escamas de folhas de *T. paulifolia*, foram estudadas para verificar absorção ativa de aminoácidos. Observou-se que as células vivas do pedículo da escama são capazes de absorver aminoácidos livres, como leucina, lisina, arginina e asparagina presentes na superfície foliar (NYMAN et al., 1987).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção do material vegetal

As plântulas de *T. bulbosa* foram obtidas a partir do cultivo *in vitro* de sementes em meio de cultura contendo sais do meio MS (MURASHIGUE e SKOOG, 1962), suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, solidificado com 7 g.L⁻¹ de ágar, 1 g.L⁻¹ de carvão ativado e pH ajustado para 5,8 ± 0,1 e autoclavado (120 °C e 1,05 atm) por 15 minutos. A cultura foi mantida em sala de crescimento com temperatura controlada (25 ± 2 °C) sob fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de 60 µmol m⁻².s⁻¹. As plântulas germinadas *in vitro* foram utilizadas para implantação dos experimentos dos itens 3.2 e 3.3.

3.2. Aspectos nutricionais

Com o objetivo de determinar a melhor composição de substrato e a adubação com NPK para mudas de *Tillandsia bulbosa* Hook, foram realizados dois experimentos.

Os trabalhos foram conduzidos em estufa agrícola com 50% de sombreamento, com irrigação e nebulização intermitente, localizada no Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA), da Universidade Federal de Sergipe-UFS.

3.2.1. Experimento 1: Alternativas de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de *T. bulbosa*

Plântulas oriundas do cultivo *in vitro*, com altura em torno de 5 cm e massa fresca de 630 mg, foram utilizadas, procedendo-se a lavagem em água corrente para eliminação do meio de cultura aderido as raízes e transplantadas para bandejas de poliestireno contendo os diferentes substratos.

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições e seis plantas por repetição. Foram testadas cinco misturas de substratos, sendo pó de coco: húmus de minhoca (2:1); pó de coco: húmus de minhoca: areia (1:1:1); pó de coco: húmus de minhoca: areia (2:1:1); pó de coco: húmus de minhoca: areia (2:2:1) e vermiculita: húmus de minhoca (2:1). Nas misturas de substratos que contem pó de coco foi acrescido de 1 g.L⁻¹ de calcário dolomítico.

No momento da implantação do experimento e a cada vinte dias, foram coletadas folhas para análise anatômica. Aos 60 dias foi avaliada a sobrevivência (%), número de folhas, altura das plantas (cm), comprimento da raiz (cm), massa (g) seca e fresca da raiz e da parte aérea.

3.2.2. Experimento 2: Influência da adubação na fase de aclimatização das mudas micropropagadas de *T. bulbosa*

Nesse experimento foi utilizado o substrato pó de coco: húmus de minhoca: areia (2:1:1) (determinado no experimento 1), o qual foi colocado em vasos plásticos de 1L para adição da adubação de acordo com os tratamentos.

Em virtude da ausência de recomendação de adubação para a cultura de *T. bulbosa*, as doses foram estimadas com base em recomendação geral para experimento em vasos, segundo Malavolta (1980) para ensaio em casa de vegetação, onde o adubo usado foi preparado misturando-se 300 mg de N, 200 mg de P e 200 mg de K por dm³ solo. Foi utilizado a ureia como fonte de nitrogênio, o superfosfato simples (P₂O₅) como fonte de fósforo e o cloreto de potássio (K₂O) como fonte de potássio.

O delineamento foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 4x4, sendo quatro concentrações de adubo (50, 100, 200 e 400%) e quatro épocas de aplicação (total no plantio; ½ no plantio e ½ aos 80 dias após o plantio (DAP); 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP). Foram utilizados quatro repetições e duas plantas por repetição.

À exceção do superfosfato simples, que foi aplicado em quantidade total, durante o preenchimento dos vasos, os demais adubos foram parcelados em quatro vezes, como descrito acima, de acordo com os tratamentos.

Aos 180 dias as variáveis analisadas foram: sobrevivência (%), número de folhas, altura de planta (cm), comprimento de raiz (cm), massa (g) seca, da parte aérea e raiz e relação matéria seca de raiz/parte aérea.

3.3. Análise do substrato

A análise química e física do substrato utilizado no experimento de adubação (item 3.2.2.) pode ser vista na Tabela 1.

TABELA 1. Resultados da análise química e física do substrato utilizado no experimento de adubação. São Cristóvão, UFS, 2016.

Amostra	Resultado*	Amostra	Resultado
pH em água	6,58	Magnésio (cmolc/dm ³)	2,93
Cálcio+Magnésio (cmolc/dm ³)	9,81	Sódio (cmolc/dm ³)	0,315
Cálcio (cmolc/dm ³)	6,88	Hidrogênio + Alumínio (cmolc/dm ³)	1,63
Alumínio (cmolc/dm ³)	<0,08	SB–Soma de Bases Trocáveis (cmolc/dm ³)	10,60
Potássio (mg/dm ³)	200	CTB (cmolc/dm ³)	12,20
Fósforo (mg/dm ³)	347	V - Índice de Saturação de Bases (%)	86,90
Matéria Orgânica (g/dm ³)	37,5	PST (%)	2,58

*Instituto Tecnológico e de Pesquisa do Estado de Sergipe.

3.4. Aspectos anatômicos

3.4.1. Anatomia foliar

Os trabalhos de anatomia foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal (DEA/UFS) e no Laboratório de Anatomia Vegetal (DBI/UFLA).

Para o estudo da anatomia foliar foi utilizado o terço mediano das folhas completamente expandidas a partir do ápice, de acordo com a metodologia descrita por Kraus e Arduin (1997), coletadas em 2 fases diferentes: *in vitro* e na aclimatização. Na aclimatização foram coletadas folhas na implantação do experimento e a cada vinte dias (0, 20, 40, 60 dias) e no experimento de adubação aos 180 dias após transplantio.

As folhas passaram pelo processo de fixação utilizando FAA 50% (formaldeído - ácido acético glacial - álcool etílico 50%) (JOHANSEN, 1940) por 72 horas e, posteriormente, conservadas em etanol 50% (v/v). O material foi colocado em resina ativada = solução de infiltração (resina + pó ativador, na proporção indicada pelo fabricante) – 24 horas na geladeira, e por fim realizou-se a infiltração em resina de hidroxietilmetacrilato (LEICA-HISTORESIN), de acordo com as recomendações do fabricante. Logo após, foi preparada a solução de inclusão, juntando o endurecedor à resina de infiltração ou resina ativada (seguindo as proporções indicadas pelo fabricante).

Os fragmentos vegetais infiltrados foram colocados em histomoldes (formas plásticas, próprias para inclusão). O polimerizar permaneceu em temperatura de 37°C. Os blocos

foram mantidos com baixa umidade, armazenados em recipientes com boa vedação e conteúdo sílica gel. O material vegetal emblocado foi cortado em micrótomo rotativo em secções transversais com $\pm 7 \mu\text{m}$ de espessura. Os cortes foram estendidos sobre a lâmina com uma pequena quantidade de água destilada.

Após a secagem em temperatura ambiente ou em chapa aquecedora, as secções foram coradas com azul de toluidina a 0,05% (v/v), pH 4,8 e depois lavadas com água destilada. As laminas após a secagem foram fixadas com verniz vitral. Foram avaliadas 5 secções transversais de *T. bulbosa* para cada fase do experimento. As secções foram observadas em microscópio óptico equipado com câmera LEICA DM500 e visualizadas no computador com o auxílio do programa LAS ES[®].

Foram avaliadas as seguintes variáveis: área do limbo foliar (mm^2), espessuras (μm) do limbo foliar, das epidermes abaxial e adaxial e dos parênquimas aquífero e clorofiliano, área (μm^2) dos feixes vasculares: xilema e floema. Os parâmetros anatômicos quantitativos foram analisados por meio de software de análise de imagem UTHSCSA ImageTool (University of Texas, San Antonio, USA) calibrado com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos das fotografias (objetivas de 10, 20 e 40x).

3.4.2. Microscopia eletrônica de varredura

As análises em microscopia eletrônica de varredura foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Ultraestrutural da UFLA/MG. Apenas as folhas cultivadas *in vitro* foram analisadas, onde foram coletadas amostras do terço mediano das folhas, a partir do ápice, as quais foram cortadas em segmentos com aproximadamente 5 mm, incubadas à temperatura ambiente numa solução fixadora de pH 7,2 (modificado Karnovsky, 1965) por 24h (ALVES et al., 2008). As amostras foram lavadas três vezes em tampão cacodilato 0,005M e seccionado transversalmente em líquido azoto. Para fixação foram colocadas em solução aquosa a 1% de tetróxido de ósmio (OSO_4) durante 60 minutos, lavadas três vezes em água destilada e desidratadas em séries de gradiente de acetona (25, 50, 75, 90% e três vezes na concentração de 100%) por 10 minutos. A secagem, realizada pelo aparelho ponto crítico (BALZERS CPD 050) que tem como meio de desidratação, o CO_2 e, em seguida as amostras foram metalizadas com ouro (metalizador MED 010 BALZERS), e examinadas em microscópio eletrônico de varredura (ZEISS SEM 940).

As variáveis avaliadas foram: morfologia dos tricomas (qualitativa) e quantidades de estômatos e tricomas (μm^2) (quantitativa).

3.5. Análises estatísticas

Os resultados obtidos do experimento da aclimatização foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e quando significativos, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As avaliações do experimento da adubação foram submetidas à análise de variância (ANAVA) e quando significativos, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as concentrações de adubos, foi aplicado a regressão polinomial.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando programa estatístico SISVAR[®] 5.3 (FERREIRA, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Alternativas de substratos na aclimatização de mudas de *T. bulbosa* micropropagadas

Para as variáveis, sobrevivência, altura da planta, número de folhas e comprimento da raiz não houve diferença significativa em relação aos substratos utilizados. A sobrevivência das mudas atingiu valores de 95% no substrato pó de coco com húmus de minhoca (2:1) a 100% nos demais substratos utilizados (Tabela 1).

Embora o número de folhas e comprimento da raiz, não terem apresentado diferenças significativas entre os substratos, isso pode ser explicado pela presença do húmus na composição de todas as misturas (Tabela 1), o que corrobora com os trabalhos de Moreira et al. (2007) e de Silva et al. (2012) na aclimatização de mudas de abacaxi, onde afirmam a importância do substrato que deve apresentar, entre outras características, elevado espaço de aeração, permitindo perfeito crescimento e desenvolvimento do sistema radicular e, consequentemente, da parte aérea da planta.

O número de folhas constitui-se um dos principais fatores para o sucesso da transferência das mudas para o ambiente *ex vitro*, uma vez que é responsável pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica por meio da fotossíntese.

TABELA 1. Sobrevivência (%), altura (cm), número de folhas e comprimento da raiz (cm) de *Tillandsia bulbosa* em função de diferentes misturas de substratos aos 60 dias de cultivo. São Cristóvão, UFS, 2016.

Substrato	Sobrevivência (%)	Altura de Planta (cm)	Número de Folhas	Comprimento de Raiz (cm)
PC:HM (2:1)	95,0a	11,34a	7,95a	2,35a
PC:HM:A (1:1:1)	100,0a	12,50a	8,65a	2,92a
PC:HM:A (2:1:1)	100,0a	12,20a	9,80a	2,95a
PC:HM:A (2:2:1)	100,0a	13,36a	8,70a	3,09a
V:HM (2:1)	100,0a	13,36a	7,50a	2,83a
CV (%)	4,52	14,10	18,68	22,69

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**Substratos: PC: pó de coco, HM: húmus, A: areia, V: vermiculita.

Não houve diferenças significativas para massa de matéria seca da parte aérea e raiz. Assim, pode-se inferir que, além da melhoria nos aspectos nutricionais do substrato, o húmus de minhoca confere também melhor propriedade física, a ponto de melhorar o suprimento da planta em água e nutrientes (SILVA et al., 2012). Apesar dos valores para massa fresca de raiz alternar entre 0,33 g a 0,73 g, esses resultados não foram significativos para essa variável (Tabela 2).

TABELA 2. Massa fresca e seca (g) da raiz e da parte aérea de *Tillandsia bulbosa* em função de diferentes misturas de substratos aos 60 dias de cultivo. São Cristóvão, UFS, 2016.

Substrato	Massa Fresca (g)		Massa Seca (g)	
	Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea	Raiz
PC:HM (2:1)	8,51 a	0,33 b	0,95a	0,05a
PC:HM:A (1:1:1)	11,50a	0,54ab	1,24a	0,08a
PC:HM:A (2:1:1)	10,74a	0,56ab	1,11a	0,07a
PC:HM:A (2:2:1)	11,22a	0,68ab	1,19a	0,08a
V:HM (2:1)	10,80a	0,73a	1,26a	0,09a
CV (%)	18,18	30,18	23,46	28,44

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**Substratos: PC: pó de coco, HM: húmus, A: areia, V: vermiculita.

Vale ressaltar que o substrato deve ter boa capacidade de retenção de umidade e não compactar excessivamente, comprometendo a drenagem e a aeração radicular. Segundo Hazarika (2006), é importante observar o desenvolvimento das raízes durante a aclimatização, visto que, as raízes formadas *in vitro* podem se apresentar pouco ramificadas, quebradiças, e até com inadequada conexão vascular.

Em relação aos componentes anatômicos das folhas de *Tillandsia*, observou-se que as cultivadas *in vitro* e aclimatizadas em casa de vegetação, o limbo foliar apresentou epiderme unisseriada nas duas superfícies, hipostomáticas e mesofilo dorsiventral, com presença de parênquima aquífero, voltada para a face adaxial, e parênquima clorofiliano voltado para a face abaxial.

Área foliar foi maior conforme a idade e o ambiente (*in vitro*). O maior valor registrado foi aos 60 dias (23055,60 mm²), enquanto que o menor valor foi nas plantas no ambiente *in vitro* (14972,20 mm²) (Tabela 3). O aumento na área foliar constitui padrão clássico de resposta ao ambiente de cultivo durante a aclimatização, proporciona para a planta maior área para captação de CO₂ e absorção de nutrientes (BARBOZA et al., 2006).

A aérea do feixe vascular teve comportamento semelhante. O maior valor (2069,60 μm²) foi aos 60 dias e o menor (1077,20 μm²) no ambiente *in vitro* (Tabela 3). Esses valores podem indicar um maior potencial para translocação de fotoassimilados, podendo promover um maior desenvolvimento das raízes, nessas condições, uma vez que o floema está diretamente relacionado com a translocação de fotoassimilados das folhas para os órgãos dreno (CASTRO et al., 2009).

TABELA 3. Área foliar (mm²), área do feixe vascular (μm²), espessuras (μm) das epidermes abaxial e adaxial demudas de *Tillandsia bulbosa* em função do tempo de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Tratamento	Área		Espessura da epiderme (μm)	
	Foliar (mm ²)	Feixe Vascular (μm ²)	Abaxial	Adaxial
<i>In vitro</i>	14972,20 c	1077,20 c	5,98 c	4,77 a
20 dias	17832,40 b	1291,80 bc	6,03 bc	4,80 a
40 dias	19489,60 b	1586,60 b	6,14 b	5,10 a
60 dias	23055,60 a	2069,60 a	6,40 a	5,15 a
CV (%)	4,89	12,48	1,25	4,46

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Até os 60 dias de aclimatização não houve diferença significativas para a espessura da epiderme localizada na superfície adaxial, cujo valores foram de 4,77 a 5,15 μm (Tabela 3). A epiderme abaxial apresentou espessuras diferenciadas conforme a idade e ambiente (*in vitro*). A maior espessura foi aos 60 dias (6,40 μm) enquanto que o menor valor foi obtido em plântulas mantidas na condição *in vitro* (5,98 μm), não diferindo de plantas com 20 dias, que por sua vez não diferiram das com 40 dias de aclimatização (Tabela 3). A espessura da parede da epiderme pode influenciar em uma maior sobrevivência das plantas durante a transferência para o ambiente *ex vitro*, diminuindo a evaporação da água a partir dos tecidos e evitando o colapso das células a fim de garantir a sobrevivência da espécie em condições de seca. (BARBOZA et al., 2006; SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2012).

Em relação a espessura da cutícula (abaxial e adaxial), houve um aumento ao longo do período de aclimatização (Tabela 4), o que é vantajoso, pois contribui para evitar a perda excessiva de água e a dessecação das plântulas quando transferidas para um ambiente de campo (CASSON e GRAY, 2008).

Houve um aumento progressivo da espessura do parênquima (aquífero e clorofiliano) e do limbo foliar ao longo do período de aclimatização das plântulas (Tabela 4). O aumento da espessura do parênquima aquífero é característico de bromélias epífitas, já que possuem

rosetas que funcionam como armazenadores de água e assim auxiliam no sentido de evitar a desidratação das plantas.

O aumento na espessura do mesofilo de 237,31µm (*in vitro*) para 435,48 µm (60 dias) é um indicativo de resposta ao ambiente de cultivo durante a aclimatização e evidencia a plasticidade adaptativa da espécie (BARBOZA et al., 2006; BRAGA et al., 2011).

TABELA 4. Espessuras (µm) das cutículas abaxial e adaxial e dos parênquimas aquífero e clorofiliano e do limbo foliar de mudas de *Tillandsia bulbosa* em função do tempo de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Tratamento	Espessura da cutícula (µm)		Espessura do parênquima (µm)		Limbo foliar
	Abaxial	Adaxial	Aquífero	Clorofiliano	
<i>In vitro</i>	1,12 c	1,02 c	81,33 c	155,98 c	250,21 d
20 dias	1,18 bc	1,07 bc	84,63 c	237,54 b	335,27 c
40 dias	1,23 ab	1,12 b	119,37 b	275,93 a	408,92 b
60 dias	1,26 a	1,19 a	135,78 a	299,70 a	449,50 a
CV (%)	3,13	3,72	5,97	6,45	5,25

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A *T. bulbosa* possui limbo foliar de formato côncavo-convexo, parênquima aquífero, parênquima clorofiliano e sistema vascular circundado por fibras. O parênquima aquífero está localizado na face adaxial. Observa-se que as células do parênquima aquífero apresentam paredes mais sinuosas nas plantas cultivadas *in vitro* em relação às plantas com 20, 40 e 60 dias de aclimatização (Figura 1A-D).

O parênquima clorofiliano localiza-se entre os feixes vasculares, em uma faixa contínua e toda a extensão do limbo foliar. É constituído por várias camadas de células de contorno arredondado e paredes finas, dispostas, por vezes, de forma bastante concêntrica ao redor dos feixes vasculares. Canais de ar também podem ocorrer na região mediana do mesofilo, entre os feixes vasculares. Nas plantas cultivadas *in vitro* e as com menos de 60 dias de aclimatização, esses canais são menos definidos e se limitam a espaços intercelulares menores (Figura 1A-D).

Foram observados idioblastos com presença de drusas no mesofilo das folhas (Figura 1C). As folhas de todas as plantas tanto as cultivam *in vitro* e *ex vitro* apresentaram a hipoderme junto à face abaxial e adaxial (Figura 1A-D). A hipoderme é formada por uma fina camada de células de parede celular fina, que podem ser arredondadas e aclorofiladas. Resultados semelhantes foram observados em bromélias encontradas no cerrado do Estado de São Paulo (PROENÇA e SAJO, 2007).

Abaixo da hipoderme encontra-se o parênquima aquífero que é constituído por duas a quatro camadas de células aclorofiladas, arredondadas de paredes finas e sinuosas. Muito mais definido nas folhas de plantas provenientes nas plantas *ex vitro* do que nas *in vitro* e presente apenas na face adaxial das folhas. Nas plantas de ambiente *in vitro*, as células do parênquima aquífero são menores e com paredes mais sinuosas e irregulares. Há também um menor número de camadas de parênquima aquífero nas folhas cultivadas nesse ambiente (Figura 1).

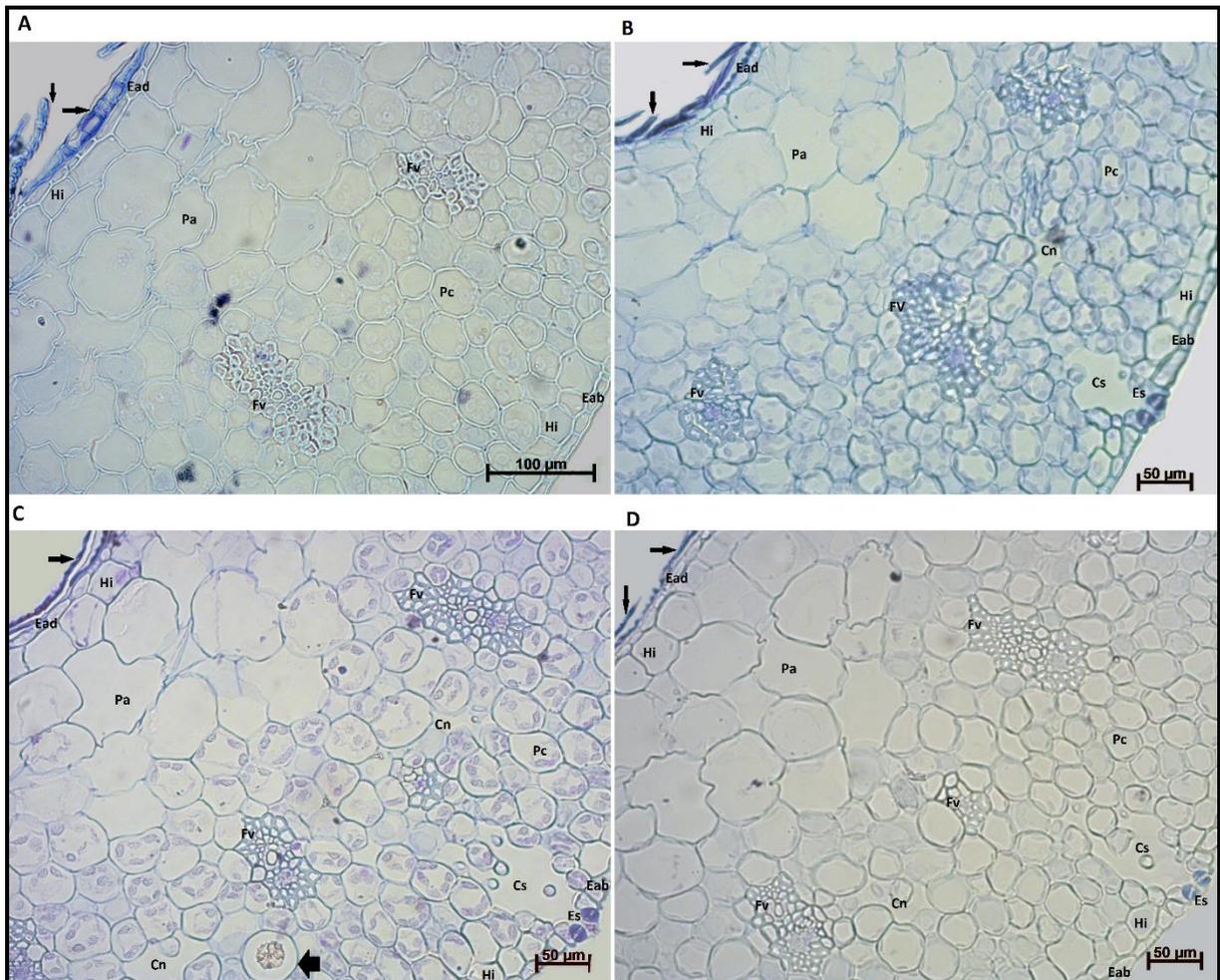


FIGURA 1: Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de *T. bulbosa* de plântulas cultivadas *in vitro* (A) e aclimatizadas por 20, 40 e 60 dias (B, C e D respectivamente). Setas indicando inserção da escama na epiderme (A, B, C e D); Idioblasto com presença de drusa no mesofilo (C); Epiderme, hipoderme, parênquima aquífero, parênquima clorofilino e feixe vascular; presença de canais de ar nas plantas aclimatizadas, câmara subestomática (B, C e D). Objetiva 20x. Cn = canal de ar; Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; Ead = epiderme adaxial; FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima clorofiliano; Setas finas = tricomas; Setas largas = idioblasto com presença de drusa.

Os feixes vasculares se alternam com os canais de aeração e, geralmente, feixes vasculares de maior porte se alternam com os de menor porte (Figura 2A). Os feixes são circundados por uma camada de células parenquimáticas denominada endoderme, que é a camada mais interna desse tecido no mesofilo, constituindo a bainha vascular.

Os feixes vasculares são visíveis com clareza em todas as folhas dos ambientes *in vitroe ex vitro*. São denominados de colaterais, pois o xilema é voltado para cima e o floema para baixo (Figura 2B). Eles se apresentam em única série ao longo da lâmina (PROENÇA e SAJO, 2007). Os feixes de maior porte são circundados de uma a duas camadas de fibras pericíclicas cujas paredes são espessas. Já os feixes de menor porte possuem calotas de fibras pericíclicas apenas nas extremidades.

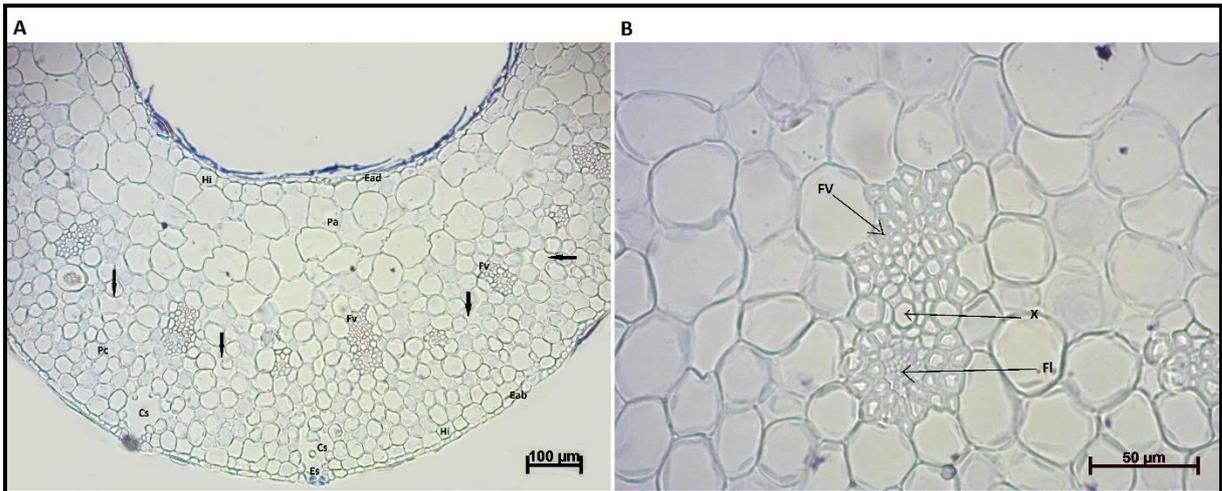


FIGURA 2: Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de *T. bulbosa* de plantas com 60 dias de aclimatização (A-B). Epiderme, hipoderme, parênquima aquífero, parênquima clorofilino e feixe vascular; presença de canais de ar nas plantas aclimatizadas, estômatos e câmaras subestomáticas (A). Feixe vascular, floema e xilema (B). Objetivas 10x (A) e 40x (B). Setas indicando canais de ar. Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; Ead = epiderme adaxial; Fl = floema; FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima clorofiliano; X = xilema.

Com auxílio da microscopia de varredura, observa-se o escudo (tricoma) formado por quatro células centrais, de forma triangular, que se encaixam em forma de círculo (Figura 3). Essas células centrais são cercadas por duas séries de células de forma retangular, a primeira série é formada por oito células, denominada de anel pericentral e a segunda série por dezesseis, chamado de anel periférico. Externamente estão as células da ala periférica, que é constituída por cerca cinquenta células alongadas (Figura 3D). As células periféricas do escudo são mortas e encaixam-se com as escamas das células vizinhas, formando um revestimento da epiderme foliar (Figura 3A-C).

Os tricomas podem ser encontrados nas duas faces (abaxial e adaxial). A face abaxial apresentou uma média de 70 tricomas por 100 mm², enquanto que a face adaxial este valor foi de 61,6 escamas por 100 mm² nas plantas cultivadas *in vitro*. O valor médio para a quantidade de estômatos das plantas cultivada nas mesmas condições e apenas na face abaxial foi de 15 estômatos por 100 mm².

Em secção transversal, as escamas são implantadas na epiderme por pedículo, constituído de domo mais quatro células apoiadas em duas células basais. As células do pedículo são vivas, e por isso intensamente coradas, de formato retangular, de paredes finas e inseridas na base do escudo (Figura 4A-B). Esses tricomas peltados servem como proteção contra a perde excessiva de água, já que reveste toda a epiderme foliar (abaxial e adaxial), protegendo os estômatos contra a exposição direta a luminosidade, como também, servem como fonte de captação de nutrientes para a planta (LI et al, 2015).

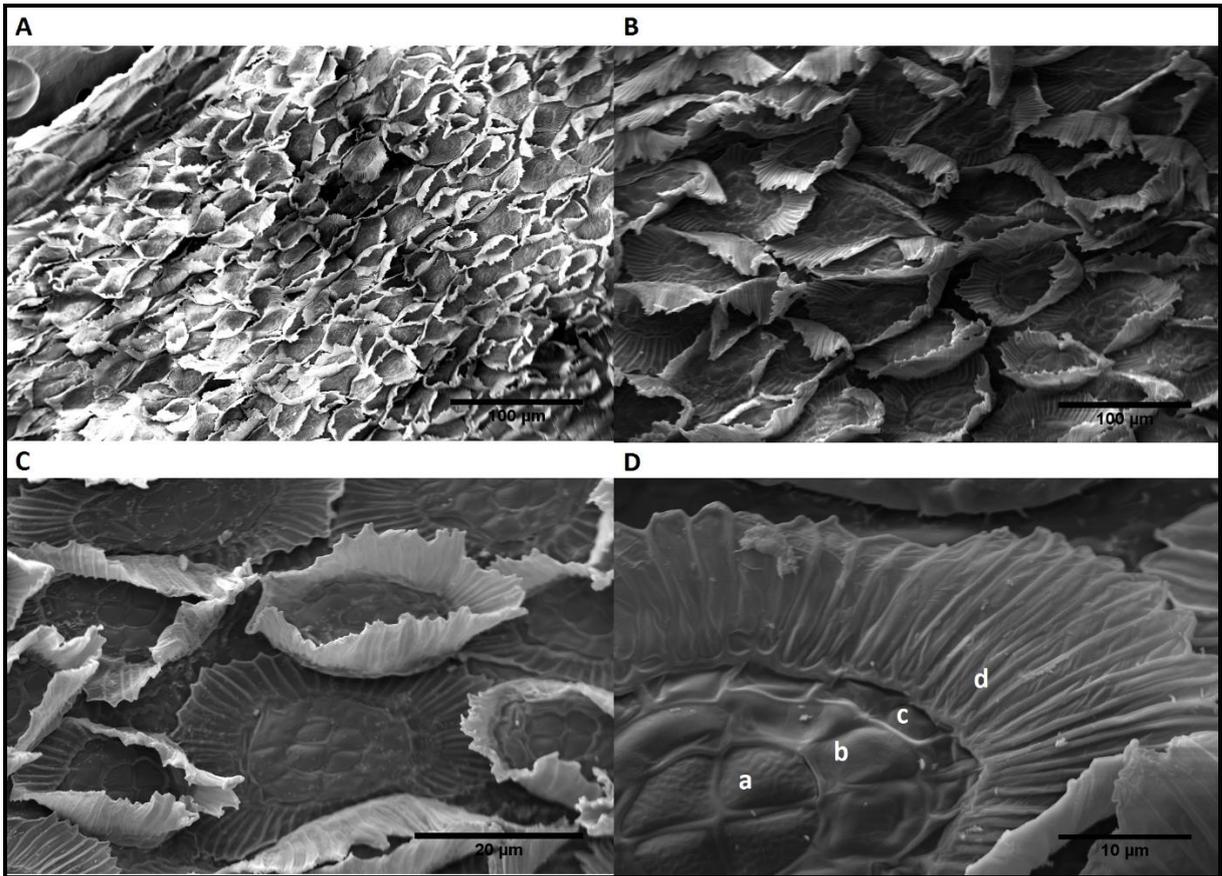


FIGURA 3:Microscopia de varredura da superfície adaxial de folhas de *T. bulbosa*, cultivadas *in vitro*(A-D). Tricoma em detalhe (D). Aumento de 100 μm (A), 50 μm (B), 20 μm (C) e 10 μm (D). a = células centrais; b = anel pericentral; c= anel periférico; d =ala.

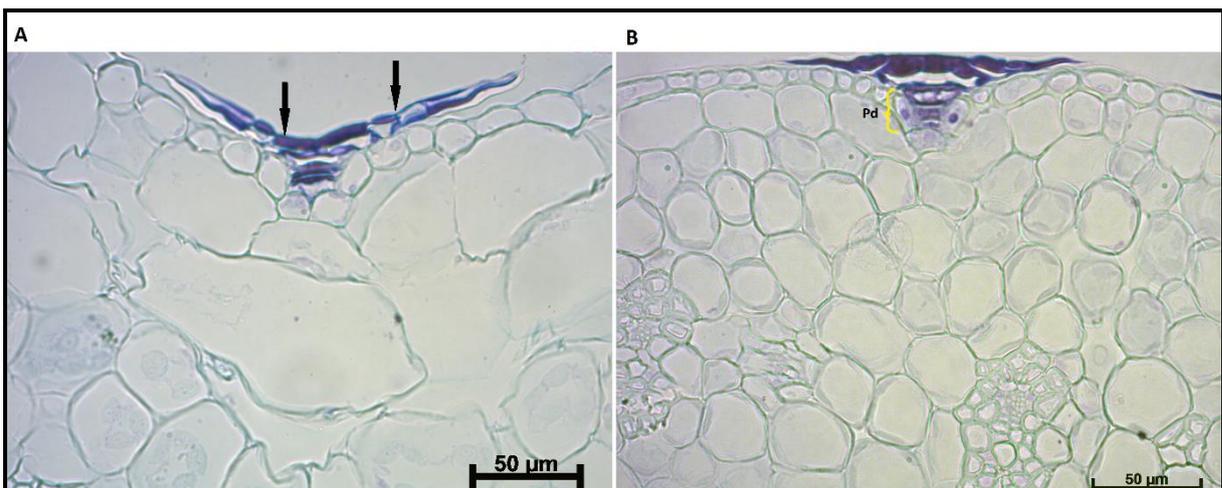


FIGURA 4. Detalhes dos tricomas foliares de *Tillandsia bulbosa* A-B. Corte transversal da superfície adaxial com setas indicando as células do anel (A). Corte transversal da superfície abaxial com chave indicando o a base do pedículo (B). Objetiva 40x. Pd = pedículo da escama.

No que se refere aos estômatos, estes são distribuídos longitudinalmente apenas na superfície da epiderme abaxial das folhas, sendo, por este motivo, denominadas

hipostomáticas (CASTRO *et al.*, 2009). Nas folhas cultivadas *in vitro* com 20 dias de aclimatizadas, ocorrem no mesmo nível das demais células da epiderme (Figura 5A-B), já nas folhas com 40 e 60 dias aparecem acima das células da epiderme abaxial (Figura 5C-D), e em todos os casos são recobertos por tricomas peltados.

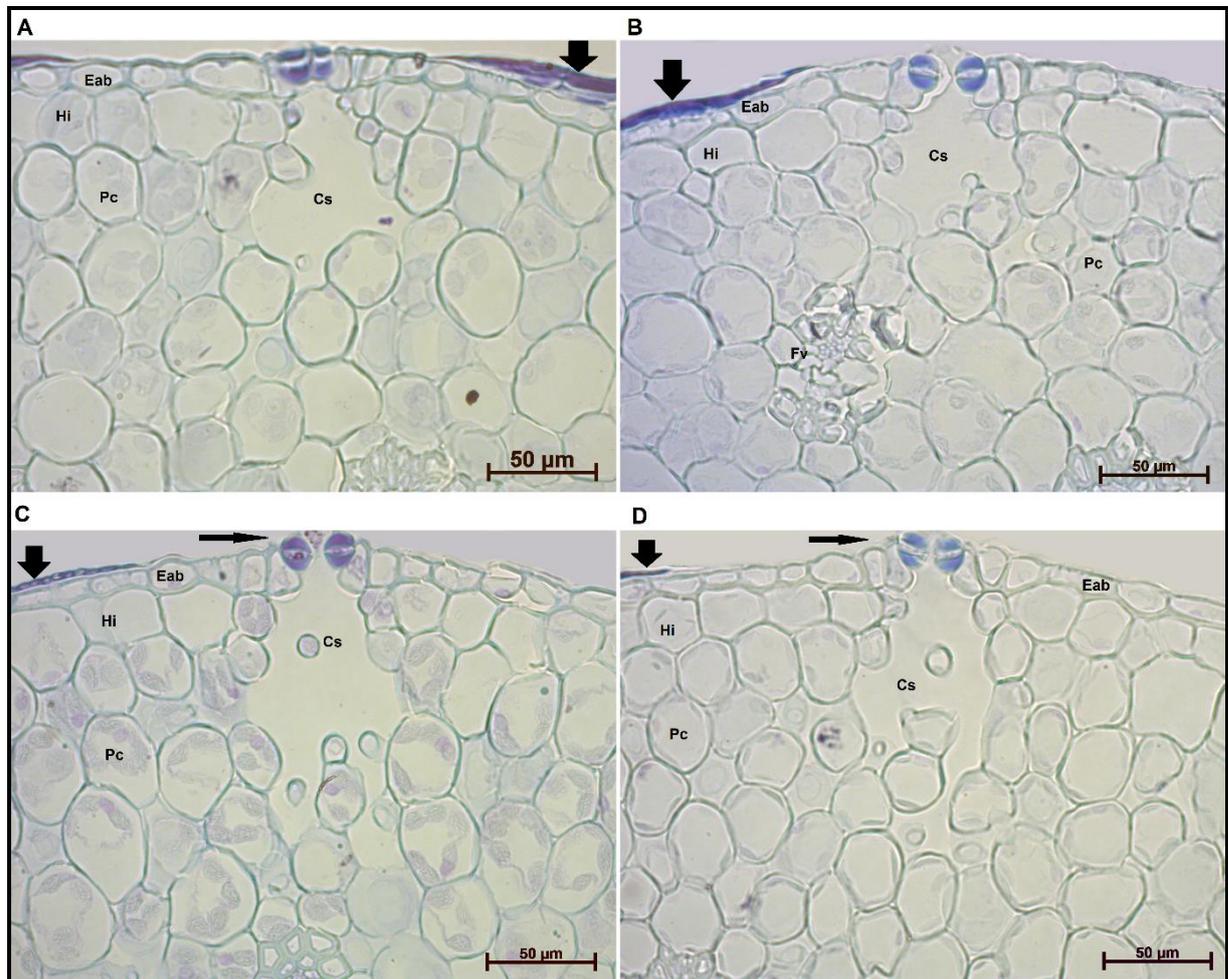


FIGURA 5. Detalhes dos estômatos em secção transversal (de folhas de *T. bulbosa* de plantas plântulas cultivadas *in vitro* por cerca de 2 anos (A) e aclimatizadas em casa de vegetação por 20, 40 e 60 dias (B, C e D respectivamente). Setas largas indicando inserção da escama na epiderme (A, B, C e D); Setas finas indicando o nível dos estômatos em relação as demais células epidérmicas. Objetiva 40x. Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pc = parênquima clorofiliano; Setas largas= tricomas; Setas largas = estômatos.

Os dados obtidos estão de acordo com encontrados Silva *et al.* (2012), em folhas de mudas de abacaxizeiro micropropagadas *in vitro* e *ex vitro*, que também apresentam estruturas básicas semelhantes. Entretanto, alterações no espessamento da epiderme, formato e sinuosidade das células do mesofilo podem ser observadas nos diferentes ambientes de cultivo, demonstrando plasticidade fenotípica. O aumento da espessura da cutícula sugere que as espécies utilizam estratégias diferentes para proteção contra a dessecação ou que o extrato cuticular esteja compensando a proteção oferecida pelas escamas.

O prolongamento assimétrico dos escudos amplia a área superficial das escamas, aumentando assim a absorção de água e nutrientes nela dissolvidos. Tal mecanismo é extremamente eficiente, já que para as espécies epífitas a água está disponível muitas vezes apenas em forma de orvalho. Entretanto todas as discussões sobre o que é evoluído ou

primitivo para as subfamílias em Bromeliaceae deve ser analisado com cautela, uma vez que a classificação vem sofrendo grandes alterações (GIVNISH *et al.* 2007).

De modo geral, as plantas apresentaram grande plasticidade em relação aos diferentes substratos, tempos de aclimatização e ambientes de cultivo, alterando as características anatômicas das plantas.

Essas modificações, ao longo da aclimatização, estão direta e positivamente relacionadas com a taxa fotossintética e a transpiração, favorecendo, assim, melhor desenvolvimento das mudas. Este tempo faz-se necessário para que as suas estruturas passem a ser funcionais, para que o sistema fisiológico possa responder aos estímulos do ambiente sem que haja danos à planta.

4.2 Influência da adubação na fase de aclimatização das mudas micropropagadas de *T. bulbosa*

Para as variáveis sobrevivência e altura da planta os tratamentos com de 50, 100 e 200% de adubo, não apresentaram diferenças significativas, indicando que o parcelamento não se faz necessário, podendo ser todo aplicado no plantio. Para o tratamento com 400% de adubo, o parcelamento, pode ser benéfico, uma vez que a aplicação desta quantidade no plantio levou a morte das plantas. Entretanto a partir do 80 DAP, nota-se uma melhor aceitação deste adubo (400%), embora os valores tenham sido menores (Tabela 5).

Para variável número de folhas não há necessidade de parcelamento quando utilizado 50, 100 e 200% de adubo, podendo ser toda aplicada no plantio. Para 200 e 400%, o parcelamento foi viável, sendo o melhor resultado (14,7) com 200% de adubo na época 4 (Tabela 6). Observa-se que o parcelamento foi favorável para 400% a partir da época 2, não diferindo significativa das épocas 3 e 4, embora esta concentração tenha proporcionado o menor número de folhas em todas as épocas de aplicação, quando comparada com os demais tratamentos (Tabela 6).

TABELA 5. Sobrevivência (%) e altura de planta (cm) de mudas de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Época	Adubo (%)				Equação
	50	100	200	400	
----- Sobrevivência (%) -----					
1	100,0 a	100,0 a	87,5 a	0,0 b	$Y = 127,7174 - 0,2978X - R^2 = 91,18\%$
2	100,0 a	100,0 a	87,5 a	50,0 a	$Y = 112,5000 - 0,1500X - R^2 = 96,28\%$
3	100,0 a	100,0 a	87,5 a	62,5 a	$Y = 108,6956 - 0,1130X - R^2 = 97,97\%$
4	87,5 a	87,5 a	100,0 a	50,0 a	$Y = 70,8333 + 0,3145X - 0,0009X^2 - R^2 = 96,42\%$
CV (%)	18,84				
----- Altura de planta (cm) -----					
1	11,27 a	11,66 a	10,28 a	0,00 b	$Y = 14,6771 - 0,0339X - R^2 = 89,23\%$
2	10,10 a	8,50 a	8,81 a	5,75 a	$Y = 10,3750 - 0,0120X - R^2 = 96,81\%$
3	10,47 a	11,06 a	8,81 a	6,18 a	$Y = 11,6994 - 0,0136X - R^2 = 94,05\%$
4	9,48 a	9,95 a	11,47 a	5,22 a	$Y = 7,2750 + 0,0443X - 0,0001X^2 - R^2 = 97,95\%$
CV (%)	30,82				

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**Época: (1) Aplicação Total no plantio; (2) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (3) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (4) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP.

TABELA 6. Número de folhas e massa (mg) seca da parte aérea de mudas de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Época	Adubo(%)				Equação
	50	100	200	400	
----- Número de folhas -----					
1	13,25 a	14,37 a	11,00 ab	0,00 b	Y= 17,3315-0,0409X - R ² = 92,48%
2	13,00 a	13,62 a	8,62 b	7,37 a	Y= 14,0597-0,0181X - R ² = 81,11%
3	13,25 a	15,37 a	11,25ab	8,12 a	Y= 15,3913-0,0180X - R ² = 82,41%
4	10,50 a	14,00 a	14,75 a	6,87 a	Y= 7,5208+0,0775X-0,0001X ² R ² = 97,99%
CV (%)	25,19				
----- Massa seca de parte aérea (mg) ¹ -----					
1	321,36 a	355,88 a	331,72 a	0,00 b	Y= 258,6755+1,4149X-0,0051X ² R ² = 99,90%
2	336,01 a	298,38 a	210,79 a	185,76 a	Y= 336,5230-0,4201X - R ² = 83,69%
3	281,97 a	401,59 a	284,15 a	149,32 a	Y= 297,9152+0,5909X-0,0024X ² R ² = 76,41%
4	298,68 a	379,61 a	345,42 a	113,65 a	Y= 243,8757+1,5030X-0,0045X ² R ² = 96,31%
CV (%)	20,67				

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

**Época: (1) Aplicação Total no plantio; (2) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (3) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (4) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP.

¹Dados transformados por $\sqrt{x+0,5}$.

As variáveis, massa seca de parte aérea (Tabela 6) nos tratamentos com 50, 100 e 200% de adubo, não tiveram diferenças significativas, com isso, não há necessidade de parcelamento, podendo ser toda a dose aplicada no plantio. Para 400% de adubo há necessidade de parcelamento, sendo que as épocas 2,3 e 4 foram iguais estatisticamente. Embora esta concentração tenha proporcionado menor massa de parte aérea em todas as épocas de aplicação, quando comparada com os demais tratamentos, o parcelamento é necessário, visto que, não houve sobrevivência para as plantas da época 1 onde a concentração de 400% foi toda aplicada no plantio.

As variáveis analisadas para características de raiz mostraram comportamento diferente da parte aérea no que diz respeito à significância dos fatores estudados. Para comprimento de raiz, massa fresca e seca de raiz, apenas as concentrações de adubação tiveram significância, sendo os resultados representados por equações lineares decrescente a medida em que as concentrações foram aumentadas (Figura 6).

Sugere-se que esses resultados sejam devido à necessidade de maior exploração do substrato, uma vez que as plantas necessitam de nutrientes para o seu desenvolvimento e as raízes nos substratos com 400% de adubo, não tiveram dificuldades adquirir os nutrientes do meio, obtendo assim menor comprimento (Figura 6A) e menor massa seca de raiz (Figura 6B).

A relação massa seca raiz/parte aérea foi maior nas plantas adubadas com 50 e 100%, ao contrário das plantas adubadas com 400% (Figura 6C). Segundo Marschener (1995), quando ocorre deficiência de nutrientes, as raízes e a parte aérea das plantas apresentam alguns sintomas, como alterações no crescimento, na morfologia e distribuição do sistema radicular no substrato, como também há um aumento na relação de matéria seca de raiz/parte aérea (R/A). Este efeito é típico, quando ocorre deficiência, principalmente de nitrogênio. Um aumento no fornecimento de nitrogênio aumenta o desenvolvimento de raízes e parte aérea, sendo maior o desenvolvimento da parte aérea, causando com isso uma típica queda na relação R/A.

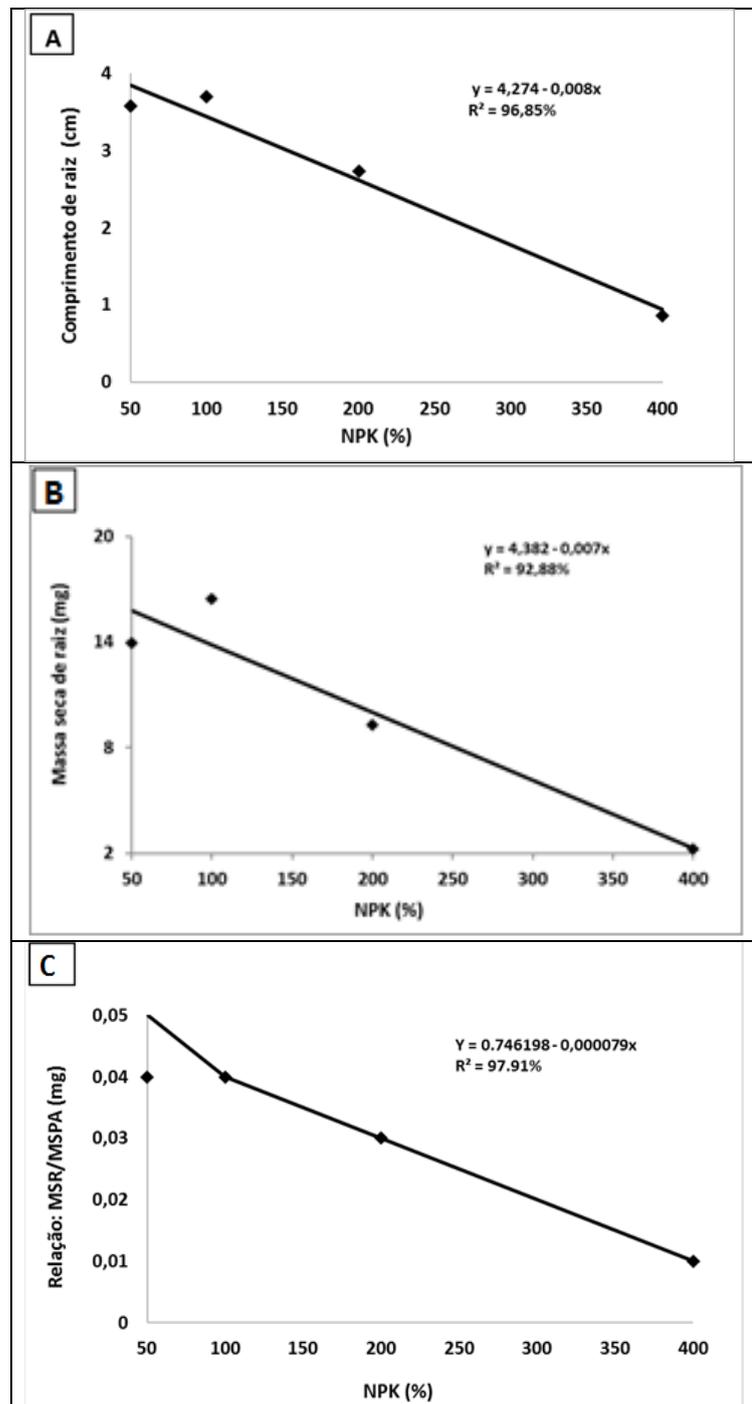


FIGURA 6. Comprimento de raiz (cm) (A), massa seca (B) de raiz e relação entre a massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) (C) de mudas de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

De acordo com Corrêa et al., (2010) a maior disponibilidade de potássio como nutriente para as plantas, eleva a translocação de açúcares para as regiões decrescimento. O fósforo fornece energia para diversos processos metabólicos ligados ao crescimento das plantas, e a alta dosagem de nitrogênio pode aumentar a atividade fotossintética, já que esse nutriente faz parte da molécula de clorofila. Destaca também, a necessidade do equilíbrio entre as dosagens de nutrientes para obter uma produção ótima, sendo que déficits (lei do mínimo) ou excesso de nutrientes (lei do máximo) acarretam desordens no crescimento de plantas.

Em relação aos componentes anatômicos das folhas, observou-se que houve efeito significativo das épocas de aplicação de adubo para todas as variáveis estudadas. A adubação favoreceu o aumento da área foliar quando utilizado o parcelamento, apresentando na época 3 para 50% e na época 4 para 100% de adubação. A aplicação de 400% de adubo teve um comportamento semelhante, a partir da época 2. Ao analisar as concentrações de adubos dentro de cada época, nota-se que as respostas seguiram uma regressão quadrática, com 28545,50 mm² para 100% de adubo na época 4 (Tabela 7). Folhas bem supridas em N e P são mais eficientes na captação da energia solar, têm maior capacidade de assimilar CO₂ e sintetizar proteínas e carboidratos, influenciando o crescimento e desenvolvimento da planta (MARSCHNER, 1995).

Para área dos feixes vasculares, observa-se, em forma geral, que os maiores valores foram encontrados na faixa de 100 e 200% de adubo e nas épocas 3 e 4 respectivamente (Tabela 7). As concentrações de adubação dentro de cada época, nota-se que as respostas seguiram uma equação quadrática. Esses valores podem indicar um maior potencial para translocação de fotoassimilados, podendo promover um maior desenvolvimento das raízes, nessas condições, uma vez que o floema está diretamente relacionado com a translocação de fotoassimilados das folhas para os órgãos dreno (CASTRO et al., 2009).

TABELA 7. Área foliar (mm²) e área do feixe vascular (µm²) de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Época	Adubo (%)				Equação
	50	100	200	400	
-----Área foliar (mm ²)-----					
1	19290,50 b	25109,25 b	20424,25 a	0,00 b	Y= 17070,2083+88,9001X-0,3300X ² R ² = 97,43%
2	21302,00 b	19491,50 c	20448,50 a	17447,00 a	Y= 20767,2500-0,3191X-0,0194X ² R ² = 78,89%
3	24279,00 a	24507,25 b	22392,25 a	19214,00 a	Y= 25083,2083-9,5849X-0,0129X ² R ² = 97,69%
4	22052,25 ab	28545,50 a	20245,00 a	17977,25a	Y= 25043,5416-7,0539X-0,0285X ² R ² = 98,46%
CV (%)	7,58				
-----Área do feixe vascular (µm ²)-----					
1	2266,50 a	2282,50 c	2914,75 a	0,00 c	Y= 1353,8750+174545X-0,0519X ² R ² = 97,16%
2	2270,50 a	2650,50 b	2511,75 b	1050,50 b	Y= 1992,7916+8,1092X-0,0262X ² R ² = 98,83%
3	2274,50 a	3068,75 a	2971,50 a	1084,25 b	Y= 1760,0416+14,9851X-0,0417X ² R ² = 96,72%
4	2278,50 a	2976,50 a	3065,00 a	1523,50 a	Y= 1729,9166+146881X-0,0380X ² R ² = 97,42%
CV (%)	6,77				

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

**Época: (1) Aplicação total no plantio; (2) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (3) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (4) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP.

A espessura da epiderme abaxial variou conforme as épocas e adubação, sendo que os menores valores encontrados foram com o uso de 400% de adubo. Ao analisar as concentrações de adubo dentro de cada época, nota-se que as respostas seguiram uma equação quadrática. Os resultados foram melhores com 100% de adubação, com exceção da época 2 (Tabela 8).

A espessura da epiderme adaxial para 50% de adubo variou entre 4,63 a 5,39 µm. Com 100% de adubo proporcionou 6,27 µm sendo o maior valor. O tratamento com 200% de adubo, apresentou valores entre 5,04 a 5,26 µm. Para 400% de adubo, mesmo não tendo

sobrevivência para as plantas da época 1 onde a adubação foi toda aplicada no plantio, obteve 5,39 μm na época 2. As concentrações de adubo dentro das épocas 1, 3 e 4, nota-se que as respostas seguiram uma equação quadrática. Observa-se que a concentração de 100% de adubo de foi maior em todas as épocas de aplicação (Tabela 8).

Um aumento na espessura das epidermes proporciona as plantas, uma maior possibilidade de sobrevivência, durante o processo de transferência do ambiente *in vitro* para *ex vitro* (SILVA et al., 2012).

TABELA 8. Espessuras (μm) das epidermes abaxial e adaxial e das cutículas abaxial e adaxial de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Época	Adubo (%)				Equação
	50	100	200	400	
-- Espessura da epiderme abaxial (μm) --					
1	7,25 b	8,52 a	7,08 a	0,00 b	$Y = 6,6116 + 0,0239X - 0,0001X^2 - R^2 = 99,00\%$
2	6,84 b	6,14 b	7,06 a	5,11 a	$Y = 6,1354 + 0,0088X - 0,00002x^2 - R = 75,99\%$
3	8,17 a	8,75 a	6,07 b	4,75 a	$Y = 9,5454 - 0,0181X + 0,00001X^2 - R^2 = 88,21\%$
4	6,14 c	8,49 a	6,42 b	4,72 a	$Y = 6,4629 + 0,0108X - 0,0004X^2 - R^2 = 61,16\%$
CV (%)	4,94				
-- Espessura da epiderme adaxial (μm) --					
1	5,15 a	5,85 ab	5,26 a	0,00 d	$Y = 4,4450 + 0,0201X - 0,00007X^2 - R^2 = 99,78\%$
2	5,39 a	5,29 c	5,23 a	5,39 a	ns
3	5,09 a	6,27 a	5,04 a	3,11 c	$Y = 5,2054 + 0,0070X - 0,00003X^2 - R^2 = 86,08\%$
4	4,63 b	5,76 b	5,18 a	4,10 b	$Y = 4,4608 + 0,0108X - 0,00003X^2 - R^2 = 72,50\%$
CV (%)	4,86				
-- Espessura da cutícula abaxial (μm) --					
1	1,73 a	1,61 ab	1,30 a	0,00 c	$Y = 2,1115 - 0,0050X - R^2 = 96,52\%$
2	1,88 a	1,72 a	1,27 a	1,13 ab	$Y = 1,9019 - 0,0021X - R^2 = 85,78\%$
3	1,29 b	1,48 b	1,25 a	1,09 b	$Y = 1,3558 + 0,0002X - 0,000002X^2 - R^2 = 70,23\%$
4	1,37 b	1,42 b	1,32 a	1,28 a	$Y = 1,4254 - 0,0004X + 0,000000X^2 - R^2 = 73,48\%$
CV (%)	7,78				
-- Espessura da cutícula adaxial (μm) --					
1	1,37 a	1,33 a	1,21 a	0,00 c	$Y = 1,7398 - 0,0040X - R^2 = 90,66\%$
2	1,33 ab	1,37 a	1,18 a	1,04 ab	$Y = 1,4043 - 0,0009X - R^2 = 91,72\%$
3	1,13 c	1,29 a	1,16 a	0,96 b	$Y = 1,1337 + 0,0011X - 0,000004X^2 - R^2 = 79,87\%$
4	1,21 bc	1,35 a	1,20 a	1,13 a	$Y = 1,2604 + 0,0002X - 0,000001X^2 - R^2 = 53,17\%$
CV (%)	5,60				

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**Época: (1) Aplicação Total no plantio; (2) $\frac{1}{2}$ no plantio e $\frac{1}{2}$ aos 80 DAP (dias após plantio); (3) $\frac{1}{3}$ no plantio, $\frac{1}{3}$ aos 50 DAP e $\frac{1}{3}$ aos 100 DAP; (4) $\frac{1}{4}$ no plantio, $\frac{1}{4}$ aos 30 DAP, $\frac{1}{4}$ aos 60 DAP e $\frac{1}{4}$ aos 120 DAP.

Para a variável espessura da cutícula abaxial, com 50% de adubo teve o melhor resultado na época 2 com 1,88 μm . O tratamento com 100% de adubo, alcançou valores entre 1,42 μm a 1,72 μm . Para 200% de adubo o maior valor analisado foi de 1,32 μm . Os menores valores foram com 400% de adubo. Ao analisar as concentrações de adubo dentro das épocas 1 e 2, nota-se que as respostas seguiram uma equação linear e para as épocas 3 e 4 uma regressão quadrática. Observa-se que para a concentração de 50% foi mais eficaz nas épocas 1 e 2 e que 100% de adubo nas épocas 3 e 4 de aplicação (Tabela 8).

A espessura da cutícula adaxial apresentou aos melhores resultados com 100% de adubação com valores entre 1,29 a 1,37 μm . Para 400% de adubo obteve os menores valores, sendo 1,13 μm o maior valor observado. Ao analisar as concentrações de adubo dentro das épocas 1 e 2, nota-se que as respostas seguiram uma equação linear e para as épocas 3 e 4 uma regressão quadrática. Observa-se que a concentração de 50% foi mais eficaz nas épocas 1 e 2 e que 100% de adubo nas épocas 3 e 4 de aplicação (Tabela 8).

O aumento na espessura das cutículas está diretamente relacionado com a redução da transpiração, evitando a perda excessiva de água e a dessecação das plântulas quando transferidas de um ambiente *in vitro* para *ex vitro* (CASSON e GRAY, 2008; CASTRO et al. 2009).

O espessamento do parênquima aquífero com 50% de adubação teve o melhor resultado na época 3 (Tabela 9 e Figura 7C). Para 100% de adubação o melhor resultado foi na época 4 (140,69 μm) (Tabela 9 e Figura 8D). A adubação com 200%, as épocas 2 (171,26 μm) e 4 (180,87 μm) apresentaram as maiores medias (Tabela 9 e Figura 9B-D). O tratamento com 400% de adubo obteve o maior valor na época 3 (114,34 μm) (Tabela 9 e Figura 10C). Ao analisar as concentrações de adubos dentro de cada época, nota-se que as respostas seguiram uma regressão quadrática, onde 200% de adubo obteve os valores superiores em todas as quatro épocas de aplicação em relação aos demais tratamentos (Tabela 9). Uma maior espessura do parênquima aquífero além de maximizar disponibilidade de reserva hídrica, favorece o bloqueio contra o excesso de irradiação solar, limitando a intensidade de luz que atinge os cloroplastos dos tecidos, protegendo-os da foto-oxidação (PROENÇA e SAJO, 2007; VOLTOLINI e SANTOS, 2011).

TABELA 9. Espessuras (μm) dos parênquimas aquífero e clorofiliano e espessura (μm) do limbo foliar de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de adubo na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

Época	Adubo (%)				Equação
	50	100	200	400	
---- Espessura do parênquima aquífero (μm) ---					
1	113,87 b	112,26 c	154,22 b	0,00 c	Y= 60,7358+0,9887X-0,0028X ² - R ² = 95,71%
2	104,89 b	127,73 b	171,26 a	98,32 b	Y= 56,1058+1,0105X-0,0022X ² - R ² = 97,73%
3	140,69 a	127,27 b	152,96 b	114,34 a	Y= 121,603+0,2615X-0,0006X ² - R ² = 65,23%
4	81,50 c	154,01 a	180,87 a	91,54 b	Y= 24,5375+1,4729X-0,0032X ² - R ² = 94,97%
CV (%)	5,70				
--Espessura do parênquima clorofiliano (μm) --					
1	286,90 bc	262,41 b	277,09 b	0,00 c	Y= 360,3819-0,8201X - R ² = 84,49
2	309,64 a	276,64 b	300,22 a	188,08 a	Y= 328,8088-0,3208X - R ² = 80,15%
3	274,48 c	276,81 b	284,37 b	172,49 b	Y= 308,7890-0,3026X - R ² = 77,54%
4	293,51 b	309,59 a	299,86 a	158,68 b	Y= 343,6181-0,4170X - R ² = 81,62%
CV (%)	3,28				
----- Espessura do limbo foliar (μm) -----					
1	416,30 a	392,01 c	446,18 b	0,00 c	Y= 313,923+1,8815X-0,0066X ² - R ² = 97,73%
2	429,99 a	418,90 b	486,24 a	299,09 a	Y= 357,599+1,2737X-0,0035X ² - R ² = 91,97%
3	430,87 a	421,88 b	450,87 b	296,75 a	Y= 388,862+0,7568X-0,0024X ² - R ² = 96,48%
4	388,39 b	480,65 a	494,87 a	261,47 b	Y= 309,252+2,073X-0,0054X ² - R ² = 98,36%
CV (%)	3,15				

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**Época: (1) Aplicação Total no plantio; (2) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (3) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (4) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP.

O espessamento do parênquima clorofiliano, nos tratamentos com 50 e 400% de adubo, o melhor resultado foi na época 2, com valores de 309,64 μm (50%) e 188,08 μm (400%) (Tabela 9 e Figuras 7B e 10B, respectivamente). Já para 100% de adubo o melhor resultado foi na época 4 (309,59 μm) (Tabela 9 e Figura 8D). O tratamento com 200% de adubo os melhores resultados foram nas épocas 2 (300,22 μm) e 4 (299,86 μm) respectivamente (Tabela 9 e Figura 9B-D). Para as concentrações de adubos dentro de cada época, observou-se que as respostas seguiram uma apresentam equação linear. Onde atingiu maior espessamento com 50 e 100% de adubo nas épocas 1 (309,64 μm) e 2 (309,59 μm) respectivamente (Tabela 9). Um parênquima clorofiliano mais espesso, favorece maior

produção de energia fotoquímica e contribui para o fluxo de CO₂ na folha (VOLTOLINI e SANTOS, 2011).

A variável espessura do limbo foliar para 50% de adubo, as épocas 1, 2 e 3 tiveram resultados significativos iguais, sendo 430,87 µm (época 3) o maior valor (Tabela 9 e Figura 7C). Para 100% de adubo teve o melhor resultado na época 4 com 480,65 µm (Tabela 9 e Figura 8D). Para 200% de adubo os melhores resultados foram nas épocas 2 (486,24 µm) e 4 (494,87 µm) (Tabela 9 e Figura 9B-D). O tratamento com 400% de adubo, as épocas 2 (299,09 µm) e 3 (296,75 µm) apresentaram os melhores resultados (Tabela 9 e Figura 10B-C). Para as concentrações de adubo dentro de cada época, observou-se que as respostas seguem uma apresentação equação quadrática. Com 494,87µm de espessura na época 3 com 200% de adubo (Tabela 9).

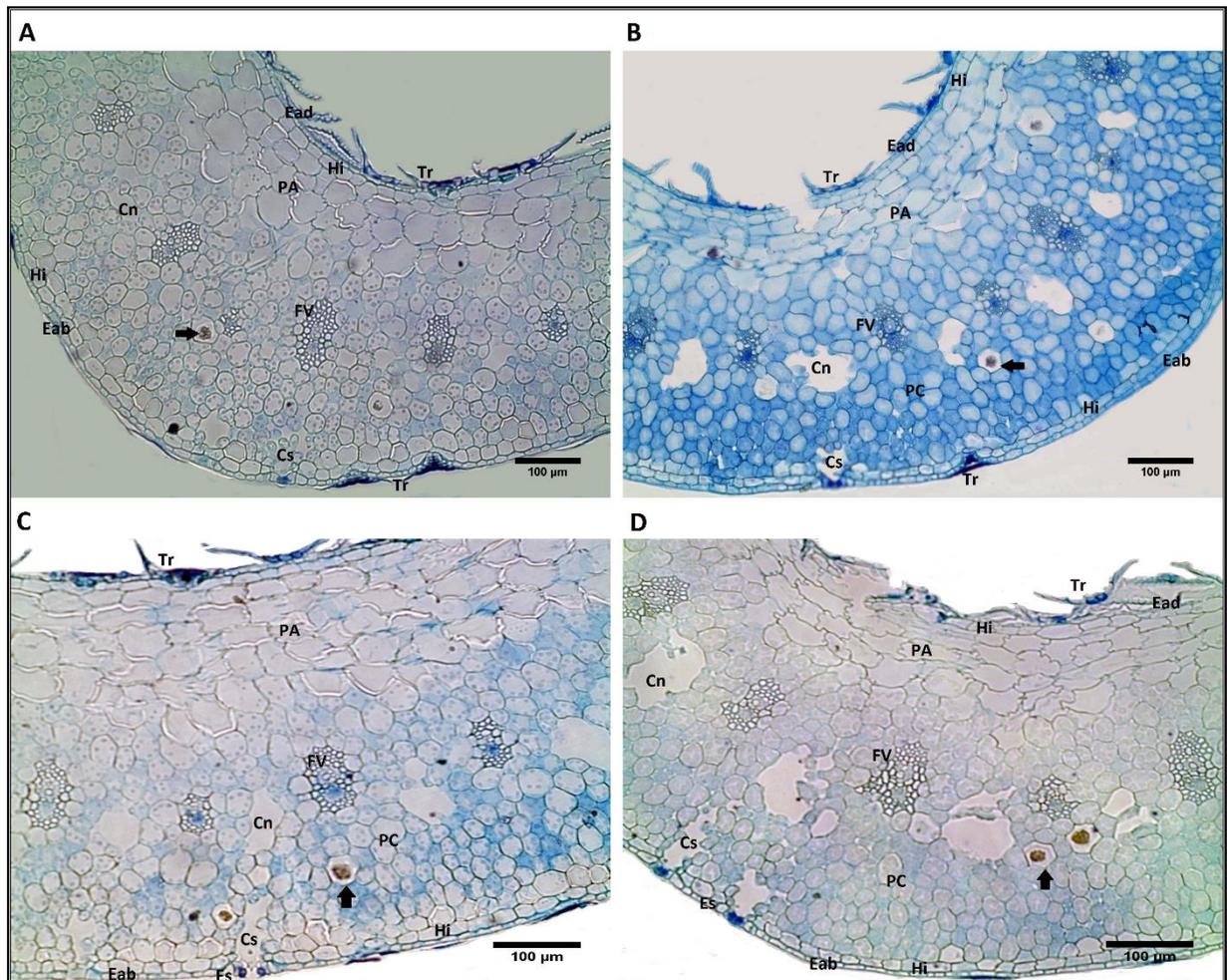


FIGURA 7. Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de *T. bulbosa* com 50% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) ½ no plantio e ½ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) 1/3 no plantio, 1/3 aos 50 DAP e 1/3 aos 100 DAP; (D) ¼ no plantio, ¼ aos 30 DAP, ¼ aos 60 DAP e ¼ aos 120 DAP. Objetiva 20x. Cn = canal de ar; Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; Ead = epiderme adaxial; Es = Estômato, FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima clorofiliano; Tr = tricomas; Setas = idioblasto com presença de drusa.

As epidermes adaxial e abaxial, as cutículas abaxial e adaxial, os parênquimas aquíferos e clorofiliano, o limbo foliar, a área dos feixes e foliar são reduzidos com a elevação da adubação, principalmente em relação a 400% de adubo. O aumento da adubação orgânica pode também provocar a alterações nas características anatômicas e na produção de biomassa respectivamente. Com isso, há necessidade do equilíbrio, em relação a quantidade de adubo

aplicado, para que se possa obter uma produção ótima, uma vez que o déficit (lei do mínimo) ou excesso de nutrientes (lei do máximo) acarretam desordens no crescimento de plantas (CORRÊA et al., 2009; CORRÊA et al., 2010).

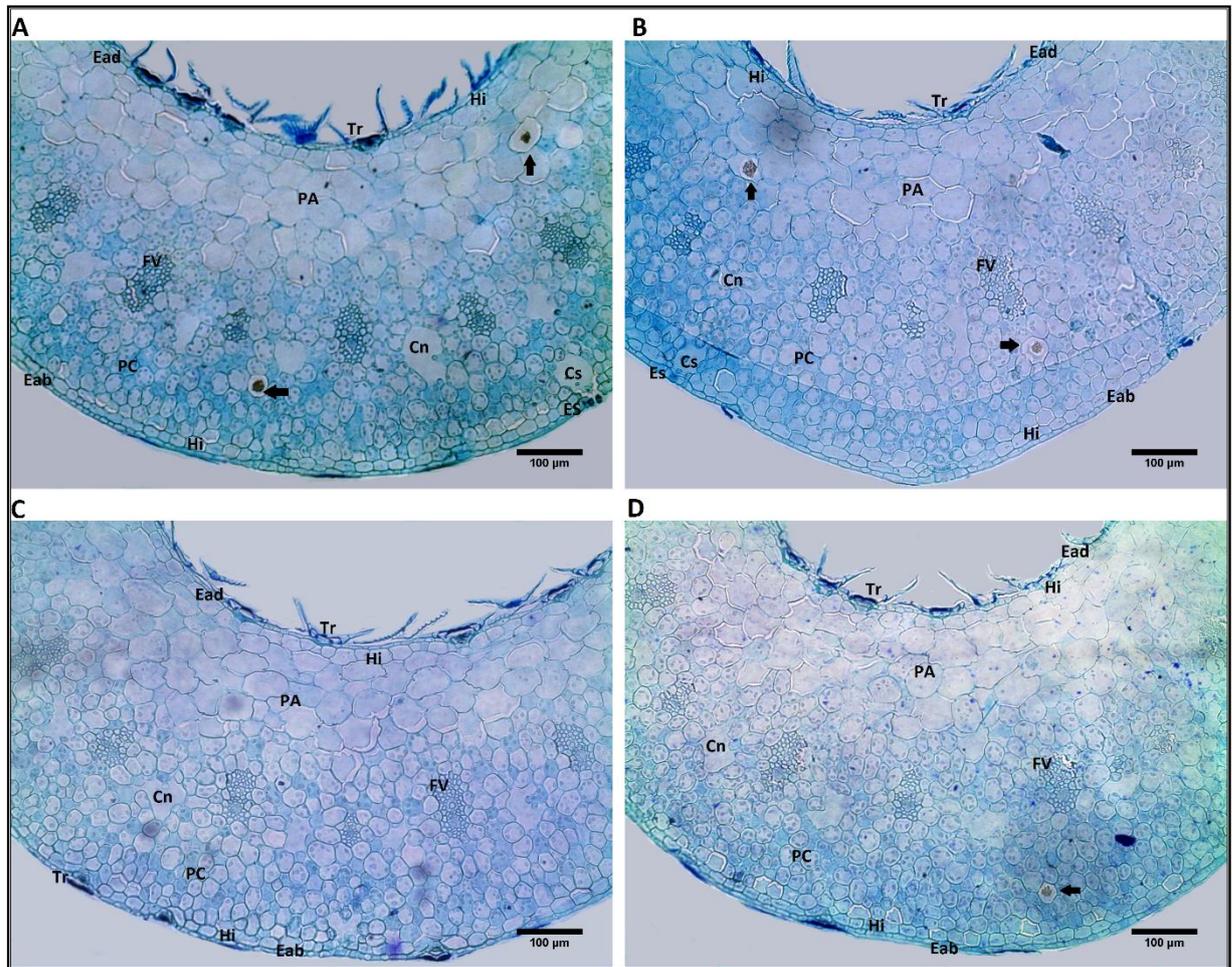


FIGURA 8. Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de *T. bulbosa* com 100% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) $\frac{1}{2}$ no plantio e $\frac{1}{2}$ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) $\frac{1}{3}$ no plantio, $\frac{1}{3}$ aos 50 DAP e $\frac{1}{3}$ aos 100 DAP; (D) $\frac{1}{4}$ no plantio, $\frac{1}{4}$ aos 30 DAP, $\frac{1}{4}$ aos 60 DAP e $\frac{1}{4}$ aos 120 DAP. Objetiva 20x. Cn = canal de ar; Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; Ead = epiderme adaxial; Es = Estômato, FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima clorofiliano; Tr = tricomas; Setas = idioblasto com presença de drusa.

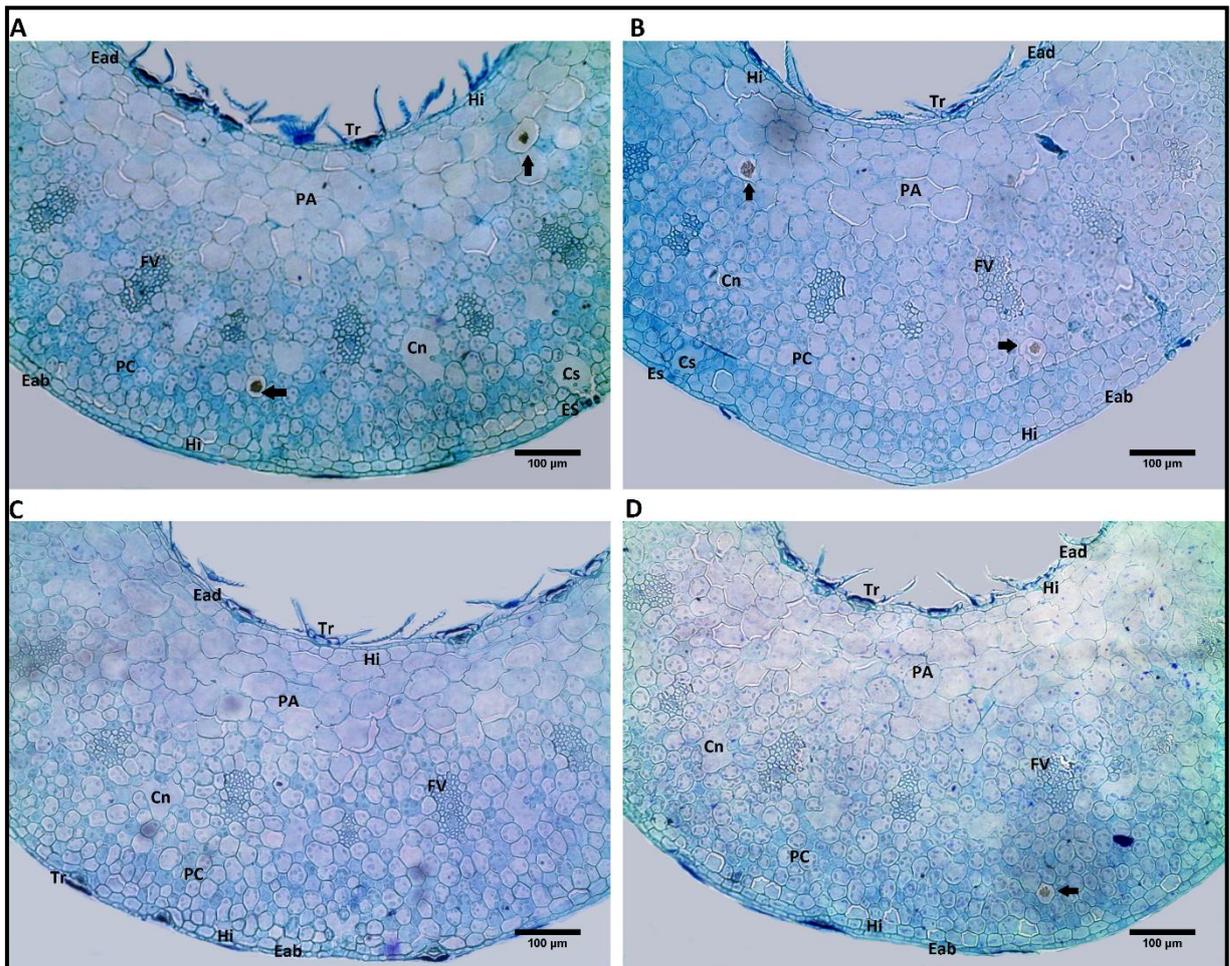


FIGURA 9. Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de *T. bulbosa* com 200% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) Aplicação Total no plantio; (B) $\frac{1}{2}$ no plantio e $\frac{1}{2}$ aos 80 DAP (dias após plantio); (C) $\frac{1}{3}$ no plantio, $\frac{1}{3}$ aos 50 DAP e $\frac{1}{3}$ aos 100 DAP; (D) $\frac{1}{4}$ no plantio, $\frac{1}{4}$ aos 30 DAP, $\frac{1}{4}$ aos 60 DAP e $\frac{1}{4}$ aos 120 DAP. Objetiva 20x. Cn = canal de ar; Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; Ead = epiderme adaxial; Es = Estômato, FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima clorofiliano; Tr = tricomas; Setas = idioblasto com presença de drusa.

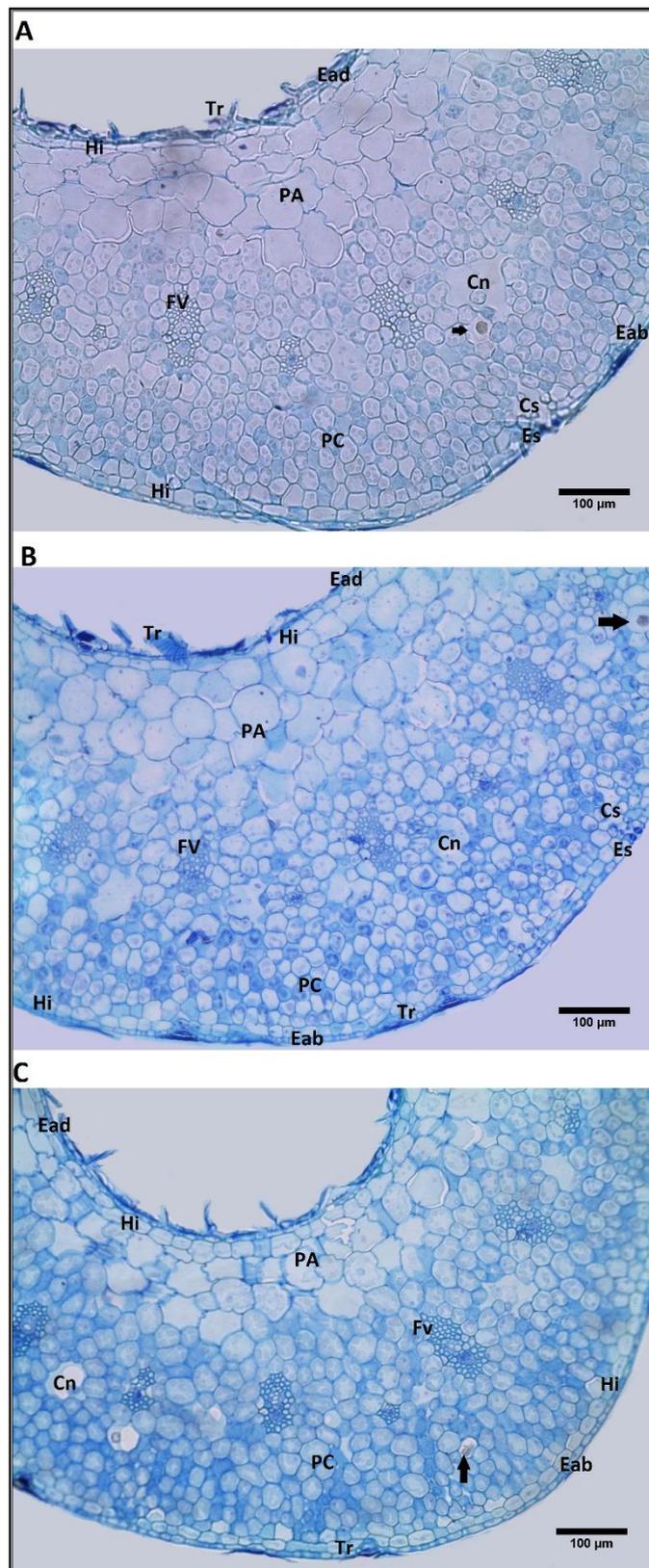


FIGURA 10. Detalhes do mesofilo em secção transversal de folhas de *T. bulbosa* com 400% de adubo em quatro épocas diferentes, (A) $\frac{1}{2}$ no plantio e $\frac{1}{2}$ aos 80 DAP (dias após plantio); (B) $\frac{1}{3}$ no plantio, $\frac{1}{3}$ aos 50 DAP e $\frac{1}{3}$ aos 100 DAP; (C) $\frac{1}{4}$ no plantio, $\frac{1}{4}$ aos 30 DAP, $\frac{1}{4}$ aos 60 DAP e $\frac{1}{4}$ aos 120 DAP. Objetiva 20x. Cn = canal de ar; Cs = câmara subestomática; Eab = epiderme abaxial; Ead = epiderme adaxial; Es = Estômato, FV= feixe vascular; Hi = hipoderme; Pa = parênquima aquífero; Pc = parênquima clorofiliano; Tr = tricomas; Setas = idioblasto com presença de drusa.

5. CONCLUSÕES

As diferentes misturas de substratos utilizados no presente estudo, responderam de forma similar na aclimatização das plântulas de *T. bulbosa*.

A partir de 60 dias da aclimatização, as plantas apresentam características anatômicas que podem favorecer a adaptação delas às condições de campo.

Para adubação de plântulas de *T. bulbosa* na fase de aclimatização, recomenda-se 50 e 100% de adubo a base de nitrogênio, fósforo e potássio aplicadas no plantio sem haver a necessidade do parcelamento.

As epidermes adaxial e abaxial, as cutículas abaxial e adaxial, os parênquimas aquífero e clorofiliano, e o limbo foliar foram reduzidos com o aumento das concentrações de adubo, influenciando no desenvolvimento e no espessamento celular de mudas de *T. bulbosa*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.; LEITE, B.; MARUCCI, R.C.; PASCHOLATI, S.F.; LOPES, J.R.S.; ANDERSEN P.C. Retention sites for *Xylella fastidiosa* in four sharpshooter vectors (Hemiptera: Cicadellidae) analyzed by scanning electron microscopy. **Current Microbiology**, n. 56, p. 531–538, 2008.

AMARAL, T.L.do; JASMIM, J.M.; ARAÚJO, J.S.de.P.; THIÉBAUT, J.T.L; COELHO, F.C.; FREITAS, C. B.de. Fertilization of orchids in substrates with coconut fiber. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 11-19, 2010.

AMARAL, T.L.do; JASMIM, J.M; NAHOUM, P.I; FREITAS, C.B; SALES, C.S. Adubação nitrogenada e potássica de bromeliáceas cultivadas em fibra de coco e esterco bovino. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 286-289, 2009.

AOYAMA, E.M.; SAJO, M. das G. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 4, p. 461-473, 2003.

BADER, M.Y.; MANKE, G.; ZOTZ, G. Pronounced drought tolerance characterizes the early life stages of the epiphytic bromeliad *Tillandsia flexuosa*. **Functional Ecology**, v. 23 p. 472–479, 2009.

BARBOZA, S.B.S.C., RIBEIRO, D.G., TEIXEIRA, J.B., PORTES, T.A., SOUZA, L.A.C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 185, 2006.

BARFUSS, M.H.J.; SAMUEL, R.; TILL, W.; STUESSY, T.F. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 2, p. 337–351, 2005

BATAGIN, K.D.; ALMEIDA, C.V. de; TANAKA, F.A.O.; ALMEIDA, M. de. Alterações morfológicas foliares em abacaxizeiros cv. IAC “Gomo-de-mel” micropropagados e aclimatizados em diferentes condições de luminosidade. **Acta Botanica Brasílica**, v. 23 n. 1, p. 85-92, 2009.

BENZING, D.H. Vegetative structure. **In: Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation.** (Ed.): BENZING, D.H. Cambridge: Cambridge University Press, 2000, p. 19-77.

BENZING, D.H.; BURT, K.M. Foliar permeability among twenty species of the Bromeliaceae. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v. 97, p. 269-279, 1970.

BERILLI, S.S.; CARVALHO, A.J.C. DE; FREITAS, S.J.; FARIAS, D.C.; MARINHO, C.S. Avaliação do desenvolvimento de diferentes tamanhos de mudas micropropagadas de abacaxizeiro, após aclimação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 208-214, 2011.

BRAGA, F.T.; PASQUAL M.; CASTRO, E.M.; RAFAEL, G.C. Características morfofisiológicas de abacaxizeiro ‘gomo de mel’ enraizado in vitro sob luz natural e substrato vermiculita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 551-557, 2011.

BREGONCI, I. dos S.; SCHMILDT, E.R.; COELHO, R.I., REIS, E.F. dos; BRUM, V.J.; SANTOS, J.G. dos. Adubação foliar com macro e micronutrientes no crescimento de mudas micropropagadas do abacaxizeiro cv. Gold (*Ananas comosus* (L.) Merrill) em diferentes recipientes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 705-711, 2008.

CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009, p. 234.

CASSON, S.; GRAY, J.E. Influence environmental factors on stomatal development. **New Phytologist**, Cambridge, v.178, p.9-23, 2008.

CHEW, T.; LUNA, E. de.; GONZÁLEZ, D. Phylogenetic relationships of the pseudobulbous *Tillandsia* species (bromeliaceae) inferred from cladistic analyses of its 2, 5.8S ribosomal RNA gene, and ets sequences. **Systematic Botany**, v. 35, n. 1, p. 86–95, 2010.

CORRÊA, R.M.; PINTO, J.E.B.P.; REIS, E.S.; OLIVEIRA, C.de; BRANT, R. da. Características anatômicas foliares de plantas de orégano *Origanum vulgares* L. submetidas a diferentes fontes e níveis de adubação orgânica. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 439-444, 2009.

CRAYN, D.M.; WINTER, K.; SMITH, J.A.C. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. **Pnas**, v. 110, n. 10, p. 3703-3708, 2004.

DINIZ, K.A.; GUIMARÃES, S.T.M.R.; LUZ, J.M.Q. Húmus como substrato para a produção de mudas de tomate, pimentão e alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 3, p. 63-70, 2006.

FERREIRA, C.A.; PAIVA, P.D. de O.; RODRIGUES, T.M.; RAMOS, D.P.; CARVALHO, L.G.; PAIVA, R. Desenvolvimento de mudas de bromélia (*Neoregelia cruenta* (R. Graham) L. B. Smith) cultivadas em diferentes substratos e adubação foliar. **Ciências e Agrotecnologia**. Lavras, v. 31, n. 3, p. 66-67, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FREITAS, S.J.; CARVALHO, A.J.C. de; BERILLI, S. da S.; SANTOS, P.C.; MARINHO, C.S. Substratos e Osmocote® na nutrição e desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Vitória. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 33:672-679, 2011.

FREITAS, S.J.; SANTOS, P.C.; CARVALHO, A.J.C. de; BERILLI, S.S.; GOMES, M.M.A. Brassinosteroide e adubação nitrogenada no crescimento e estado nutricional de mudas de abacaxizeiro provenientes do seccionamento de caule. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, 34(2):612-618, 2012.

FIORATO, L. **O gênero *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) no estado da Bahia, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) Instituto de Botânica de São Paulo-SP, 2009.

GIVNISH, T.J.; MILLAM, K.C.; BERRY, P.E.; SYTSMA, K.J. "Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data," **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany**, v. 23, n. 1, p. 3-26, 2007.

GIVINISH, T.J.; BARFUSS, M.H.J.; VANEE, B.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; PHILIP, A.; GONSISKA, P.A.; JABAILY, R.S.; CRAYN, D.M.; SMITH, A.C.; WINTER, K.; BROWN, G.K.; EVANS, T.M.; HOLST, B.K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, 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**, v. 98, n. 5, p. 1-24, 2011.

HAZARIKA, B.N. Morphophysiological disorders *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 2, p. 105-120, 2006.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill, New York, 1940, p. 523.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology**, n. 27, p. 137-138, 1965.

KEELEY, J.E.; RUNDEL, P.W. Evolution of CAM and C4 carbon concentrating mechanisms. **International Journal of Plant Science**, v. 164, n. 3, p. 55-77, 2003.

KIEVITSBOSCH, J.T. **Cultivo in vitro e desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae com potencial ornamental**. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2011.

KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Seropédica, 1997, p. 198.

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

LI, P.; PEMBERTON, R.; ZHENG, G. Foliar trichome-aided formaldehyde uptake in the epiphytic *Tillandsia velutina* and its response to formaldehyde pollution. **Chemosphere**, n. 119, p. 662–667, 2015.

LONE, A.B.; TAKAHASHI, L.S.A.; FARIA, R.T. de; ASSIS A.M.de; UNEMOTO, L.K. Desenvolvimento vegetativo de orquídeas submetidas a diferentes formulações de macronutrientes e frequências de adubação durante a fase de aclimatização. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 895-900, 2010.

LUDWIG, FERNANDES, D.M.; GUERREIRO, A.C.; VILLAS BÔAS, R.L. Características dos substratos na absorção de nutrientes e na produção de gérbera de vaso. **Horticultura brasileira**, v. 32, n. 2, p. 184-189, 2014.

LÜTTGE, U. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). **Annals of Botany**, v. 93, p. 629-652, 2004.

LÜTTGE, U. Ability of crassulacean acid metabolism plants to overcome interacting stresses in tropical environments. **Aobplants**, v. 2010, p. 1-15, 2011.

MALAVOLTA, E. **Elementos da nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980, p. 251.

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic Press, 1995, p. 889.
- MARTINELLI, G.; VIEIRA, C.M.; GONZALEZ, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A.F.; FORZZA, R.C. Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 1, p. 209-258, 2008.
- MARTINS, J.P.R.; PASQUAL, M.; MARTINS, A.D.; RIBEIRA, S.F. Effects of salts and sucrose concentrations on *in vitro* propagation of *Billbergia zebrina* (Herbert) Lindley (Bromeliaceae). **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 1, p. 85-91, 2015.
- MARTINS, J.P.R.; SCHMILDT, E.R.; ALEXANDRE, R.S.; CASTRO, E.M. de; NANI, T.F.; PIRES, M.F.; PASQUAL, M. Direct organogenesis and leaf-anatomy modifications *in vitro* of *Neoregelia concentrica* (Vellozo) L.B. Smith (Bromeliaceae). **Pakistan Journal of Botany**, v. 46, n. 6, p. 2179-2187, 2014.
- MOREIRA, M.A.; CARVALHO, J.G.; FRÁGUAS, C.B.; PASQUAL, M. Respostas à adubação NPK de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola em fase de aclimatização. **Plant Cell, Culture and Micropropagation**, v. 3, p. 17-22, 2007.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NYMAN, L.P.; DAVIS, J.P.; O'DELL, S.J.; ARDITTI, J.; STEPHENS, G.C.; BENZING, D.H. Active Uptake of Amino Acids by Leaves of an Epiphytic Vascular Plant, *Tillandsia paucifolia* (Bromeliaceae). **Plant Physiology**, Rockville, v. 83, p. 681-684, 1987.
- NORUMA, E.S.; LIMA, J.D.; GARCIA, V.A.; RODRIGUES, D. S. Crescimento de mudas micropropagadas da bananeira vc. Nanicão, em diferes substratos e fontes de fertilizantes. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30 n. 3, p. 359-363, 2008.
- OLIVEIRA, A.B.de;HERNANDEZ F.F.F. Absorção de nutrientes em mudas de berinjela cultivadas em substratos alternativos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 4, p. 583-589, 2008.
- OLIVEIRA, K.S.de; ALOUFA, M.A.I. Influência de substratos na germinação de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan em condições de casa de vegetação. **Revista Árvore**, v. 36, n. 6, p. 1073-1078, 2012.
- PAULA, C.C. de. **Cultivo de bromélias**. Editora Aprenda Fácil. Viçosa. 2000.
- PITA, P.B.; MENEZES N.L. Anatomia da raiz de espécies de *Dyckia* Schult. f. e *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), com especial referência ao velame 1. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 25-34, 2002.
- PROENÇA, S.L.; SAJO, M.G. Anatomia foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 657-673, 2007.
- RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.; HIROTA, M.M. Brazilian Atlantic forest: how much is left and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1141-1153, 2009.

RIBEIRO, M.N.O.; CARVALHO, S.P.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E.M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 354-361, 2012.

ROSOLEM, C.A.; LEITE, V.M. Coffee leaf and stem anatomy under boron deficiency. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 3, p. 477-483, 2007.

SANTOS, F.C; TECHIO, V.H; FREITAS, A.S; CASTRO, E.M; DAVIDE, L.V; SOUZA SOBRINHO, F. Adaptive leaf anatomical characteristics of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) genotypes in different environments. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 35, n. 4, p. 579-58, 2013.

SANTOS, F.H.S.; ALMEIDA, E.F.A.; FRAZÃO, J.E.M.; REIS, S.N.; NASCIMENTO, A.M.P. do. Adubação nitrogenada via substrato no cultivo de bromélia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 185-192, 2015.

SCATENA, L.V.; SEGECIN, S. Anatomia foliar de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 3, p. 635-649, 2005.
SCATENA, L.V.; SEGECIN, S. Morfoanatomia de rizomas e raízes de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 18, n. 2, p. 253-260, 2004.

SILVA, A.B.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A.G.; BRAGA, F.T.; CASTRO, E.M.; ALBERT, L.H.B. Morfofisiologia e anatomia foliar de mudas micropropagadas e aclimatizadas de abacaxizeiro cv. *Smooth Cayenne* em diferentes substratos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 5, p. 580-586, 2012.

SILVA, A.B.; PASQUAL, M.; CASTRO, E.M.; MIYATA, L.Y.; MELO, L.A.; BRAGA, F.T. Luz natural na micropropagação do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr). **Interciência**, v. 33, p. 839-843, 2008.

TAVARES, A.R; GIAMPAOLI, P; KANASHIRO, S; AGUIAR, F.F.A; CHU, E.P. Efeito da adubação foliar com KNO₃ na aclimatização de bromélia cultivada *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 175-179, 2008.

TILL, W. Tillandsioideae. In: BENZING, D. H. *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. **Cambridge University**, p. 555-569, 2000.

VOLTOLINI, C.H.; SANTOS, M. Variações na morfoanatomia foliar de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae) sob distintas condições ambientais. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 2-10, 2011.

WEST-EBERHARD, M.; SMITH, J.A.; WINTER, K. Photosynthesis, reorganized. **Science**, v. 332, p. 311-312, 2011.

ANEXOS

TABELA 1A. Resumo da análise de variância das variáveis sobrevivência (%), número de folhas comprimento (cm) da raiz e da parte aérea de mudas de *Tillandsia bulbosa* micropropagadas sob a influência de adubação com NPK na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM			
		Sobrevivência (%)	Comprimento (cm)		Número de Folhas
			Raiz	Parte Aérea	
Tratamento	4	20.000000 ^{ns}	0.318370 ^{ns}	1.983430 ^{ns}	3.053000 ^{ns}
Erro	15	20.000000	0.412460	3.192167	2.532000
CV (%)		4.52	22.69	14.10	18.68

TABELA 2A. Resumo da análise de variância das variáveis, massa (mg) fresca e seca da parte aérea e da raiz de mudas de *Tillandsia bulbosa* micropropagadas sob a influência de adubação com NPK na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM			
		Massa Fresca (mg)		Massa Seca (mg)	
		Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea	Raiz
Tratamento	4	5.451255 ^{ns}	0.095088*	0.062770 ^{ns}	0.001068 ^{ns}
Erro	15	55.276551	0.029349	0.072883	0.000482
CV (%)		18.18	30.18	23.46	28.44

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 3A. Resumo da análise de variância das variáveis área foliar (mm²), espessuras (µm) das epidermes abaxial e adaxial demudas de *Tillandsia bulbosa* em função do tempo de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM		
		Área foliar (mm ²)	Espessura de epiderme (µm)	
			Abaxial	Adaxial (µm)
Tempo	3	56947286.850000*	0.172045*	0.198573*
Erro	16	848420.275000	0.005895	0.048893
CV (%)		4.89	1.25	4.46

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 4A. Resumo da análise de variância das variáveis, área (µm²) do feixe vascular, espessuras (µm) dos parênquimas aquífero e clorofiliano demudas de *Tillandsia bulbosa* em função do tempo de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM		
		Área do feixe vascular (µm ²)	Espessura do parênquima (µm)	
			Aquífero	Clorofiliano
Tempo	3	923153.400000*	3547.779793*	19833.325978*
Erro	16	35366.250000	39.518337	243.928173
CV (%)		12.48	5.97	6.45

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 5A. Resumo da análise de variância das variáveis espessuras (μm) das cutículas abaxial e adaxial e espessura (μm) do limbo foliar de mudas de *Tillandsia bulbosa* em função do tempo de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM		
		Espessura (μm)		
		Cutícula abaxial	Cutícula adaxial	Cutícula abaxial
Tempo	3	0.019127*	0.028045*	38440.683245*
Erro	16	0.001415	0.001683	359.29740
CV (%)		3.13	3.72	5.25

*Significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 6A. Resumo da análise de variância das variáveis sobrevivência (%), número de folhas comprimento (cm) da raiz e da parte aérea de mudas de *Tillandsia bulbosa* micropropagadas sob a influência de adubação com NPK na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM			
		Sobrevivência (%)	Comprimento (cm)		Número de Folhas
			Raiz (cm) ¹	Parte Aérea (cm)	
NPK	3	11875.000000*	2.885366*	141.845768*	228.358073*
Aplicação (A)	3	729.166667*	0.024966 ^{ns}	2.660768 ^{ns}	17.066406 ^{ns}
NPK x (A)	9	937.500000*	0.209969*	14.758997*	24.840712*
Erro	48	234.375000	0.087261	6.534648	7.621094
CV (%)		18.84	17.10	29.25	25.19

*Significativo a 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $\sqrt{x+0,5}$.

TABELA 7A. Resumo da análise de variância das variáveis, massa (mg) fresca e seca da parte aérea e da raiz de mudas de *Tillandsia bulbosa* micropropagadas sob a influência de adubação com NPK na fase de aclimatização. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM				
		Massa Fresca (mg)		Massa Seca (mg)		Raiz/Parte Aérea (mg) ¹
		Parte Aérea ¹	Raiz ¹	Parte Aérea ¹	Raiz ¹	
NPK	3	1997.921245*	69.845046*	297.355740*	22.431065*	0.002434*
Aplicação (A)	3	160.064021 ^{ns}	0.482611 ^{ns}	24.547594 ^{ns}	0.778075 ^{ns}	0.000348 ^{ns}
NPK x A	9	289.860669*	3.662122 ^{ns}	44.007430*	1.098811 ^{ns}	0.000359 ^{ns}
Erro	48	61.894072	3.522132	10.203173	0.987531	0.000222
CV (%)		20.00	36.85	20.67	33.13	2.04

*Significativo a 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $\sqrt{x+0,5}$.

Tabela 8A. Resumo da análise de variância das variáveis área foliar (mm^2), área do feixe vascular (μm^2), de mudas de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de doses de NPK. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM	
		Área Foliar (mm^2)	Área do Feixe Vascular (μm^2)
NPK	3	337755250.604167*	12786002.520833*
Aplicação (A)	3	138656355.229167*	1111186.770833*
NPK x A	9	90685430.048611*	436015.506944*
Erro	48	2338109.218750	22179.229167
CV (%)		7.58	6.77

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 9A. Resumo da análise de variância das variáveis espessuras (μm) das epidermes abaxial e adaxial e espessuras (μm) das cutículas abaxial e adaxial e dos parênquimas aquífero e clorofiliano demudas de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de doses de NPK. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM			
		Espessura da Epiderme (μm)		Espessura da Cutícula (μm)	
		Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial
NPK	3	56.65877*	20.936821*	1.695568*	0.976239*
Aplicação (A)	3	4.079410*	4.475854*	0.321356*	0.221097*
NPK x A	9	9.873409*	5.929267*	0.488465*	0.316650*
Erro	48	0.098399	0.054524	0.010609	0.004103
CV (%)		4.94	4.86	7.78	5.60

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 10A. Resumo da análise de variância das variáveis espessuras (μm) dos parênquimas aquífero e clorofiliano e do limbo foliar demudas de *Tillandsia bulbosa* em função do parcelamento de NPK. São Cristóvão - SE, UFS, 2016.

FV	GL	QM		
		Espessura do Parênquima (μm)		Espessura do Limbo (μm)
		Aquífero	Clorofiliano	
NPK	3	22093.227013*	99937.723579*	208580.317179*
Aplicação (A)	3	4749.741342*	13116.411996*	33605.337979*
NPK x A	9	3410.842401*	6802.926747*	19607.173494*
Erro	48	47.088431	66.395153	144.911880
CV (%)		5.70	3.28	3.15

*Significativo a 5% de probabilidade.