

## Diagnose foliar em plantas da bromélia *Nidularium minutum* Mez cultivadas em meio de Murashigue & Skoog

Sabrina Vanessa de Andrade<sup>(1)</sup> & Vívian Tamaki<sup>(1)</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, São Paulo, SP. E-mail para contato: andrade.sabrina@hotmail.com

**Resumo:** Os experimentos que avaliam o crescimento das espécies vegetais cultivadas *in vitro*, em sua maioria, utilizam como parâmetros dados biométricos, incremento celular e teores de pigmentos fotossintéticos. Se a finalidade for maximizar a produção, a determinação dos teores endógenos de macronutrientes foliares é recomendada para avaliar o estado nutricional das plantas. Para melhor entendimento da dinâmica de absorção de nutrientes pela espécie *Nidularium minutum* Mez, o objetivo desse trabalho foi realizar diagnose foliar em plantas cultivadas *in vitro* em meio Murashige & Skoog (MS) e algumas diluições dos macronutrientes (1/2, 1/5 e 1/10). Sementes foram depositadas em placa de Petri contendo meio de cultura cuja formulação continha água, sacarose e Agar. Após 30 dias as plântulas obtidas foram transferidas para frascos contendo 40 mL de meio MS, MS/2, MS/5 e MS/10 e permaneceram em sala de cultura com fotoperíodo de 12h, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e a temperatura de  $26\pm 2$  °C por 180 dias. Os resultados mostraram que a assimilação dos macronutrientes nas plantas seguem a tendência  $\text{N} > \text{K} > \text{P} > \text{S} > \text{Ca} > \text{Mg}$ .

**Palavras-Chave:** Bromeliaceae; análise foliar; nutrição mineral; ameaçada de extinção

### INTRODUÇÃO

Bromélias são plantas perenes com inflorescências vistosas e de fácil adaptação, por isso são muito utilizadas em decoração de ambientes. A grande procura por essas plantas aumentam o risco de extinção, pois a produção não atende a demanda. De acordo com Pereira *et al.* (2010), poucas espécies de bromélias são produzidas em escala comercial, devido à disponibilidade e fácil retirada do habitat natural.

Muitas espécies estão sendo estudadas a fim de desenvolver protocolos que favoreçam o

cultivo dessas plantas. Entre elas, está a espécie *Nidularium minutum* Mez, planta endêmica da região de Paranapiacaba, área de Mata Atlântica do Estado de São Paulo. Esta planta possui um grande potencial ornamental por se desenvolver a sombra, sendo uma ótima opção para o mercado paisagístico, entretanto, a espécie faz parte da lista de bromélias ameaçadas de extinção (Wanderley & Tavares 2011; Mamede *et al.* 2007), assim pesquisas sobre o seu cultivo são importantes.

Estudos estão sendo realizados com esta bromélia a fim de entender suas exigências nutricionais e, conseqüentemente, melhorar a produção, conseguindo-se assim, mais exemplares. No entanto, até o momento, não foram descritas análises de macronutrientes endógenos para *N. minutum*.

O cultivo *in vitro* é uma ferramenta que tem contribuído de forma significativa para o entendimento das exigências nutricionais da espécie, contribuindo assim, para sua conservação e produção. Para essa técnica são utilizados vários tipos de meios nutritivos, sendo o Murashige & Skoog (MS) (1962) o mais utilizado (Aranda-Peres *et al.* 2009), por conter concentrações balanceadas de nutrientes, que normalmente são favoráveis ao crescimento das espécies. Em sua formulação estão presentes macro e micronutrientes, vitaminas e uma fonte de carboidrato na forma de sacarose.

De acordo com Ashrafi *et al.* (2010), a análise de nutrientes endógenos de várias partes do vegetal tem sido descrito para a otimização de meios de cultura e conseqüentemente, melhora da produção. Existem vários métodos para avaliar o estado nutricional das plantas, sendo os mais utilizados a diagnose foliar (análise de tecidos vegetais), diagnose visual (análise de coloração, tamanho e forma) e teor de clorofila (pigmentos fotossintéticos).

A diagnose foliar é importante quando a finalidade é maximizar a produtividade. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi realizar diagnose foliar em plantas da bromélia *Nidularium minutum* Mez

cultivadas *in vitro* em meio Murashige & Skoog (MS) e algumas diluições (1/2, 1,5 e 1/10).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais do Instituto de Botânica, em São Paulo-SP.

Plântulas foram obtidas a partir de sementes germinadas em 20 mL de meio de cultura composto apenas por água, sacarose (30 g.L<sup>-1</sup>) e ágar (5 g.L<sup>-1</sup>), permanecendo em sala de cultura com fotoperíodo de 12 horas, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de 30 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e temperatura de 26±2 °C por 30 dias. Após este período as plântulas foram transferidas para frascos contendo 40 mL de meio MS (Tabela 1) e diluições: MS/2 - 50% concentração de macronutrientes, MS/5 - 20% concentração de macronutrientes e MS/10 - 10% concentração de macronutrientes (Tabela 2).

**Tabela 1.** Concentrações de macronutrientes (g.L<sup>-1</sup>) e micronutrientes (mg.L<sup>-1</sup>) contidas na formulação do meio de Murashige & Skoog (MS) (1962).

| SAIS  | QUANTIDADE                 |
|---|----------------------------|
| <b>Macronutrientes</b>                              | <b>(g.L<sup>-1</sup>)</b>  |
| KNO <sub>3</sub>                                    | 1,90                       |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                     | 1,65                       |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                | 0,44                       |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | 0,37                       |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 0,17                       |
| <b>Micronutrientes</b>                              | <b>(mg.L<sup>-1</sup>)</b> |
| MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O                | 22,30                      |
| ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | 8,60                       |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                      | 6,20                       |
| KI  | 0,83                       |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0,25                       |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O                | 0,25                       |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                | 0,25                       |

**Tabela 2.** Concentrações de íons em mM nos meios: Murashige & Skoog (MS completo), MS/2 (50% concentração de macronutrientes), MS/5 (20% concentração de macronutrientes) e MS/10 (10% concentração de macronutrientes).

N - nitrogênio; P - fósforo; K - potássio; Ca - cálcio; Mg - magnésio; S - enxofre

Vale ressaltar que as alterações só foram realizadas nas concentrações dos macronutrientes, permanecendo os demais

componentes do meio MS nas concentrações originais.

Cada tratamento continha 20 frascos com cinco plântulas em cada frasco que permaneceram nas mesmas condições de cultivo descritas para obtenção de plântulas.

A coleta para análise de teores de macronutrientes endógenos ocorreu após 180 dias de cultivo.

Para obtenção da amostra o material foliar permaneceu em estufa a 60 °C até obtenção de massa constante, sendo em seguida triturado em moinho de bola e encaminhado para análise.

### Análise estatística

Não foi possível realizar a análise estatística, devido à insuficiência de material para se conseguir amostras em triplicatas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A diagnose foliar é um método que favorece o entendimento nutricional das plantas, isso porque são nas folhas que ocorrem os principais processos metabólicos, constituindo uma das principais fontes de fotoassimilados e nutrientes, que são vitais para adaptação da planta no pós-plantio (Bellote & Silva 2000). Portanto, é o órgão que melhor representa o estado nutricional da planta.

O meio MS completo possui 60,05 mM de nitrogênio (N), 20,07 mM de potássio (K), 3,00 mM de cálcio (Ca), 1,50 mM de magnésio (Mg), 1,50 mM de enxofre (S) e 1,26 mM de fósforo (P). Com os resultados foi possível constatar que as concentrações dos macronutrientes pelas plantas de *N. minutum* cultivadas *in vitro* seguiu a tendência N>K>P>S>Ca>Mg (Tabela 3), não correspondendo, totalmente, à disponibilidade dos nutrientes presentes no meio. Essa tendência demonstra que a disponibilidade de um determinado íon em maior quantidade no meio, nem sempre resultará em maior assimilação deste nutriente pelas plantas.

| ÍONS | TRATAMENTOS (mM) |       |       |       |
|------|------------------|-------|-------|-------|
|      | MS               | MS/2  | MS/5  | MS/10 |
| N    | 60,05            | 30,03 | 12,01 | 6,00  |
| K    | 20,07            | 10,04 | 4,01  | 2,01  |
| Ca   | 3,00             | 1,50  | 0,60  | 0,30  |
| P    | 1,25             | 0,63  | 0,25  | 0,13  |
| Mg   | 1,50             | 0,75  | 0,30  | 0,15  |
| S    | 1,50             | 0,75  | 0,30  | 0,15  |

**Tabela 3.** Conteúdo de macronutrientes foliares de plantas de *Nidularium minutum* Mez cultivadas *in vitro* por 180 dias em meio MS completo, MS/2 (50% concentração de macronutrientes), MS/5 (20% concentração de macronutrientes) e MS/10 (10% concentração de macronutrientes).

|       | MACRONUTRIENTES (g Kg <sup>-1</sup> ) |      |       |      |      |      |
|-------|---------------------------------------|------|-------|------|------|------|
|       | N                                     | P    | K     | Ca   | Mg   | S    |
| MS    | 37,35                                 | 7,90 | 19,89 | 1,35 | 1,10 | 2,37 |
| MS/2  | 27,16                                 | 4,47 | 17,60 | 1,80 | 0,70 | 2,00 |
| MS/5  | 24,78                                 | 4,29 | 18,36 | 1,70 | 0,70 | 2,28 |
| MS/10 | 20,31                                 | 2,71 | 19,13 | 1,35 | 0,50 | 2,53 |

N - nitrogênio; P - fósforo; K - potássio; Ca - cálcio; Mg - magnésio; S - enxofre

Análises realizadas pelo Laboratório Esalq/ USP.

A concentração de N nos tecidos foliares das plantas de *N. minutum* foi maior quando comparado aos demais nutrientes 37,35 g Kg<sup>-1</sup> de massa seca em meio MS, seguindo a mesma tendência das concentrações presentes nos meios, ou seja, MS>MS/2>MS/5>MS/10. Embora a redução na quantidade de N presente nos meios tenha decrescido drasticamente com as diluições, quando se compara os teores acumulados no tecido foliar constata-se que as plantas utilizaram o N disponível no meio de forma eficiente. Esse resultado demonstra que a espécie, assim como a maioria dos vegetais, requer uma maior quantidade deste nutriente.

Os teores de P presentes nas plantas seguiram a tendência dos teores de N, ou seja, decresceram conforme as diluições dos macronutrientes. Spironello *et al.* (2004) ao estudarem o cultivo de abacaxizeiro com diferentes doses de N (0≤N≤70kgN/ha), observaram que o teor de P nas folhas decrescia com o aumento da dose de N. Resultado que difere do encontrado neste estudo, pois com o incremento da concentração de N, a quantidade endógena de P aumentou nas plantas de *N. minutum*.

Em relação à presença de K nos tecidos foliares das plantas, foi possível verificar que as concentrações não seguiram a tendência da disponibilidade do nutriente no meio de cultura. As concentrações endógenas deste macronutriente ficaram, praticamente, inalteradas nas plantas de todos os tratamentos.

Sugere-se que os altos teores de K nos tecidos foliares de *N. minutum*, mesmo quando cultivadas em meio MS/10, ocorreram pelo uso eficiente deste nutriente pelas plantas. De acordo com Mendes *et al.* (2012), quando um determinado nutriente está presente nos tecidos foliares em maior concentração em relação aos demais, mesmo sob condições desfavoráveis, se deve, provavelmente à maior exigência da cultura a esse nutriente.

Os baixos teores de Ca no tecido foliar podem evidenciar pouca absorção do nutriente pelas plantas, por se um cátion com pouca mobilidade, cuja absorção ocorre pelas raízes jovens, enquanto não estão suberizadas. Podendo ainda ocorrer pela competição com outros íons como NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Al<sup>+3</sup> e Mn<sup>+2</sup>, que e em altas concentrações comprometem a absorção do Ca (Malavolta 2006). Kurita & Tamaki (2014) ao estudarem a bromélia *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms em diferentes concentrações de N (0≤N≤175 mM), constataram que os teores de Ca reduziram conforme o incremento de N no meio de cultura, resultado que difere do encontrado com a espécie *N. minutum*.

As baixas concentrações nos teores de Mg também podem indicar competição com os íons K<sup>+</sup> e Ca ou ainda com o P.

Os teores de S nos tecidos foliares foram superiores aos teores de Ca e Mg. Dado importante, pois para a maioria das plantas a concentração de S na matéria seca é inferior às concentrações desses cátions (Epstein 1999). Entretanto, esse acúmulo superior em relação ao Ca e Mg pode estar relacionado a importância desse nutriente na formação de proteínas, coenzimas, vitaminas, os quais são essenciais ao metabolismo.

Com esses resultados, recomenda-se a elaboração de um meio com alterações nas concentrações de alguns macronutrientes presentes no meio MS. Sugere-se a redução na concentração de K e S para 1/10 do MS, Ca para 1/5 do MS, mantendo-se as concentrações originais de N, P e Mg.

## CONCLUSÕES

A diagnose foliar é fundamental para compreender os requerimentos nutricionais das plantas.

Alterações nas concentrações dos sais presentes no meio MS podem ser favoráveis ao cultivo *in vitro* de plantas da espécie *N. minutum*.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de mestrado.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aranda-Peres, A.N., Peres, L.E.P., Higashi, E.N. & Martinelli, A.P.** 2009. Adjustment of mineral elements in the culture medium for the micropropagation of three *Vriesea* bromeliads from the brazilian atlantic forest: the importance of calcium. *HortScience* 44(1):106–112.
- Ashrafi, E.N., Vahdati, K., Ebrahimzadeh, H. & Mirmasoumi, M.** 2010. Analysis of *in-vitro* explants mineral contents to modify medium mineral composition for enhancing growth of Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment* v.8 (2): 325-329.
- Bellote, A.F.J. & Silva, H.D.** 2000. Técnicas de amostragem e avaliações nutricionais em plantios de *Eucalyptus* spp. IN: GONÇALVES, J.L. de M. et al.(eds). *Nutrição e fertilização florestal*. Piracicaba: IPEF, pp. 105-133.
- Epstein, E.** 1999. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 641-664
- Kurita, F.M.K. & Tamaki, V.** 2014. *In vitro* growth of the bromeliad *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms with different concentrations of nitrogen. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 36, n. 3, pp. 279-285.
- Malavolta, E.** 2006. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres. p. 638.
- Mamede, M.C.H., Souza, V.C., Prado, J., Barros, F., Wanderley, M.G.L. & Rando, J.G. (orgs.).** 2007. *Livro vermelho das espécies vegetais ameaçadas do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Mendes, A.D.R., Oliveira, L.E.M., Nascimento, M.N., Reis, K.L. & Bonome, L.T.S.** 2012. Concentração e redistribuição de nutrientes minerais nos diferentes estádios foliares de seringueira. *Acta Amazonica* v. 42(4) pp. 525-532.
- Murashige, T. & Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Pereira, C., Cuquel, F.L. & Panobianco, M.** 2010. Germinação e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii*(Lem.). *Revista Brasileira de Sementes*, v. 32, nº 2, pp. 36-41.
- Spirorello, A., Quaggio, J.A., Teixeira, L.A.J., Furlani, R. & Sigrist, J.M.M.** 2004. Pineapple yield and fruit quality effected by NPK fertilization in a tropical soil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26: 155-159
- Wanderley, M.G.L. & Tavares, A.R.,** 2011. *Guia de Identificação de Bromélias da Reserva de Paranapiacaba*. Instituto de Botânica. São Paulo, pp. 110.
- White, P.J. & Brown, P.H.** 2010. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany* 105. pp. 1073–1080.

