

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CULTIVO *IN VITRO* DE  
ESPÉCIES DE BAMBU

**ANDRESSA LEAL GENEROSO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
FEVEREIRO DE 2014

# CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CULTIVO *IN VITRO* DE ESPÉCIES DE BAMBU

**ANDRESSA LEAL GENEROSO**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Virginia Silva Carvalho

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
FEVEREIRO DE 2014

# CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CULTIVO *IN VITRO* DE ESPÉCIES DE BAMBU

**ANDRESSA LEAL GENEROSO**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Aprovada em 04 de fevereiro de 2014

Comissão Examinadora:

---

Prof. Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

---

Dr. Jardel Oliveira Santos (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF

---

Prof. Marcos Oliveira Athayde (D.Sc., Produção Vegetal) – Centro Universitário São Camilo

---

Prof. Paulo Cezar Cavatte (D.Sc., Fisiologia Vegetal) – UFES

---

Prof. Virginia Silva Carvalho (D.Sc., Fitotecnia) – UENF  
(Orientadora)

Aos meus pais, Nilton e Sandra, a meus irmãos, Larissa e Antônio Augusto, e à minha sobrinha, Lavynia, que são as pessoas que amo incondicionalmente.

Dedico

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que é a luz na minha vida, o guia dos meus caminhos e a força nas minhas batalhas.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade do mestrado, e à Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, Virginia Silva Carvalho, que, mesmo passando por momentos difíceis, sempre agiu com profissionalismo e, também, pelo seu apoio e dedicação.

À minha conselheira, Rosana Rodrigues, pela disponibilidade, pelos conselhos e por contribuir para a realização deste trabalho.

Ao amigo Jardel, por me ajudar na caracterização dos bambus, nos dados estatísticos e nas correções e por ter aceitado o convite para participar da banca, contribuindo para a realização deste trabalho.

Ao meu conselheiro, Vanildo Silveira, por contribuir para enriquecer este trabalho.

Aos professores Marcos Oliveira Athayde e Paulo Cezar Cavatte, por aceitarem o convite para participar da banca.

Ao Laboratório Biomudas, por doar as mudas de bambu.

Aos professores do programa de Genética e Melhoramento de Plantas, por todo o conhecimento adquirido. E ao professor Geraldo Gravina, por me ajudar com as análises estatísticas.

Ao secretário Daniel, pelo seu bom humor e simpatia, por sempre estar disponível a ajudar, a aconselhar e a incentivar.

Aos meus avós, Luiz, Maria Ivone, Pedro e Rita, pelas orações, pelo carinho, pelo amor que demonstram comigo.

Aos meus tios, primos, a meu padrasto e ao meu irmãozinho Antônio Augusto, que, mesmo distante, estão sempre presentes na minha vida.

Ao meu noivo, Gilson, pelo apoio, pela compreensão, pelo carinho, pelo amor, pela dedicação e por estar sempre ao meu lado e me fazer acreditar que os meus sonhos são possíveis.

À minha irmã, Larissa, e a seu pedacinho chamado Lavynia, que é a minha melhor amiga para todas as horas, pelo seu amor incondicional e pelo carinho.

Às minhas queridas amigas Luciene, Geovana, Nayara, Pakizza e Monique, pelo companheirismo, pelas confidências, pelos conselhos, ajuda nos momentos difíceis, pelos momentos de descontração e alegria e pela amizade.

Ao meu amigo Rafael, por me ajudar com os experimentos, pela sua amizade e pelos bons momentos que compartilhamos.

À eficiente equipe do Laboratório de Fitotecnia da sala 112, Beth, Léia, Renato, Ramon, Naiara, Mayara, Miraldo, Carmen, Gilssara e Silvana, pela ajuda e pelos momentos de descontração dentro e fora da UENF.

Aos amigos da EPAMIG de Caldas-MG, Bárbara, Dalilha, Sâmera, Geraldo, Ana Paula, Juliano, Claudinéia, Aurinete, Bruna, Monique, Evaldo, Alisson e Tesfahum, por acreditarem no meu trabalho e pelos bons momentos que compartilhamos.

Às amigadas que conquistei na UENF, Larissa, Danieli, Andrea, Gerbeli, Lígia, Verônica e Raimundo Nonato, pelos momentos de alegria e descontração.

Aos amigos da Pequena-Via, por me trazerem conforto nos dias difíceis e me aproximarem de Deus, por meio da espiritualidade de Santa Terezinha.

Aos meus pais, Sandra e Nilton, por me apoiarem nesta caminhada, pelo incentivo, pelo amor incondicional, pelos conselhos, pelas orações e por não pouparem esforços para tornar meus sonhos realidade.

E, por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## AS SETE VERDADES DO BAMBU

Depois de uma grande tempestade, o menino que estava passando férias na casa do seu avô o chamou para a varanda e falou:

- Vovô, corre aqui! Explica-me como essa figueira, árvore frondosa e imensa, que precisava de quatro homens para balançar seu tronco, se quebrou, caiu com o vento e com a chuva... este bambu é tão fraco e continua de pé?

- Filho, o bambu permanece em pé porque teve a humildade de se curvar na hora da tempestade. A figueira quis enfrentar o vento. O bambu nos ensina sete coisas. Se você tiver a grandeza e a humildade dele, vai experimentar o triunfo da paz em seu coração.

A primeira verdade que o bambu nos ensina, e a mais importante, é a humildade diante dos problemas, das dificuldades. Eu não me curvo diante do problema e da dificuldade, mas diante daquele, o único, o princípio da paz, aquele que me chama, que é o Senhor.

Segunda verdade: o bambu cria raízes profundas. É muito difícil arrancar um bambu, pois o que ele tem para cima ele tem para baixo também. Você precisa aprofundar a cada dia suas raízes em Deus na oração.

Terceira verdade: Você já viu um pé de bambu sozinho? Apenas quando é novo, mas, antes de crescer, ele permite que nasçam outros ao seu lado (como no cooperativismo). Sabe que vai precisar deles. Eles estão sempre grudados uns nos outros, tanto que, de longe, parecem com uma árvore. Às vezes, tentamos

arrancar um bambu lá de dentro, cortamos e não conseguimos. Os animais mais frágeis vivem em bandos, para que, desse modo, se livrem dos predadores.

A quarta verdade que o bambu nos ensina é não criar galhos. Como tem a meta no alto e vive em moita, comunidade, o bambu não se permite criar galhos. Nós perdemos muito tempo na vida tentando proteger nossos galhos, coisas insignificantes a que damos um valor inestimável. Para ganhar, é preciso perder tudo aquilo que nos impede de subirmos suavemente.

A quinta verdade é que o bambu é cheio de “nós” (e não de eus). Como ele é oco, sabe que, se crescesse sem nós, seria muito fraco. Os nós são os problemas e as dificuldades que superamos. Os nós são as pessoas que nos ajudam, aqueles que estão próximos e acabam sendo força nos momentos difíceis. Não devemos pedir a Deus que nos afaste dos problemas e dos sofrimentos. Eles são nossos melhores professores, se soubermos aprender com eles.

A sexta verdade é que o bambu é oco, vazio de si mesmo. Enquanto não nos esvaziarmos de tudo aquilo que nos preenche, que rouba nosso tempo, que tira nossa paz, não seremos felizes. Ser oco significa estar pronto para ser cheio do Espírito Santo.

Por fim, a sétima lição que o bambu nos dá é exatamente o título do livro: ele só cresce para o alto. Ele busca as coisas do Alto. Essa é a sua meta.

*Padre Léo - Livro 'Buscando as coisas do Alto'*

## SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Gerais.....	3
2.2. Específicos.....	3
3. CAPÍTULOS.....	4
3.1. PROPOSTA DE DESCRITORES QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE BAMBU.....	4
3.1.1. INTRODUÇÃO.....	4
3.1.2. REVISÃO.....	5
3.1.2.1. Família Poaceae.....	5
3.1.2.2. Distribuição dos Bambus.....	6
3.1.2.3. Aspectos botânicos.....	7
3.1.2.4. Classificação dos Bambus.....	10
3.1.2.5. Espécies economicamente importantes.....	11
3.1.2.6. Melhoramento genético em Bambu.....	13
3.1.2.7. Uso de descritores morfológicos.....	14
3.1.2.8. Análise da Diversidade Genética.....	15
3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19

3.1.5. CONCLUSÕES.....	28
3.2. ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> DE BAMBU.....	29
3.2.1. INTRODUÇÃO.....	29
3.2.2. REVISÃO.....	30
3.2.2.1. Uso dos Bambus.....	30
3.2.2.2. Métodos de conservação em Bambus.....	33
3.2.2.3. Propagação <i>in vitro</i> de Bambu.....	34
3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.2.3.1. Estabelecimento de segmentos nodais de bambus <i>in vitro</i> .....	36
3.2.3.1.1. Experimento de Desinfestação I.....	36
3.2.3.1.2. Experimento de Desinfestação II.....	37
3.2.3.1.3. Experimento de Desinfestação III.....	37
3.2.3.2. Multiplicação de Bambus <i>in vitro</i> .....	38
3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.2.5. CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

## RESUMO

GENEROSO, Andressa Leal; M.Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro de 2014; CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CULTIVO *IN VITRO* DE ESPÉCIES DE BAMBU; Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Virginia Silva Carvalho; Conselheiros: Prof<sup>a</sup>. Rosana Rodrigues e Prof. Vanildo Silveira.

O bambu é um recurso genético vegetal de grande relevância para o homem, podendo ser utilizado de diversas maneiras, como na construção civil, na recuperação de áreas degradadas, na indústria de papel e celulose, como fonte de biomassa para a geração de energia na forma de carvão vegetal, na indústria moveleira, na fabricação de produtos artesanais, na alimentação e no paisagismo. Entretanto, o bambu é pouco explorado devido à falta de pesquisas específicas e à insuficiente informação a seu respeito, não existindo, ainda, uma lista de descritores morfológicos vegetativos para bambus. O presente estudo objetivou: i) identificar e classificar, botanicamente, seis espécies de bambu; ii) estabelecer descritores morfológicos qualitativos e quantitativos que sejam úteis na identificação das espécies estudadas; iii) desenvolver um protocolo para a desinfestação dos explantes de bambu e para seu estabelecimento *in vitro*; iv) desenvolver um protocolo para a multiplicação *in vitro* das espécies estudadas. Para a caracterização morfológica, foram propostos 15 descritores qualitativos e nove descritores quantitativos em clones com, aproximadamente, um ano de plantio. Seis espécies (*Bambusa vulgaris*, *Bambusa vulgaris* var. *vittata*, *Drepanostachyum falcatum*, *Dendrocalamus latiflorus*, *Phyllostachys aurea* var.

*albovariegada* e *Phyllostachys edulis*) foram caracterizadas com base em características vegetativas de folha, pecíolo, bainha, lígula, gemas e colmo. Para o estabelecimento *in vitro* do bambu, foram realizados três experimentos de desinfestação. O primeiro experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x3, onde foram utilizadas quatro concentrações de hipoclorito de sódio NaClO (0,0%, 1,0%, 1,5% e 2,0%) durante 15, 20 e 25 minutos, realizado com segmentos nodais, contendo uma gema da espécie *B. vulgaris vittata*. O segundo experimento foi conduzido com seis espécies de bambu (*B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latiflorus*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis*) desinfestadas com NaClO a 1,8% com objetivo de identificar as espécies que apresentam as maiores taxas de contaminação. O terceiro experimento foi montado em DIC em esquema fatorial 6x2, em que foram testados como explantes segmentos nodais, contendo uma gema, das seis espécies de bambu estudadas, inoculados em meio MS com e sem a adição de 0,0003% de NaClO. Para a fase de multiplicação, os brotos de bambu de cinco espécies (*B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis*) foram inoculados em meio MS com a adição de 8,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de BA (benziladenina) e 1,07  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético). Os resultados da caracterização morfológica indicam que os descritores qualitativos e quantitativos propostos foram eficientes em diferenciar as seis espécies de bambu. Para o estabelecimento *in vitro*, a desinfestação das seis espécies de bambu não foi eficiente em reduzir as contaminações causadas por fungos e bactérias. Para a fase de multiplicação dos brotos de bambu, as concentrações de fitoreguladores utilizadas não foram eficientes na formação de brotações, nas espécies estudadas.

## ABSTRACT

GENEROSO, Andressa Leal; M.Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February 2014; MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND CULTIVATION *IN VITRO* OF BAMBOO'S SPECIES; Advisor: Professor Virginia Silva Carvalho; Committee: Professor Rosana Rodrigues and Professor Vanildo Silveira.

Bamboo is a genetic plant resource of great relevance to humans, and can be used in several ways in construction, recovery of degraded areas, in the pulp and paper industry, as a source of biomass for energy generation in the form of charcoal, in the furniture industry, manufacturing of handcrafted products, in food and in landscaping. Although bamboo is very important, it is little exploited due to lack of specific research and insufficient plant information. The present study aimed to i) establish qualitative and quantitative morphological descriptors that are useful in identifying the species studied; ii) identify and classify botanically six species of bamboo; iii) develop a protocol for disinfestation of bamboo's explants and for their *in vitro* establishment; iv) develop a protocol for *in vitro* multiplication of the species studied. For the morphological characterization, fifteen. qualitative descriptors and nine quantitative descriptors were proposed to clones with approximately one year of planting. Six species (*Bambusa vulgaris*, *Bambusa vulgaris* var. *vittata*, *Drepanostachyum falcatum*, *Dendrocalamus latiflorus*, *Phyllostachys aurea* var. *albovariegata* and *Phyllostachys edulis*) were characterized based on vegetative characteristics of leaf, petiole, sheath, ligule,

bud and stem. For the bamboo *in vitro* establishment, three disinfection experiments were conducted. The first experiment was in a completely randomized design in factorial 4x3 where four concentrations of sodium hypochlorite NaClO (0.0%, 1.0%, 1.5% and 2.0%) were used for 15, 20 and 25 minutes performed with nodal segments containing one bud of *Bambusa vulgaris vittata*. The second experiment was conducted with six bamboo species (*B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latiflorus*, *P. aurea albovariegata* and *P. edulis*) sterilized with 1.8% NaClO to identify the species with the higher rates of contamination. The third experiment was in a completely randomized design in factorial 6x2 where the six bamboo species studied were inoculated in MS medium with or without the addition of 0.0003% NaClO. In the multiplication experiment, the shoots of five species of bamboo (*B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *P. aurea albovariegata* and *P. edulis*) were inoculated on MS medium with the addition of 8.8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  BA and 1.07  $\mu\text{mol L}^{-1}$  NAA. The results of morphological characterization indicated that the proposed qualitative and quantitative descriptors were effective in differentiating the six species of bamboo. For *in vitro* establishment, the disinfection of six species of bamboo was not effective in reducing contamination caused by fungi and bacteria. For the multiplication phase of bamboo shoots, the phytohormone concentrations used were not effective in the formation of shoots in the studied species.

## 1. INTRODUÇÃO

Os bambus, que pertencem à subfamília *Bambusoideae* e se destacam por apresentarem uma grande versatilidade de usos, sendo utilizados na indústria pesqueira, na produção de móveis e utensílios domésticos, como carvão vegetal de alto poder calorífico, na produção de álcool, no paisagismo, na confecção de instrumentos musicais, na alimentação, na medicina, na recuperação de áreas degradadas, entre outros usos (Safe, 2004).

Historicamente, as atividades em torno do bambu são reconhecidas pela sua contribuição sociocultural e benefícios enquanto fonte de renda, emprego e sustento de populações étnicas (Almeida, 2010). Devido ao valor econômico, social, ambiental e científico dos bambus, é essencial o desenvolvimento de estratégias para a sua utilização de maneira sustentável (Bystriakova et al., 2003).

O incentivo ao uso dos bambus, no Brasil, vem crescendo após a Lei 12.484, que foi sancionada em 08 de setembro de 2011 e instituiu a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu – PNMCB. Essa lei incentiva o desenvolvimento dessa cultura no Brasil, por meio de ações governamentais e de empreendimentos privados. Segundo Moreira (2012), essa lei, ainda, não está clara no que se refere ao uso do bambu como fonte de geração de energia, mas coloca o bambu como uma cultura importante para o desenvolvimento econômico e social do País.

Para que o bambu seja visto como uma alternativa viável para seus diversos usos, são necessários estudos envolvendo as potenciais espécies, para caracterizá-las e avaliá-las quanto às suas devidas aplicações.

A caracterização morfológica tem a finalidade de descrever os atributos fenotípicos relacionados à espécie e faz uso de descritores para facilitar na identificação da divergência genética entre espécies (Rodrigues et al., 2010). Entretanto, para bambus, ainda não se conhecem descritores que facilitem na caracterização morfológica de suas espécies. Dessa forma, há a necessidade de testar e propor descritores morfológicos que contribuam no avanço dos estudos, envolvendo as espécies e seus potenciais usos.

Mesmo que os bambus apresentem alta diversidade genética, tornam-se necessários esforços para sua conservação, pois são vulneráveis ao desmatamento (Bystriakova et al., 2003). Existem, basicamente, dois métodos para conservar e preservar os recursos genéticos vegetais, a conservação *in situ*, que é realizada nos habitats nos quais a espécie evoluiu, e a conservação *ex situ*, que consiste na retirada dos recursos genéticos do seu habitat e sua transferência para condições de armazenamento artificiais (Nick et al., 2010).

Os métodos de conservação *ex situ* são os bancos de sementes para espécies de sementes ortodoxas, as coleções de campo, a criopreservação para preservação do material por longos períodos e as coleções *in vitro* para a conservação por curto e médio prazo (Nick et al., 2010).

A conservação *in vitro* pode ser uma alternativa viável para a conservação de espécies de bambu. É uma técnica de cultura de tecidos vegetais, feita por meio de alterações no ambiente de cultivo, objetivando reduzir o crescimento do material vegetal, preservando-o pelo maior tempo possível e evitando a instabilidade genética (Pereira e Costa, 2010).

Para o sucesso de técnicas de cultivo *in vitro*, primeiramente, é necessário o estabelecimento *in vitro* da cultura. A conservação *in vitro* do bambu, ainda, é pouco explorada, havendo a necessidade de estabelecer protocolos eficientes para a desinfestação de explantes, a multiplicação de brotos e a conservação da coleção.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Gerais

Caracterizar, morfológicamente, seis espécies de bambu e estabelecer um protocolo para o cultivo *in vitro* dessas espécies.

### 2.2. Específicos

- Identificar e classificar, botanicamente, seis espécies de bambu;
- Estabelecer descritores morfológicos qualitativos e quantitativos que sejam úteis na identificação das espécies estudadas;
- Desenvolver um protocolo para a desinfestação dos explantes de bambu e para seu estabelecimento *in vitro*;
- Desenvolver um protocolo para a multiplicação *in vitro* das espécies estudadas.

### 3. CAPÍTULOS

#### 3.1. PROPOSTA DE DESCRITORES QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE BAMBU

##### 3.1.1. INTRODUÇÃO

A família *Poaceae* é uma das maiores e mais importantes famílias de Angiospermas, com cerca de 700 gêneros e 10 mil espécies (GPWG, 2001). Os bambus estão reunidos na subfamília *Bambusoideae*, sendo fundamentais para o desenvolvimento econômico e industrial de muitas regiões (Oliveira et al., 2011).

Os bambus constituem um grupo monofilético dentro da família *Poaceae* e podem ser reconhecidos por meio de suas características morfológicas, anatômicas, embriológicas, fisiológicas, citológicas, macromoleculares e ecológicas, que são empregadas pelos pesquisadores para reconhecer, qualificar, caracterizar, recomendar usos, nomear e classificar as diversas espécies que compõem esse rico e diversificado grupo de plantas (Filgueiras e Gonçalves, 2011).

Uma das características mais interessantes nas espécies de bambus é a sua floração, que ocorre no final da fase de crescimento vegetativo, podendo durar até 120 anos (Azzini et al., 1978). Após a floração, algumas espécies

morrem, o que dificulta o estudo das características florais em bambus (Lin et al., 2003), além de produzirem baixo número de sementes (Ramanayake, 2006).

A maioria das classificações atuais de bambu é dependente de características morfológicas (Clark et al., 2007), porém poucas espécies são devidamente documentadas, dificultando o uso das características fenotípicas. Isso é ainda agravado pelo fato dos estudos taxonômicos, tradicionalmente, dependerem da inflorescência e morfologia floral (Shalini et al., 2013).

A divergência genética deve ser estudada nos bambus, fornecendo dados para investigar a evolução dos bambus por especiação, para a conservação e utilização dos recursos das espécies mais promissoras (Filgueiras e Gonçalves, 2011).

Os estudos de diversidade genética fazem uso da caracterização morfológica com base em descritores facilmente observáveis e distinguíveis (Rodrigues et al., 2010), como os qualitativos e quantitativos. Para bambus, ainda não existem estudos envolvendo descritores morfológicos para a caracterização. Sendo assim, objetivou-se, neste trabalho, propor descritores morfológicos qualitativos e quantitativos baseados nas características do colmo, ramificações e folhas, que possam contribuir para a identificação de espécies de bambu.

### 3.1.2. REVISÃO

#### 3.1.2.1. Família *Poaceae*

A família *Poaceae* é uma das mais diversificadas famílias de Angiospermas. A família é considerada um grupo monofilético pertencente às Liliopsidas e se encontra subdividida em 12 subfamílias com, aproximadamente, 700 gêneros e 10.000 espécies (GPWG, 2001).

De acordo com o *Grass Phylogeny Work Group* (2001), são reconhecidas doze subfamílias na família *Poaceae*: *Anomochlooideae*, *Pharoidaeae*, *Puelioideae*, *Bambusoideae*, *Ehrhartoideae*, *Pooideae*, *Aristidoideae*, *Arundinoideae*, *Chloridoideae*, *Centothecoideae*, *Panicoideae* e *Danthonioideae*, três tribos *Eriachneae*, *Micraireae* e *Streptogyneae*.

Alguns representantes da família *Poaceae* são considerados de grande importância alimentícia e econômica para a humanidade (Sungkaew et al., 2012), por serem os componentes alimentares básicos de muitos povos, como o arroz (*Oryza sativa* L.), o trigo (*Triticuma estivum* L.), o milho (*Zea mays* L.), a cevada (*Hordeum vulgare* L. subsp. *vulgare*) e a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (Schmidt e Longhi-Wagner, 2009).

O bambu é um representante da família *Poaceae*, que pertence à subfamília *Bambusoideae*, com 1.439 espécies (*Bamboo Phylogeny Group*, 2012) divididas em dois grupos, os bambus lignificados ou lenhosos e os bambus herbáceos, de forma que essa divisão não reflete, necessariamente, as relações filogenéticas entre plantas desses grupos (Clark, 1990).

### 3.1.2.2. Distribuição dos Bambus

Os bambus lenhosos são distribuídos, naturalmente, pelas áreas tropicais e temperadas da Ásia, Austrália, África e da América (Guerreiro e Lizarazu, 2010). Há evidências de que os ancestrais dos bambus lenhosos evoluíram na era pós-Cretácea, no hemisfério sul (Bystriakova et al., 2003).

Do total de 1.439 espécies, distribuídas em 116 gêneros de bambus conhecidos no mundo, a América Latina possui 39% das espécies e 31% dos gêneros (*Bamboo Phylogeny Group*, 2012), sendo o Brasil o país com a maior diversidade de bambu do continente Americano (Grombone-Guaratini et al., 2011). Ao todo, são 34 gêneros de bambu, no Brasil, com 232 espécies, das quais 174 são consideradas endêmicas, e algumas, ainda, não foram, formalmente, descritas (Filgueiras e Gonçalves, 2004). Outros países da América Latina, também, possuem uma grande diversidade de espécies de bambus, como Colômbia (70), Venezuela (60), Equador (42), Costa Rica (39), México (37) e Peru (37) (Londoño, 2010).

Dentre os centros mundiais de diversidade de bambu, está a Mata Atlântica Brasileira, estendendo-se desde o Estado da Paraíba ao Rio Grande do Sul, em uma estreita faixa costeira, caracterizada, principalmente, por chuvas abundantes (Moris et al., 1983), de modo que os Estados brasileiros de São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Bahia e Paraná são os que possuem a maior diversidade de bambus lenhosos (Judziewicz et al., 2000; Londoño, 2010; *Bamboo Phylogeny*

Group, 2012). Dessa forma, a Região da Mata Atlântica é importante para manter a diversidade de bambus lenhosos na América do Sul, servindo como fonte de alimento e moradia para vários animais silvestres importantes (Bystriakova et al., 2003).

Na América do Sul, encontra-se uma grande floresta natural de bambu, conhecida como tabocais, que ocupa uma área de, aproximadamente, 165.000 km<sup>2</sup> (Abreu, 2012), envolvendo o Estado brasileiro do Acre e se estendendo até o Peru e a Bolívia, onde predominam bambus do gênero *Guadua* (Filgueiras e Gonçalves, 2004).

No Brasil, já foram introduzidas mais de 20 espécies de bambus exóticos (Filgueiras e Gonçalves, 2004), sendo a maioria das espécies naturais do continente Asiático e introduzidas, no Brasil, principalmente durante o período colonial (Silva et al., 2011). A imigração japonesa introduziu, principalmente, as espécies de bambu do tipo alastrante, como é o caso do bambu “Mossô” (*Phyllostachys edulis*), cultivado para a produção de brotos comestíveis (Tomblato et al., 2012). Segundo Almeida (2010), essas espécies exóticas se encontram adaptadas ao clima brasileiro, tendo grande importância econômica e social.

### 3.1.2.3. Aspectos Botânicos

Os bambus apresentam características morfológicas, anatômicas, fisiológicas e ecológicas peculiares. As espécies da subfamília *Bambusoideae* apresentam, como caracteres morfológicos, a ocorrência de sistema subterrâneo rizomatoso bem desenvolvido, composto de nós e entrenós cobertos por folhas, colmo lignificado, folhas dos ramos com lígula externa e lâmina foliar decídua, florescimento cíclico com intervalos geralmente longos (Gonçalves et al., 2011).

Os rizomas são caules de crescimento horizontal, que crescem, reproduzem-se e afastam-se do bambu central, permitindo a colonização de novos territórios (Silva et al., 2011), desenvolvem-se ao nível do solo ou são subterrâneos, apresentando nós e entrenós bem visíveis. Nos nós, estão gemas que emitem crescimentos eretos dotados de raízes adventícias. Os bambus são divididos em dois grupos distintos quanto ao tipo de crescimento do rizoma, os que formam touceiras (simpodiais) e os alastrantes (monopodiais) (Silva, 2005).

O grupo de bambus simpodiais, ou também conhecidos como entouceirantes, é representado pelos gêneros *Bambusa*, *Dendrocalamus* e *Guadua*. A maioria desses bambus se desenvolve melhor em climas tropicais, apresentando um crescimento mais lento em temperaturas baixas. Os rizomas são sólidos, com raízes na sua parte inferior e são do tipo paquimórfico por serem curtos e grossos. Seus rizomas, também, possuem gemas laterais, que dão origem, somente, a novos rizomas, muitas dessas gemas permanecem inativas de forma permanente ou temporariamente, apenas a gema apical do rizoma pode dar origem a um novo colmo. Esse processo continua de tal maneira que os rizomas se desenvolvem formando uma touceira densa (Safe, 2004).

Os bambus monopodiais possuem rizomas que são do tipo leptomórfico, caracterizados por serem alongados, duros e finos, com entrenós longos e espaçados. A ponta está, geralmente, orientada horizontalmente, podendo crescer entre um e seis metros por ano. Os novos colmos e rizomas emergem das gemas dos antigos rizomas (Safe, 2004; Silva, 2005). São os bambus conhecidos como alastrantes e considerados de hábito invasivo. Esse grupo é pouco representado nas regiões tropicais, sendo mais comum em locais de clima frio e temperado. Porém, o gênero *Phyllostachys* é bastante difundido no Brasil, devido à sua grande utilização, como contenção de declives, na construção civil, no artesanato, como vara de pescar, entre outros usos (Safe, 2004).

As raízes dos bambus são do tipo fasciculadas, partem dos rizomas e chegam a profundidades proporcionais ao tamanho de cada espécie. Juntamente com os rizomas, as raízes ajudam a ancorar a planta e ainda têm a importante função de absorver nutrientes e água do solo (Silva, 2005).

Nos bambus, os colmos originam-se de uma gema ativa do rizoma, e compõem a parte aérea dos bambus, dando sustentação para os ramos e para as folhas. O grau de desenvolvimento vegetativo dos bambus é determinado pela mudança nos colmos, por meio da lignificação dos tecidos, espessamento das paredes das fibras e perda de umidade (Galvão et al., 2009).

Geralmente o desenvolvimento vegetativo é separado em quatro fases: Brotação – essa fase é caracterizada pela emissão de um novo colmo e termina em seu estiramento máximo; Juvenil – inicia-se com a queda das folhas caulinares e desenvolvimento dos galhos e folhas da ramagem; Adulta – é caracterizada pela mudança da cor verde brilhante para o verde opaco; Senil – o

colmo começa a envelhecer quando os entrenós ficam amarelados e os galhos da porção média secam (Galvão et al., 2009).

Os colmos também apresentam a capacidade de realizar fotossíntese, além de armazenar e conduzir a seiva bruta e elaborada. São segmentados por nós e os espaços compreendidos entre dois nós são denominados entrenós. As paredes dos nós são mais finas que as paredes dos entrenós e recebem o nome de diafragma (Silva, 2005). Os colmos diferem entre as espécies pela cor, diâmetro, comprimento, espessura da parede, comprimento dos entrenós e outras características, sendo essas diferenças muito úteis para a identificação (Safe, 2004). Existem bambus que não passam de cinquenta centímetros, enquanto outros atingem trinta metros de altura e trinta centímetros de diâmetro.

O broto que originará um novo colmo surge de uma gema ativa do rizoma e encontra-se protegido pelas folhas caulinares. Nessa fase inicial, observam-se as maiores velocidades de crescimento em altura do reino vegetal (Silva et al., 2011). Algumas espécies de bambu podem crescer de 15 a 28 centímetros de altura por dia (Nath et al., 2004). Embora na maioria dos bambus o colmo seja oco, existem, também, aqueles com ausência completa de lúmen como é o caso do *Chusquea coleous* (Silva, 2005).

Os galhos se desenvolvem a partir das gemas existentes nos nós dos colmos. Em algumas espécies, existe um número habitual de galhos por colmo, contribuindo para facilitar a identificação. Em alguns gêneros, os galhos se formam ainda nos brotos e aparecem conforme o colmo se alonga, porém, em outros, os galhos só aparecem após o colmo ter finalizado seu ciclo de alongamento (Safe, 2004).

As ramificações dos bambus originam-se das gemas localizadas nos nós e são sempre alternas. As espécies apresentam diferenças no número e na posição em que as ramificações partem do colmo e, também, pela presença ou não de espinhos (Silva, 2005).

No bambu, as folhas são lanceoladas e pseudopecioladas, compostas por bainha e lâmina foliar com diferentes funções. As bainhas do colmo tornam-se bem mais alongadas, desempenhando um papel de proteção para as brotações mais jovens, (Crouzet, 1998; Silva, 2005; Das et al., 2008). A lâmina foliar é a grande responsável pela fotossíntese da planta (Wong, 2004). As folhas dos

bambus lignificados podem apresentar aurículas e lígulas, que se desenvolvem na junção entre a bainha e a lâmina foliar (Judziewicz et al., 2000).

Em muitas espécies de bambus, o florescimento é um fenômeno raro, podendo acontecer em intervalos de, até, 120 anos. Várias espécies de bambus morrem ao florescer devido à energia desprendida pela planta para a formação de um grande número de sementes (Filgueiras, 1988) e, também, pelo fato dos ápices meristemáticos serem consumidos durante a floração (Ramanayake, 2006). Ainda existem espécies em que os ciclos de floração não são conhecidos (Saarela, 2007).

Os bambus apresentam três tipos de floração: esporádica – ocorre, apenas, em algumas plantas de uma população, sendo que, ao florescer, a planta ou parte dela morre; sincrônica – ocorre, simultaneamente, em todas as plantas de uma população; floração de estresse – ocorre quando a planta é submetida a uma forte adversidade ambiental, podendo ocorrer o florescimento em, apenas, uma parte da planta (Silva, 2005; Ramanayake, 2006; Guerreiro e Lizarazu, 2010).

O fruto dos bambus, na maioria das vezes, é seco, chamado de cariopse, não é muito maior do que um grão de arroz ou de trigo. Em alguns gêneros de bambus, como *Cyrtochloa*, *Dinochloa*, *Melocalamus*, *Melocanna* e *Sphaerobambos*, o fruto é carnudo e esférico (Wong, 2004; Silva, 2005; Das et al., 2008). As sementes de bambu germinam logo após as primeiras chuvas (Ramanayake, 2006).

#### **3.1.2.4. Classificação dos bambus**

A taxonomia e classificação dos bambus baseiam-se em características morfológicas dos rizomas, nós e entrenós, ramos, colmo, folhas e inflorescências (Clark et al., 2007; Tripllet et al., 2010). Porém, observam-se dificuldades na utilização das características morfológicas vegetativas em bambus, pelo fato de, relativamente, poucas espécies serem devidamente documentadas, pelas dificuldades em tentar fazer uma boa caracterização científica das espécies quando a flor não está disponível (Wong, 2004) e por, ainda, não estar elucidado até que ponto os caracteres morfológicos vegetativos podem ser influenciados por fatores ambientais (Tripllet et al., 2010).

De modo geral, a subfamília *Bambusoideae* apresenta três linhagens principais: *Arundinarieae* são os bambus lenhosos de regiões temperadas, com 533 espécies; *Bambuseae* são os bambus lenhosos de regiões tropicais, que apresentam 784 espécies e *Olyreae* são os bambus herbáceos, com 122 espécies (Sungkaew et al., 2009). Os bambus são considerados lenhosos por apresentarem colmos lignificados, e os bambus considerados herbáceos apresentam seus colmos com, apenas, um pouco de lignificação (Calderón e Soderstrom, 1980; Londoño, 2010).

As espécies de bambus lenhosos ou lignificados estão classificadas em 67 gêneros e distribuídos em nove subtribos *Arthrostylidiina*, *Arundinariinae*, *Bambusinae*, *Chusqueinae*, *Guaduinae*, *Melocanninae*, *Nastinae*, *Racemobambosinae* e *Shibataeinae* (Das et al., 2008).

Segundo Filgueiras e Gonçalves (2011), as revisões taxonômicas de determinados grupos são desejáveis, pois, por meio desses estudos, são delimitados os táxons, mapeadas as suas distribuições geográficas, determinado o seu nível de conservação e pode-se avançar no conhecimento científico dos distintos grupos de bambus.

### **3.1.2.5. Espécies Economicamente Importantes**

Os bambus são importantes para a conservação da biodiversidade, contribuem para o uso sustentável do solo e da água, são importantes para a produção de biomassa, além de contribuir para a melhoria nas economias locais (Bystriakova et al., 2003).

Na América Latina, as espécies mais usadas são as do gênero *Guadua* e do gênero asiático *Bambusa*, embora outros gêneros, também, sejam utilizados como *Apoclada*, *Aulonemia*, *Chusquea*, *Elytostachys*, *Otatea* e *Rhipidocladum*. O cultivo de bambus em escala comercial, na América Latina, está limitado a algumas espécies nativas, juntamente com espécies introduzidas: *Guadua angustifolia*, *Guadua amplexifolia*, *Bambusa vulgaris*, *Bambusa tuldoides* e *Phyllostachys aurea* (Bamboo Phylogeny Group, 2012).

Segundo Silva (2005), entre as espécies exóticas mais comuns, no Brasil, estão: *Bambusa vulgaris*, *Bambusa vulgaris* var. *vittata*, *Bambusa tuldoides*, *Dendrocalamus giganteus* e algumas espécies de *Phyllostachys*.

*Bambusa vulgaris*: é a espécie de bambu exótica mais frequente no Brasil, devido à sua facilidade de propagação e pode ser encontrada, também, em diversos países, como Argélia, Caribe, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Peru, Suriname, Estados Unidos e Venezuela (Judziewicz et al., 2000). Conhecida, popularmente, por Bambu-açu, essa espécie possui colmos com alto teor de amido, o que a caracteriza como uma matéria-prima potencial para a produção de álcool (Silva, 2005). Além disso, a composição química dos colmos é comparável à madeira, sugerindo sua utilização na forma de carvão vegetal (Moreira, 2012; Tombolato et al., 2012). Essa espécie é cultivada, no Nordeste brasileiro, para a produção de papel e celulose, além de ser muito utilizada na confecção de cercas e em diversas instalações rurais (Silva, 2005; Almeida, 2010).

*Bambusa vulgaris* var. *vittata*: essa variedade é conhecida como Bambu Brasileiro, Gigante Verde e Amarelo e Bambu Imperial, devido aos colmos amarelos com listras verdes (Silva 2005). Um estudo publicado na China mostrou o sequenciamento genético de várias espécies de *Bambusa*, comprovando a existência de um variante genético, que foi denominado *Bambusa vulgaris vittata* (Sun et al., 2005). Essa espécie possui colmos amarelos levemente dourados com faixas verdes orientadas longitudinalmente, característica que torna essa espécie usada na ornamentação e em usos estruturais no meio rural (Medina et al. 1962; Silva, 2005; Tombolato et al., 2012; Oliveira, 2013).

*Drepanostachyum falcatum* ou *Fargesia falcata*: popularmente, essa espécie é conhecida por Bambuzinho de Jardim ou Gracilis. É originária da Ásia, apresenta colmos com três a cinco metros de altura e coloração verde oliva. É usada, principalmente, na ornamentação (Tombolato et al., 2012).

*Dendrocalamus latiflorus*: é chamado de Bambu Doce e é muito utilizado para alimentação na Ásia. No Brasil, a espécie é usada para fins estruturais na área rural.

*Phyllostachys aurea* var. *albovariegata*: conhecido, popularmente, por bambu Variiegado ou Bambu-da-fortuna, é usado na ornamentação por apresentar folhas verdes com variações brancas.

*Phyllostachys edulis*: conhecido por bambu Mossô, essa espécie é originária da China, onde tem a maior área de distribuição e o maior valor

econômico. Seus colmos podem chegar até 24 metros de altura e 20 centímetros de diâmetro. Devido ao alto teor de fibras nos colmos, é amplamente utilizado para a fabricação de móveis, construção civil, celulose e outras indústrias na China. No Brasil, é muito usado na alimentação, na construção civil, na área rural, na movelaria e, também, na ornamentação (Xiaohong e Yulong, 2005; Tombolato et al., 2012).

### **3.1.2.6. Melhoramento Genético em Bambu**

Para a maioria de espécies de bambus lenhosos, o número básico de cromossomos é  $x = 12$ , enquanto que para os bambus herbáceos é  $x = 11$  (GPWG, 2001). Poucas são as espécies diploides, sendo todas consideradas poliploides, havendo espécies triploides, tetraploides e hexaploides (Silva, 2007).

Entretanto, é relevante ressaltar a existência de lacunas a serem preenchidas, no que diz respeito aos estudos genéticos dos bambus, sendo que novas contribuições podem aumentar a eficácia das estratégias em programas de melhoramento e na taxonomia das espécies (Silva, 2007).

A classificação da subfamília *Bambusoideae* baseia-se, principalmente, em características morfológicas e é reforçada pela evidência molecular, a partir de sequências transcritas na região denominada (ITS) do gene nuclear GBSSI. As sequências ITS têm provado ser o melhor marcador para a análise sistemática para espécies de bambu, devido à sua, relativamente, rápida taxa de substituição de nucleotídeos e pelos seus sítios de iniciadores altamente conservados (Guo e Li, 2004; Yang et al., 2008; Zhou et al., 2010).

Conjuntos de dados moleculares podem fornecer informações úteis para a compreensão de vários aspectos da taxonomia vegetal. Os marcadores moleculares se tornam importantes, também, para a caracterização da diversidade genética entre diferentes cultivares ou espécies, sendo suficientemente poderosos para discriminar variedades relacionadas (Singh et al., 2013).

Diversos marcadores têm sido amplamente aplicados na variação genética, classificação sistemática e relações filogenéticas entre bambus, como marcadores do tipo RFLP, RAPD, AFLP, SCARs, ISSR, SSRs, EST-SSRs (Das et al., 2008).

Por causa dos hábitos de floração, fica quase impossível realizar programas de melhoramento para obter características superiores em bambus. Além disso, a morte da planta após a floração, em algumas espécies, torna o melhoramento em bambu bastante difícil. A cultura de tecidos tem surgido como uma alternativa para o resgate de sementes híbridas produzidas por métodos de reprodução convencionais (Alexander e Rao, 1968). No entanto, nenhum avanço foi conseguido no melhoramento do bambu usando métodos tradicionais (Silva, 2007).

Porém, a introdução de genes exóticos em células vegetais pode ser conseguida com sucesso por meio de uma variedade de métodos de transformação genética, como o bombardeamento de partículas, eletroporação, e via *Agrobacterium*. Esses métodos são importantes alternativas no melhoramento das espécies de bambus, favorecendo o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas com características de interesses e capazes de sobreviver em estresses bióticos e abióticos (Singh et al., 2013).

### **3.1.2.7. Uso de Descritores Morfológicos**

A caracterização pode ser definida como a coleta de dados qualitativos ou quantitativos com a finalidade de descrever os atributos que permitem diferenciar os acessos mantidos em um banco de germoplasma. A caracterização morfológica é a coleta dos dados relacionados ao fenótipo do indivíduo e faz uso de descritores morfológicos (Rodrigues et al., 2010).

Os descritores morfológicos são definidos como uma característica passível de ser mensurada ou reconhecida, capazes de diferenciar os fenótipos de forma rápida e fácil (Rodrigues et al., 2010).

Segundo Rodrigues et al., (2010), a caracterização morfológica apresenta algumas vantagens como a praticidade, o baixo custo, a facilidade no manejo dos dados e, ainda, é eficiente em quantificar a divergência genética entre acessos.

Encontram-se disponíveis na internet, na página do *Bioversity International* (<http://www.bioversityinternational.org/>), listas de descritores já estabelecidos para diversas espécies, de forma que os pesquisadores de diversos países possam adotar a mesma linguagem. Entretanto, para bambus, ainda, não foram

estabelecidos e publicados descritores morfológicos, dificultando o desenvolvimento de pesquisas com as diferentes espécies de bambus.

### 3.1.2.8. Análise da Diversidade Genética

A partir da análise dos dados coletados por meio dos descritores morfológicos que podem ser qualitativos ou quantitativos, é possível estudar a diversidade genética entre acessos, utilizando análises de estatística multivariada.

A estatística multivariada é um conjunto de métodos que permite a análise simultânea de medidas múltiplas para cada indivíduo (Ferreira, 1996). Entre as análises multivariadas, os métodos de agrupamentos são responsáveis por encontrar e agrupar as sub-amostras a partir de algum critério (Cruz e Carneiro, 2003).

Os grupos são obtidos a partir da matriz de similaridade ou dissimilaridade entre os elementos observados para estimar a distância entre os dados (Ferreira, 1996; Vicini, 2005). A Distância Euclidiana média é uma medida de dissimilaridade utilizada em análises de agrupamento, que é obtida pela média dos valores, outras medidas, como a Distância Euclidiana e a Distância de Mahalanobis também podem ser utilizadas (Vicini, 2005).

O método de agrupamento de Tocher foi apresentado por Cruz e Carneiro (2003), sendo um método de otimização, que permite a formação de grupos exclusivos simultaneamente e separando os indivíduos de uma só vez. O método de Tocher é, normalmente, utilizado juntamente com o UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), este utiliza a média das distâncias entre todos os pares de indivíduos para a formação de cada grupo (Vicini, 2005).

Os estudos de diversidade genética em bambus se encontram em sua fase inicial (Das et al., 2008). No estudo de Das et al. (2007), foram avaliados 32 descritores morfológicos de colmo e folhas, além de dados moleculares a nível de DNA, para avaliar as relações filogenéticas entre 15 espécies de bambu. Para os dados moleculares, os autores encontraram a maior similaridade entre as espécies *B. vulgaris* e *B. vulgaris vittata* e concluíram que a espécie *B. vulgaris vittata* é uma variação genética da espécie *B. vulgaris*, por isso a maior similaridade entre as espécies.

### 3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de seis genótipos de diferentes espécies de bambu, com aproximadamente, uma semana de plantio foram doados pelo Laboratório Biomudas em Venda Nova do Imigrante – ES.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Unidade de Apoio a Pesquisa (UAP), do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes, RJ, cujas coordenadas locais de referência são latitude 21° 45' S, longitude 41° 20' W e altitude média de 11 metros.

As mudas foram replantadas em vasos com capacidade de 30 litros, contendo o substrato Basaplant Floresta® e mantidas em casa de vegetação. Após, aproximadamente, um ano de plantio, os genótipos de bambu foram identificados pelas chaves de classificação de espécies de bambus disponível em Wong (2004) e Shirasuna (2012). Foram identificadas seis espécies (*Bambusa vulgaris*, *Bambusa vulgaris* var. *vittata*, *Drepanostachyum falcatum*, *Dendrocalamus latiflorus*, *Phyllostachys aurea* var. *albovariegata* e *Phyllostachys edulis*), que foram utilizadas no estudo.

A caracterização morfológica foi realizada em duas plantas por espécie, com, aproximadamente, um ano de plantio. Com base em características vegetativas do colmo, ramificações e folhas, foram propostas 15 características qualitativas e nove quantitativas (Tabelas 1 e 2 e Figura 2). Para as características qualitativas de coloração, foi usada uma escala para determinar a intensidade da cor verde (Figura 1). As características quantitativas foram mensuradas com o auxílio de um paquímetro digital, trena metálica e uma régua milimétrica.

Foi realizada uma análise multivariada, e a divergência genética entre as espécies foi determinada pelo método de agrupamento de Tocher (Rao, 1952), com o emprego da distância Euclidiana média como medida de dissimilaridade. Todas as análises de divergência genética foram realizadas utilizando-se o programa computacional GENES (Cruz, 2013).

**Tabela 1.** Proposta de descritores qualitativos para as espécies: *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latifolius*, *P. aurea albovariegata* e *P. edulis*. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

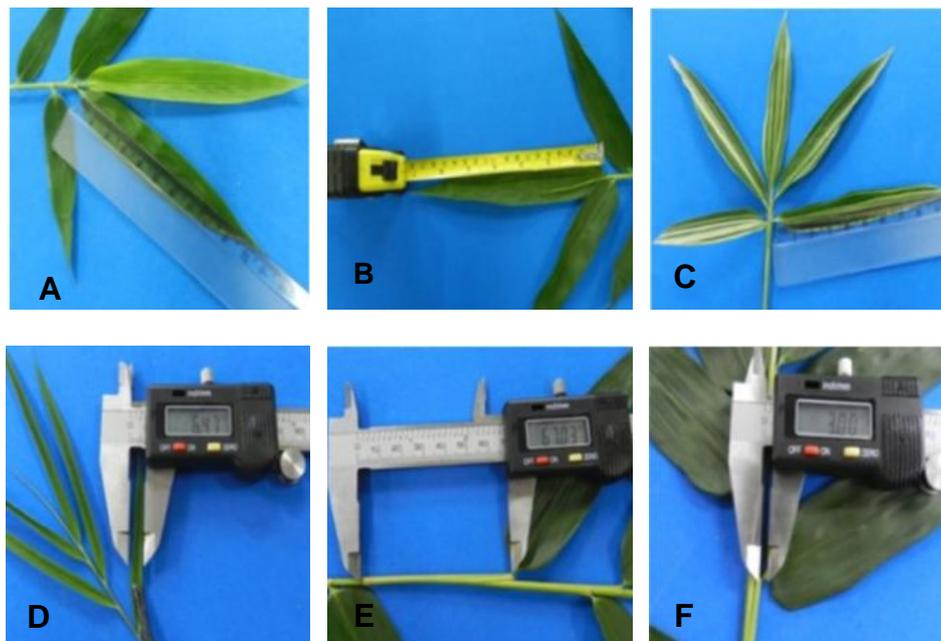
Nome do descritor	Sigla	Avaliação
Coloração da bainha do colmo	CB	1: Verde 2: Verde com amarelo 3: Verde com branco
Ceras na bainha do colmo	CBC	0: Ausente 1: Presente
Cor do colmo	CC	1: Verde 2: Amarelo com verde 3: Verde com verde
Coloração da lâmina	CL	1: Verde 2: Verde com branco
Presença de caracteres nos nós	CN	0: Ausente 1: Presente
Desenvolvimento de aurículas	DA	1: Discretas 2: Evidentes
Desenvolvimento de lígulas	DL	1: Discretas 2: Evidentes
Espinhos nos entrenós	EE	0: Ausente 1: Presente
Forma do colmo	FC	1: Cilíndrico 2: Tortuoso
Pilosidade da bainha do colmo	PB	1: Glabras 2: Pilosas
Pilosidade dos entrenós	PE	1: Glabros 2 Pilosos
Pilosidade da lâmina	PIL	1: Glabra 2: Pilosa
Posição da lâmina da bainha	PL	1: Ereta 3: Pendente 5: Intermediária
Preenchimento dos entrenós	PRE	1: Ocos 2: Sólidos
Variações de colorações do colmo	VC	1: Uniforme 2: Listrado

**Tabela 2.** Proposta de descritores quantitativos para as espécies: *B. vulgaris*, *B. vulgaris* var. *vittata*, *D. falcatum*, *D. latiflorus*, *P. aurea* var. *albovariegada* e *P. edulis*. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

<b>Nome do descritor</b>	<b>Sigla</b>	<b>Forma de Avaliação</b>
Altura da planta	AP	Em metros, desde o solo até a folha mais alta da planta
Comprimento dos entrenós	CE	Em centímetros, a medida entre dois nós do 1° ao 5° entrenó do colmo
Comprimento da folha	CF	Em centímetros, do início até a ponta do limbo de cinco folhas
Comprimento da bainha do colmo	CO	Em milímetros, da base da bainha até o início do pseudopecíolo de cinco bainhas
Comprimento do pseudopecíolo	CP	Em milímetros, do início do pseudopecíolo até o início do limbo de cinco folhas
Diâmetro do colmo	DC	Em milímetros, nas regiões basal, mediana e apical do primeiro entrenó
Largura da folha	LF	Em milímetros, de um lado ao outro de cinco folhas
Número de gemas por nó	NG	Contabilizado o número de gemas do maior colmo
Número de ramos por gema	NR	Contabilizado o número de ramos emergindo de cinco gemas



**Figura 1.** Escala usada para determinar a intensidade das colorações verde das lâminas foliares.



**Figura 2.** A, B e C) Mensuração do comprimento da folha de *P. edulis*, *B. vulgaris* e *P. aurea albovariegada*; D) Mensuração da largura da folha de *D. falcatum*; E) Mensuração do comprimento da bainha de *D. latiforus*; F) Mensuração do comprimento do pecíolo de *B. vulgaris vitatta*.

### 3.1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as características qualitativas, alguns descritores não apresentaram variabilidade, como ausência de caracteres nos nós (CN), ausência de espinhos nos entrenós (EE), forma do colmo cilíndrico (FC), pilosidade dos entrenós (PE), que, em todas as espécies estudadas, eram glabros, posição da lâmina intermediária (PL) e preenchimento dos entrenós (PRE), que foram ocos (Tabela 3).

Com relação à coloração das bainhas (CB), as espécies *B. vulgaris vitatta* e *D. latiforus* apresentaram bainhas verde claro com listras amarelas, e a espécie *P. aurea albovariegada* apresentou bainhas de coloração verde com listras brancas, facilitando a diferenciação entre essas espécies. A presença de ceras na bainha (CBC) foi observada, apenas, na espécie *P. aurea albovariegada* (Tabela 3).

As espécies que possuem colorações dos colmos (CC) com duas cores são *B. vulgaris vitatta* de colmos amarelos com listras verdes escuras e *D. latiforus* de colmo verde médio com listras verde escuras, as demais espécies apresentaram colmos de cor verde escura (Tabela 3).

Para o descritor cor da lâmina (CL), na espécie *D. falcatum*, observaram-se lâminas verde claras; nas espécies *B. vulgaris*, *B. vulgaris vitatta*, *D. latiforus* e *P. edulis*, as lâminas apresentaram coloração verde escuro, e na espécie *P. aurea albovariegada*, as lâminas foram verde médio com listras brancas (Tabela 3). Esta característica de folhas com mais de uma coloração potencializa o uso da espécie como planta ornamental.

Para o descritor de desenvolvimento de aurículas (DA), foram observadas aurículas evidentes nas espécies *D. falcatum*, *B. vulgaris*, *D. latiforus* e *P. edulis* (Tabela 3). Na junção da lâmina com a bainha, encontra-se a lígula externa (DL), situada na face abaxial, podendo ser evidente ou não. Apenas as espécies *B. vulgaris*, *P. edulis* e *P. aurea albovariegada* apresentaram lígulas evidentes.

Para o descritor de pilosidade da bainha (PB), as espécies *D. falcatum* e *B. vulgaris* possuem bainhas glabras, as demais espécies *B. vulgaris vitatta*, *D. latiforus*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis* apresentaram bainhas pilosas (Tabela 3).

A pilosidade da lâmina (PIL) foi avaliada no limbo (L), nas nervuras (N) e nas bordas (B). Dessa forma, foi observada pilosidade na borda das lâminas de todas as espécies estudadas e as espécies *B. vulgaris vittata* e *P. edulis* apresentaram pilosidades em toda a área da lâmina. Nas espécies *D. falcatum* e *B. vulgaris*, observaram-se pilosidades no limbo, e em *D. latiforus*, pilosidade na nervura (Tabela 3).

**Tabela 3.** Características morfológicas qualitativas de seis genótipos de bambu avaliadas em casa de vegetação, Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

Descritor	<i>B. vulgaris</i>	<i>B. vulgaris vittata</i>	<i>D. falcatum</i>	<i>D. latiforus</i>	<i>P. aurea albovariegada</i>	<i>P. edulis</i>
CB	Verde médio	Verde médio com listras amarelas	Verde claro	Verde médio com listras amarelas	Verde médio com listras brancas	Verde médio
CBC	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
CC	Verde escuro	Amarelo com listras verdes escuras	Verde claro	Verde médio com listras verde escuro	Verde médio	Verde médio
CL	Verde escuro	Verde escuro	Verde claro	Verde escuro	Verde médio com listras brancas	Verde escuro
CN	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
DA	Evidentes	Discretas	Evidentes	Evidentes	Discretas	Evidentes
DL	Evidentes	Discretas	Discretas	Discretas	Evidentes	Evidentes
EE	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
FC	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico	Cilíndrico
PB	Glabra	Pilosa	Glabra	Pilosa	Pilosa	Pilosa
PE	Glabro	Glabro	Glabro	Glabro	Glabro	Glabro
PIL	L: Presente N: Ausente B: Presente	L: Presente N: Presente B: Presente	L: Presente N: Ausente B: Presente	L: Ausente N: Presente B: Presente	L: Ausente N: Ausente B: Presente	L: Presente N: Presente B: Presente
PL	Intermediária	Intermediária	Intermediária	Intermediária	Intermediária	Intermediária
PRE	Ocos	Ocos	Ocos	Ocos	Ocos	Ocos
VC	Uniforme	Listrado	Uniforme	Listrado	Uniforme	Uniforme

Cor da bainha do colmo (CB), ceras na bainha do colmo (CBC), cor do colmo (CC), cor da lâmina (CL), presença de caracteres nos nós (CN), desenvolvimento de aurículas (DA), desenvolvimento de lígulas (DL), espinhos nos entrenós (EE), forma do colmo (FC), pilosidade da bainha do colmo (PB), pilosidade dos entrenós (PE), pilosidade da lâmina da bainha (PIL) no limbo (L), nervuras (N) e bordas (B), posição da lâmina na bainha (PL), preenchimento dos entrenós (PRE) e variação de cores do colmo (VC).

Para os caracteres quantitativos, algumas medidas, como altura da planta (AP), comprimento da folha (CF) e comprimento da bainha (CO), apresentaram variabilidade, podendo contribuir para diferenciar as espécies (Tabela 4).

**Tabela 4.** Características morfológicas quantitativas de seis genótipos de bambu avaliadas em casa de vegetação, Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

Genótipos	AP	CE	CF	CO	CP	DC	LF	NG	NR
<i>B. vulgaris</i>	2,93	23,65	18,18	58,61	2,91	15,09	32,10	2,1	2,1
<i>B. vulgaris vittata</i>	3,05	23,76	21,88	62,85	3,39	22,45	31,85	3,2	3,2
<i>D. falcatum</i>	1,40	10,94	10,60	41,82	0,99	7,22	7,15	0,9	8,0
<i>D. latiforus</i>	2,84	23,38	16,66	65,95	3,04	13,00	29,46	4,6	4,6
<i>P. aurea</i>									
<i>albovariegada</i>	0,41	2,64	10,94	31,66	2,29	6,29	12,38	0,9	3,4
<i>P. edulis</i>	0,62	3,86	11,80	29,36	4,28	11,34	16,40	1,2	1,2

Altura da planta (AP) (m), comprimento dos entrenós (CE) (cm), comprimento da folha (CF) (cm), comprimento da bainha do colmo (CO) (mm), comprimento do pseudopéciole (CP) (mm), média do diâmetro do colmo (DC) (mm), largura da folha (LF) (mm), número de gemas por nó (NG) e número de ramos por nó (NR).

Segundo Wahab et al. (2010), características físicas, tais como a altura da planta, número de entrenós por colmos, comprimento dos entrenós e diâmetro do colmo, são consideradas caracteres importantes na determinação da espécie de bambu adequada para as diferentes aplicações. Dessa forma, espécies de bambu que apresentam colmos mais altos e com diâmetros maiores, como *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata* e *D. latiforus*, podem ser aplicadas na construção civil, na produção de carvão vegetal e na indústria moveleira. Já as espécies que possuem colmos mais baixos de diâmetros menores e folhas mais finas, como os de *D. falcatum*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis*, podem ser exploradas como planta ornamental e no paisagismo.

O método proposto por Singh (1981) permitiu estimar a contribuição relativa de cada descritor para indicar a diversidade genética entre as espécies. Dessa forma, o descritor quantitativo que menos contribuiu para a divergência genética entre as espécies estudadas foi a altura da planta (0,22%) e o que mais contribuiu foi o comprimento da bainha do colmo (39,88%), seguido pela largura da folha (18,24%) e pelo comprimento dos entrenós (15,70%) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para a divergência genética entre seis genótipos de bambu (*D. falcatum*, *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. latiforus*, *P. edulis* e *P. aurea albovariegada*), pelo método proposto por Singh (1981). Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

<b>Caracteres</b>	<b>Valor %</b>	<b>% Acumulada</b>
Comprimento da bainha do colmo	39,88	39,88
Largura da folha	18,24	58,12
Comprimento dos entrenós	15,70	73,82
Diâmetro do colmo da região basal do 1° entrenó	5,72	79,54
Diâmetro do colmo da região mediana do 1° entrenó	5,69	85,23
Diâmetro do colmo da região apical do 1° entrenó	5,29	90,52
Média do diâmetro do colmo	4,58	95,1
Comprimento da folha	3,24	98,34
Número de ramos por nó	0,86	99,2
Número de gemas por nó	0,33	99,53
Comprimento do pecíolo	0,25	99,75
Altura da planta	0,22	100,00

Na avaliação da divergência genética, de acordo com os valores de dissimilaridade obtidos, a maior distância genética ocorreu entre as espécies *B. vulgaris vittata* e *P. aurea albovariegada* (Tabela 6). Essas espécies pertencem a gêneros e subtribos diferentes, o gênero *Bambusa* pertence à subtribo *Bambusinae*, enquanto o gênero *Phyllostachys* pertence à subtribo *Shibataeinae* (Das et al., 2008).

A menor distância encontrada entre as espécies foi *B. vulgaris* e *D. latiforus*, que são dois gêneros pertencentes à subtribo *Bambusinae* (Tabela 6).

**Tabela 6.** Medidas de dissimilaridade entre seis genótipos de bambu, com base na distância Euclidiana média. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

<b>Genótipos</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
1. <i>D. falcatum</i>	1,55	2,11	1,48	1,32	0,77
2. <i>B. vulgaris</i>		0,81	0,63	1,23	1,50
3. <i>B. vulgaris vittata</i>			1,04	1,73	2,14
4. <i>D. latiforus</i>				1,39	1,54
5. <i>P. edulis</i>					0,78
6. <i>P. aurea albovariegada</i>					

O método de Tocher permitiu a formação de grupos com base na dissimilaridade expressa pela distância Euclidiana média. Desse modo, para os caracteres qualitativos (Tabela 7), observou-se a formação de três grupos.

O grupo 1 englobou as espécies *D. falcatum*, *B. vulgaris* e *P. edulis*, por não apresentarem ceras na bainha do colmo, caracteres nos nós, espinhos e pilosidades nos entrenós, as espécies apresentaram, ainda, o desenvolvimento evidente de aurículas, formato do colmo cilíndricos, coloração da lâmina foliar verde escura, posição da lâmina intermediária e uniformidade nas colorações do colmo.

O grupo 2 foi composto pelas espécies *B. vulgaris vittata* e *D. latiforus*. As características que favoreceram a formação desse grupo foram a coloração da bainha do colmo verde médio com listras amarelas e das lâminas foliares verde escuro, a ausência de algumas estruturas como ceras e pilosidades na bainha do colmo, caracteres nos nós, espinhos e pilosidades nos entrenós. As espécies também apresentaram o desenvolvimento discreto de lígulas, o formato do colmo cilíndrico, posição da lâmina foliar intermediária, entrenós ocos e uniformidade nas colorações do colmo.

E, finalmente, o grupo 3 composto, apenas, pela espécie *P. aurea albovariegada*, formou-se devido ser essa a única espécie que apresentou coloração da bainha do colmo e da lâmina foliar verde médio com listras brancas e a presença de ceras na bainha do colmo.

**Tabela 7.** Grupos de genótipos de bambu, estabelecidos pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade expressa pela distância Euclidiana média a partir de caracteres qualitativos. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

<b>Grupo</b>	<b>Genótipos</b>	<b>Descritores</b>
<b>1</b>	<i>D. falcatum</i> , <i>B. vulgaris</i> e <i>P. edulis</i>	Ceras na bainha do colmo, cor da lâmina, caracteres nos nós, desenvolvimento de aurículas, espinhos nos entrenós, forma do colmo, pilosidade nos entrenós, posição da lâmina foliar e variações de cores do colmo
<b>2</b>	<i>B. vulgaris vittata</i> e <i>D. latiforus</i>	Cor da bainha do colmo, ceras na bainha do colmo, cor da lâmina, caracteres nos nós, desenvolvimento de lígulas, espinhos nos entrenós, forma do colmo, pilosidade da bainha do colmo, pilosidade dos entrenós, posição da lâmina foliar, preenchimento dos entrenós e variações de cores do colmo
<b>3</b>	<i>P. aurea albovariegada</i>	Cor da bainha do colmo, ceras na bainha do colmo e cor da lâmina foliar

Para os caracteres quantitativos (Tabela 8), houve a formação de quatro grupos. O grupo 1 foi composto pelas espécies *B. vulgaris* e *D. latiflorus* a partir dos descritores da altura da planta, comprimento dos entrenós e diâmetro do colmo, que apresentaram valores muito próximos.

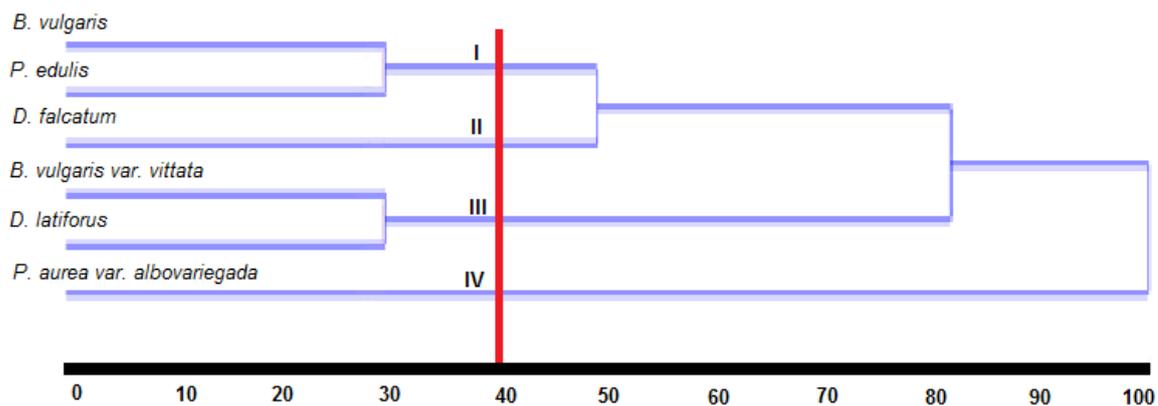
O grupo 2 foi constituído pelas espécies *D. falcatum* e *P. aurea albovariegada*, que apresentaram o comprimento da folha com valores aproximados e uma média de 0,9 gemas por nó.

O grupo 3 foi constituído, apenas, pela espécie *P. edulis* com o comprimento do pseudopécíolo e diâmetro do colmo com valores aproximados. A espécie *B. vulgaris vittata* formou o grupo 4 pela proximidade entre os valores dos descritores do comprimento da folha e diâmetro do colmo.

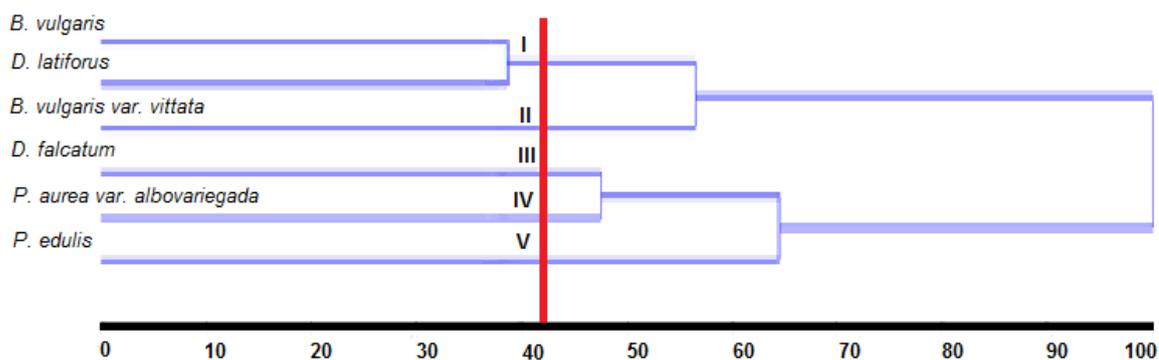
**Tabela 8.** Grupos de genótipos de bambu estabelecidos pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade expressa pela distância Euclidiana média a partir de nove caracteres quantitativos. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

<b>Grupo</b>	<b>Genótipos</b>	<b>Descritores</b>
<b>1</b>	<i>B. vulgaris</i> e <i>D. latiflorus</i>	Altura da planta, comprimento dos entrenós e diâmetro do colmo
<b>2</b>	<i>D. falcatum</i> e <i>P. aurea albovariegada</i>	Comprimento da folha e Número de gemas por nó
<b>3</b>	<i>P. edulis</i>	Comprimento do pseudopécíolo e diâmetro do colmo
<b>4</b>	<i>B. vulgaris vittata</i>	Comprimento da folha e diâmetro do colmo

O dendrograma de similaridade genética entre os seis genótipos de bambu, obtidos pelo método de agrupamento UPGMA, com base na matriz de similaridade dos dados qualitativos (Figura 3), mostrou que, com 40% dos dados, foi possível formar quatro grupos. O dendrograma, com base na matriz de similaridade dos dados quantitativos (Figura 4), mostrou que, com 40% dos dados, formaram-se cinco grupos.

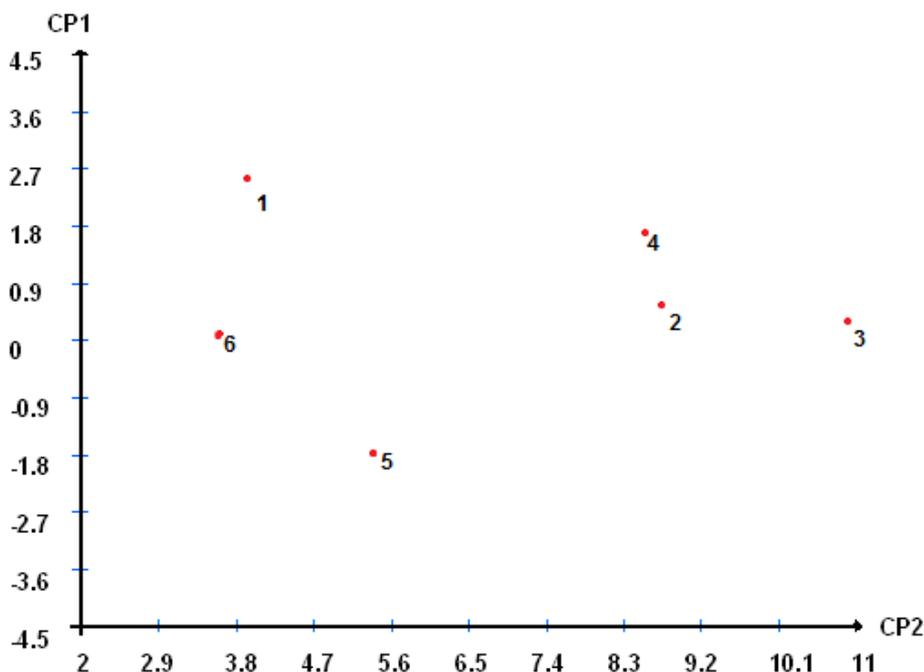


**Figura 3.** Dendrograma da similaridade genética entre seis genótipos de bambu, obtido por UPGMA, com base na matriz de dissimilaridade dos dados qualitativos. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.



**Figura 4.** Dendrograma da similaridade genética entre seis genótipos de bambu, obtido por UPGMA, com base na matriz de dissimilaridade dos dados quantitativos. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

A análise de componentes principais reduziu as nove características quantitativas em dois componentes principais (CP1 e CP2), que explicaram 91,44% da variância total entre as seis espécies. Dessa forma, observa-se uma maior proximidade entre as espécies *D. latiforus* (4) e *B. vulgaris* (2) e maior distância entre as espécies *P. aurea albovariegada* (6) e *B. vulgaris vittata* (3) (Figura 5).



**Figura 5.** Análise dos Componentes Principais (CP1 e CP2), com 91,44% de variância acumulada, entre seis genótipos de bambu: (1) *D. falcatum*, (2) *B. vulgaris*, (3) *B. vulgaris vittata*, (4) *D. latiforus*, (5) *P. edulis* e (6) *P. aurea albovariegada*, baseados nas características quantitativas.

As espécies *D. latiforus* e *B. vulgaris* mostraram ser muito próximas com base nos descritores morfológicos vegetativos. Nessa fase do desenvolvimento, as duas espécies são muito semelhantes. Isso também foi observado em outros trabalhos, como o de Sun et al. (2005), em que, por meio de marcadores moleculares de DNA ribossomal, na análise filogenética, as espécies de *Bambusa* e *Dendrocalamus* ficaram alocadas no mesmo grupo. Segundo Lin (1996), a relação entre as espécies dos gêneros *Dendrocalamus* e *Bambusa*, ainda, não é compreendida, esse fato se deve à semelhança entre muitas espécies desses dois gêneros.

Os sistemas clássicos de classificação em bambus baseiam-se em caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos (Das et al., 2007), embora as características reprodutivas dessas plantas impeçam, muitas vezes, essa classificação. Dessa forma, os descritores vegetativos, embora possam sofrer a influência das condições ambientais, são confiáveis e importantes de serem utilizados em estudos de diversidade.

Neste trabalho, observou-se alta diversidade genética entre as seis espécies estudadas. Das et al. (2007) também encontraram alta diversidade genética entre 15 espécies de bambus na Índia. Já em estudos envolvendo diferentes indivíduos de uma mesma espécie, *Bambusa tulda*, Bhattacharya et al. (2006) encontraram baixa diversidade genética, como esperado. Segundo Bhattacharya et al. (2009), mais estudos são necessários, envolvendo um grande número de bambus de diversas regiões, para obter uma melhor compreensão de sua diversidade genética.

### **3.1.5. CONCLUSÕES**

Os descritores qualitativos e quantitativos propostos foram eficientes para diferenciar as seis espécies estudadas. As espécies apresentaram alta diversidade genética entre si. O descritor quantitativo de comprimento da bainha foi o que mais contribuiu para diferenciar as espécies estudadas.

## 3.2. ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE BAMBU

### 3.2.1. INTRODUÇÃO

Há milênios, o bambu é usado pelo homem, em diversas partes do mundo, para a construção de moradias, móveis, cercas, esteiras, alimentação entre outros usos. Isso se dá devido às suas características físicas, estéticas e mecânicas, leveza, força, flexibilidade e facilidade de trabalho (Bystriakova et al., 2003), além de ser um recurso que oferece, aos países em desenvolvimento, oportunidades de geração de emprego e renda, sendo capaz de responder às demandas da economia local (Almeida, 2010).

Poucos estudos abordam a variabilidade genética em bambu. Portanto, há a necessidade de conservação dessa variabilidade tanto *in situ* quanto *ex situ* (Rao et al., 1990). A coleta e a conservação de germoplasma de bambu são fundamentais para auxiliar em estudos posteriores (Filgueiras e Gonçalves, 2011), envolvendo propagação, melhoramento, cultura de tecidos, taxonomia, genética, dentre outros.

Em muitas espécies de bambus, o florescimento é um fenômeno raro. Além disso, produzem um baixo número de sementes, que, na maioria das vezes, é infértil (Filgueiras, 1988). Dessa forma, a conservação *ex situ* das espécies de bambu por meio de sementes se torna inviável. Assim sendo, faz-se necessário o uso de outros métodos para a conservação desse material vegetal, como as coleções de campo e o cultivo mínimo *in vitro*.

A conservação *ex situ* em campo exige áreas extensas para o plantio, tornando difícil a proteção contra patógenos e pragas, inviabilizando esse tipo de coleção em alguns casos. Dessa forma, a conservação *in vitro* de algumas espécies pode ser uma alternativa para reduzir os custos de manutenção e tornar o processo de conservação da coleção mais eficiente (Nick et al., 2010).

A técnica de cultura de tecidos vegetais, conhecida como crescimento lento ou cultivo mínimo, surge como uma alternativa para a conservação *in vitro* do bambu. Esse método visa minimizar a divisão celular e o crescimento da planta e aumentar sua longevidade, evitando alterações genéticas, aumentando o período de tempo entre os subcultivos (Rao et al., 1990, Souza et al., 2007).

Contudo, ainda são escassos os trabalhos de conservação *in vitro* de espécies de bambus, principalmente os relacionados ao estabelecimento e à multiplicação *in vitro*. Dessa forma, há necessidade de, primeiramente, estabelecer protocolos de desinfestação e definir as condições de cultivo *in vitro* para ser possível aplicar a técnica de conservação por cultivo mínimo em bambu.

### **3.2.2. REVISÃO**

#### **3.2.2.1. Usos dos Bambus**

Os bambus estão entre os recursos naturais renováveis mais importantes durante o desenvolvimento da humanidade (Negi e Saxena, 2011). O bambu esteve presente na cultura e na vida diária do homem primitivo de todos os continentes. Nos tempos mais remotos, o bambu era empregado na fabricação de arcos e flechas, habitações, utensílios domésticos, embarcações e outros. O bambu foi matéria-prima na construção da primeira lâmpada, do avião e da bicicleta (Salgado et al., 1992).

O bambu é responsável pela redução da pobreza em diversas partes do mundo, a partir de sua utilização como material de construção de baixo custo, no processamento de produtos mais sofisticados como móveis e artigos de decoração, chegando a atender consumidores nos países desenvolvidos (Singh et al., 2013). Segundo Negi e Saxena (2011), nas regiões leste e sudeste da Ásia,

os bambus são muito usados, nas comunidades rurais, em construções de casas, como ferramentas agrícolas, na fabricação artesanal de móveis, cestarias, artesanatos, entre outros.

Muitas espécies de bambu são cultivadas como planta ornamental, algumas são usadas no controle da erosão em áreas degradadas, como fonte de matéria-prima estrutural para a habitação, forragem e fonte de fibra para a indústria de papel e celulose, além de ser matéria-prima para artesãos, tornando-se um recurso útil para as economias locais e propriedades rurais (Filgueiras e Gonçalves, 2004; Resende et al., 2011; Sharma e Sarma, 2011). Como são plantas de crescimento rápido possuem grande potencial para produção de biomassa (Sharma e Sarma, 2011).

Do ponto de vista agrônomo, o colmo é a parte mais importante do bambu. Portanto, é com base nas características do colmo que se escolhe a espécie a ser cultivada para fins comerciais (Silva, 2005).

Os bambus são muito usados na recuperação de áreas degradadas, pois seus rizomas se mostram eficientes para promover a estabilização dos efeitos de degradação do solo, podendo reduzir a erosão do solo em, até, 75% (Sharma e Sarma, 2011; Barbosa, 2012).

O bambu possui características agrônomicas e tecnológicas que o tornam uma matéria-prima alternativa à madeira, capaz de fazer frente às demandas emergentes de diversos setores da indústria florestal (Ribas, 2010; Sharma e Sarma, 2011).

Como matéria prima para o papel, o bambu possui fibras estreitas, como a do *Eucalyptus* sp., e longas, como as do *Pinus* sp., proporcionando um perfeito entrelaçamento e conferindo grande resistência aos produtos fabricados (Itapagé, 2005), superando essas duas espécies nos aspectos agrônômicos, devido à sua maior facilidade de cultivo e adaptação a solos marginais e a uma maior amplitude climática (Silva, 2005).

Diferentemente da madeira, a colheita de colmos do bambu equivale a uma poda, devido ao seu grande poder regenerativo (Almeida, 2010). Os colmos podem ser coletados seis vezes antes do primeiro corte do *Pinus*, ou do segundo corte do eucalipto (Borges e Céspedes, 2011). Dessa forma, o retorno econômico do investimento na cultura do bambu é mais rápido, seu ciclo permite cortes

periódicos anuais e bianuais, representando maior produção de celulose (Borges e Céspedes, 2011).

O bambu, como biomassa para a geração de energia, tem um grande potencial tanto na forma de lenha como para a produção de carvão. O poder calorífico do carvão de bambu não difere muito do eucalipto. O carvão de bambu apresenta grande superfície, o que lhe confere um bom poder de adsorção de sólidos e gases (Silva, 2005).

Os teores de lignina, associados à alta resistência conferida pelos colmos, tornam os bambus úteis na construção civil (Safe, 2004). Pesquisadores vêm estudando e confirmando o grande potencial econômico e social do bambu como matéria-prima para a construção civil (Ribas, 2010).

Os pisos de bambu são considerados nobres e com alta qualidade, são muito estáveis por absorverem pouca umidade. O uso de bambu para essa finalidade pode reduzir a exploração excessiva de espécies tropicais produtoras de madeira. Os principais produtores são a China, o Japão, a Índia e os Estados Unidos, sendo bastante utilizado na Europa, na Ásia, na América do Norte e na Austrália (Ostapiv, 2007).

Na indústria moveleira, o bambu é utilizado na elaboração de cadeiras, mesas, estantes, camas, entre outros. Do ponto de vista agrônômico, o cultivo de bambu é compensador pelo fato de ser uma planta perene, capaz de se regenerar após o corte e produzir colmos ano após ano, sem haver necessidade de replantio. Em comparação com a madeira, o bambu apresenta uma série de vantagens, como crescimento rápido e baixo custo, podendo, em muitos casos, tornar-se uma boa alternativa para substituir as madeiras nativas (Ribas, 2010).

Na alimentação, os brotos de bambu podem ser ingeridos frescos, mas também são comercializados enlatados ou congelados. O broto de bambu tem o mesmo valor nutricional que a cebola e é uma boa fonte de fibras, de potássio, de vitaminas B1, B2 e C (Rezende et al., 2011; Linvill et al., 2012).

Estudos indicam que o extrato de folhas de bambu apresenta grande potencial na eliminação de radicais livres, na prevenção do câncer, diabetes e doenças cardíacas. Portanto, folhas de bambu também apresentam grande potencial como matéria-prima para a indústria farmacêutica (Singhal et al., 2011).

Apesar do grande potencial do bambu, ele, ainda, é pouco utilizado, industrialmente, no Brasil, principalmente pela falta de conhecimento sobre suas

espécies, sobre suas características associadas a diversos usos e aplicações, e devido à falta de pesquisas específicas e à insuficiente informação a seu respeito (Marinho et al., 2012).

### 3.2.2.2. Métodos de Conservação em Bambus

Os bambus podem ser conservados *in situ* ou *ex situ*. A conservação *in situ* se refere à conservação no local de origem da espécie em seu habitat, permitindo que a planta continue o seu processo evolutivo. Já a conservação *ex situ* é realizada fora do habitat da espécie por meio de bancos de sementes, coleções de campo, coleções *in vitro* e criopreservação, que proporcionam maior proteção do germoplasma (Kapai et al., 2010).

A erosão genética em bambus nativos é preocupante, pois, geralmente, trata-se de espécies vulneráveis ao desmatamento. Portanto, a conservação de algumas espécies de bambu *in situ*, dentro de reservas ecológicas, faz-se necessária (Bystriakova et al., 2003). Por outro lado, há o risco de pragas, doenças e, até mesmo, adversidades ambientais afetarem a espécie e se tornarem ameaça à conservação *in situ*.

A exploração excessiva e a erosão genética das espécies de bambu tornam necessária a coleta de germoplasma para sua conservação *ex situ*. Para a conservação de recursos genéticos dos bambus, faz-se necessária a correta classificação e identificação das espécies (Rao e Rao, 1998), além de estabelecer a maneira mais adequada de conservação *ex situ*, que, em bambu, pode ser realizada por meio de coleções de campo ou pela cultura de tecidos vegetais.

A cultura de tecidos tem sido utilizada com sucesso para conservar plantas de propagação vegetativa ou que possuem sementes recalcitrantes (Kapai et al., 2010). A conservação *in vitro* é um tipo de conservação *ex situ* que faz uso da técnica conhecida por crescimento lento ou cultivo mínimo, que requer manutenção e multiplicação periódica do material vegetal (Saad e Rao, 2001; Nick et al., 2010).

O método de cultivo mínimo tem o objetivo de minimizar a divisão celular e o crescimento da planta *in vitro*, para aumentar a longevidade, buscando evitar alterações genéticas. Esse método é usado para conservar coleções por curto e

médio prazo, e os tecidos conservados incluem meristemas, gemas axilares, embriões zigóticos, dentre outros (Saad e Rao, 2001).

Alguns problemas relacionados ao cultivo mínimo, como necrose do tecido vegetal, hiperidricidade, nanismo e redução na regeneração de brotos, podem aparecer em tecidos conservados por longos períodos. Novas técnicas, também, estão sendo estudadas como a redução do nível de oxigênio, usando camadas de óleo mineral (Saad e Rao, 2001). Assim sendo, o desenvolvimento de protocolos eficientes para o cultivo mínimo *in vitro* é importante para a conservação de espécies de plantas raras e ameaçadas pela erosão genética (Kapai et al. 2010).

### **3.2.2.3. Propagação *in vitro* do Bambu**

Um dos principais fatores limitantes do cultivo de bambu é a falta de métodos adequados para sua propagação vegetativa, visando a plantios industriais em grandes áreas. Os métodos tradicionais de propagação vegetativa do bambu não são adequados, pois se baseiam na subdivisão das touceiras ou no plantio de pedaços de colmos. Esses métodos são trabalhosos, caros e de baixo rendimento, pois as mudas devem ser desmembradas da touceira matriz, promovendo sua destruição total ou parcial (Azzini et al., 1993; Fonseca, 2007). De acordo com Azzini et al. (1993), a principal limitação do método para o plantio de grandes áreas é o elevado consumo de material fibroso que acompanha as estruturas meristemáticas (gemas), responsáveis pelo enraizamento e brotação, além do elevado número de falhas, quando as condições de umidade do solo não são adequadas.

O uso de sementes de bambu para a sua propagação também é difícil por estarem relacionadas à sua baixa viabilidade, ao difícil armazenamento, à alta taxa de contaminantes microbianos e, principalmente, pelo fato das espécies de grande porte florescerem em intervalos muito longos (Safe, 2004).

A cultura de tecidos vegetais pode ser empregada para a multiplicação de plantas difíceis de serem propagadas por outros métodos, tanto para a produção comercial de mudas quanto para a conservação de germoplasma (Souza et al., 2007). A cultura de tecidos fundamenta-se na totipotência, em que cada célula de uma planta é capaz de regenerar uma planta inteira, tornando-se, assim, possível regenerar várias plantas a partir de uma única gema (Rao et al., 1990; Souza et

al., 2007). Dentro das técnicas de cultura de tecidos, a micropropagação oferece vantagens sobre a técnica de subdivisão de touceiras utilizada para a propagação do bambu. A propagação *in vitro* do bambu pode ser feita por organogênese ou por embriogênese somática (Singh et al., 2013).

Vários protocolos de propagação vegetativa *in vitro* foram publicados para diferentes tipos de bambu: *Bambusa edulis* (Lin et al., 2005), *Dracaena sanderiana* (Gradaille et al., 2010), *Bambusa nutans* (Ndiaye et al., 2006; Mehta et al., 2010), *Bambusa vulgaris* (Negi e Saxena, 2011) e *Bambusa balcooa* (Mudoj e Borthakur, 2009; Sharma e Sarma, 2011). Nesses trabalhos, em geral, é utilizado o meio de cultivo MS (Murashige e Skoog, 1962, suplementado com diferentes concentrações de fitoreguladores AIA (ácido indolil-3-acético), AIB (ácido indolbutírico), ANA (ácido naftalenoacético), BA (benziladenina) e 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), para indução de raízes, brotação e calos nos explantes de bambus.

As técnicas de propagação vegetativa *in vitro* possuem um grande potencial para atender à demanda de material vegetal de bambu, com as mesmas características da planta matriz. No entanto, apresenta alguns problemas, como contaminação por fungos e bactérias, necrose dos explantes ou brotos durante a multiplicação, ocorrência de variações somaclonais, baixa porcentagem de enraizamento e sobrevivência durante a fase de aclimatização (Negi e Saxena, 2011; Singh et al., 2013).

### 3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Setor de Horticultura do Laboratório de Fitotecnia (LFIT) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ.

Os seis genótipos (*B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latiflorus*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis*) utilizados no estudo tinham cerca de um ano de plantio, mantidos em casa de vegetação, na Unidade de Apoio à Pesquisa –

UAP/CCTA/UENF. As plantas matrizes foram doadas pelo Laboratório Biomudas, localizado em Venda Nova do Imigrante – ES.

Para o estabelecimento *in vitro* de bambu, foram realizados três experimentos de desinfestação, com a finalidade de encontrar um protocolo eficiente em reduzir a quantidade de contaminações ocasionadas por fungos e bactérias.

### **3.2.3.1. Estabelecimento de segmentos nodais de bambu *in vitro***

#### **3.2.3.1.1. Experimento de Desinfestação I**

Foram excisados, das plantas matrizes de *B. vulgaris vittata*, segmentos nodais das partes mais jovens, contendo, pelo menos, uma gema e medindo cerca de 3 cm de comprimento. Em seguida, os segmentos nodais foram lavados com detergente neutro e água corrente e utilizados como explante.

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 3, onde os explantes foram tratados com quatro diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (0,00%; 1,00% e 1,50% e 2,0%), durante os tempos de 15, 20 e 25 minutos, com 10 repetições. Cada repetição foi constituída de um tubo de ensaio com 10 mL de meio de cultura e um explante.

O procedimento de desinfestação foi realizado em câmara de fluxo laminar, onde os explantes foram embebidos em álcool 70%, por um minuto, e, nas diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, por 15, 20 e 25 minutos. Em seguida, foram enxaguados, três vezes, em água desionizada e autoclavada, nos tempos de 5, 10 e 10 minutos.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio, contendo meio composto pelos sais minerais do MS e vitaminas de White (Murashige e Skoog, 1962), acrescidos de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, pH 5,7, e solidificados com 8 g L<sup>-1</sup> de ágar bacteriológico em pó Vetec<sup>®</sup>, autoclavados por 20 minutos a 120° C. Os tubos de ensaio, contendo os explantes, foram mantidos em sala de cultivo, em luz fornecida por lâmpadas fluorescentes OSRAM<sup>®</sup> luz do dia, com irradiância de 25 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16:8 horas luz:escuro. O material foi avaliado pela contagem do número de tubos com explantes contaminados.

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade com o auxílio do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

### **3.2.3.1.2. Experimento de Desinfestação II**

Foram excisados das plantas matrizes das seis espécies estudadas (*B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latiforus*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis*) segmentos nodais das partes mais jovens, contendo, pelo menos, uma gema e medindo cerca de 3 cm de comprimento. Em seguida, os segmentos nodais foram lavados com detergente neutro e água corrente.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos compostos pelas seis espécies e 25 repetições. Cada repetição consistiu de um tubo de ensaio com um explante e 10 mL de meio de cultura.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em álcool 70%, por um minuto, em 100 mL de hipoclorito de sódio a 1,80% com duas gotas de Tween 20, durante 15 minutos. Em seguida, foram enxaguados, três vezes, em água desionizada e autoclavada, nos tempos de 5, 10 e 10 minutos.

Os segmentos nodais foram cortados no ápice e na base, reduzindo seu tamanho para cerca de 2,0 cm e foram inoculados em tubos de ensaio, contendo meio composto pelos sais minerais do MS e vitaminas de White (Murashige e Skoog, 1962), acrescidos de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, pH 5,7 e solidificados com 8 g L<sup>-1</sup> de ágar bacteriológico em pó Vetec<sup>®</sup> autoclavados, por 20 minutos a 120° C. Os explantes foram cultivados em luz fornecida por lâmpadas fluorescentes OSRAM<sup>®</sup> luz do dia, com irradiância de 25 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16:8 horas luz:escuro. O material foi avaliado pela contagem do número de tubos contendo explantes contaminados.

### **3.2.3.1.3. Experimento de Desinfestação III**

Segmentos nodais, contendo, pelo menos, uma gema e medindo cerca de 3 cm de comprimento, foram excisados das partes mais jovens das plantas matrizes de *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latiforus*, *P. aurea*

*albovariegada* e *P. edulis*. Em seguida, os segmentos nodais foram lavados com detergente neutro e água corrente.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 6 x 2, onde os explantes oriundos das seis espécies foram inoculados em dois tipos de meio MS, um contendo 0,0003% de hipoclorito de sódio L<sup>-1</sup> que foi adicionado ao meio em câmara de fluxo laminar logo após a autoclavagem e outro meio sem a adição de hipoclorito de sódio, com 25 repetições. Cada repetição consistiu de um tubo de ensaio com um explante e 10 mL de meio de cultura.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em álcool 70% por um minuto, em 100 mL de hipoclorito de sódio, a 1,80% com duas gotas de Tween 20, durante 15 minutos. Em seguida, foram enxaguados, três vezes, em água desionizada e autoclavada, nos tempos de 5, 10 e 10 minutos.

Os segmentos nodais foram cortados no ápice e na base, reduzindo seu tamanho para cerca de 2,0 cm e foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio composto pelos sais minerais do MS e vitaminas de White (Murashige e Skoog, 1962), acrescidos de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, pH 5,7 e solidificados com 8 g L<sup>-1</sup> de ágar bacteriológico em pó Vetec<sup>®</sup> autoclavados por 20 minutos, a 120° C. Os explantes foram cultivados em luz fornecida por lâmpadas fluorescentes OSRAM<sup>®</sup> luz do dia, com irradiância de 25 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16:8 horas luz:escuro. O material foi avaliado pela contagem do número de tubos contendo explantes contaminados.

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram agrupadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade com o auxílio do programa SAEG (2007).

### **3.2.3.2. Multiplicação de bambus *in vitro***

Segmentos nodais das brotações estabelecidas *in vitro* de cinco espécies, *D. falcatum*, *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *P. edulis* e *P. aurea albovariegada*, foram inoculados em um meio constituído pelos sais minerais do MS e vitaminas de White (Murashige e Skoog, 1962), acrescidos de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 2 mg L<sup>-1</sup> (8,88 µmol L<sup>-1</sup>) de BA e 0,2 mg L<sup>-1</sup> (1,07 µmol L<sup>-1</sup>) de ANA, pH 5,7 e solidificados com 8 g L<sup>-1</sup> de ágar bacteriológico em pó Vetec<sup>®</sup>.

Os explantes foram cultivados em luz fornecida por lâmpadas fluorescentes OSRAM® luz do dia, com irradiância de  $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16:8 horas luz:escuro. O material foi avaliado pela sobrevivência e pelo crescimento dos explantes.

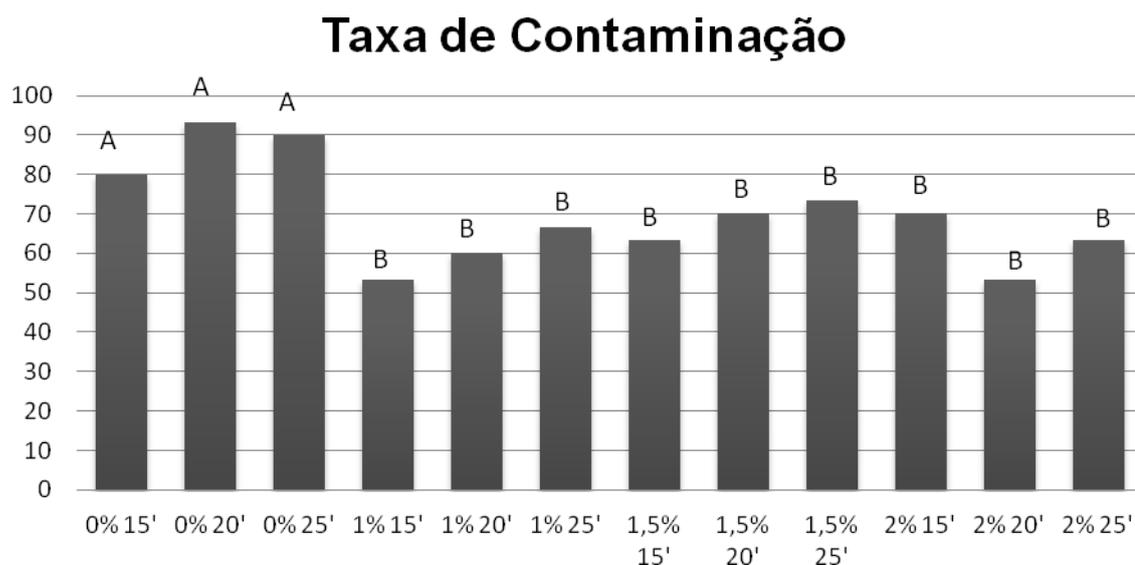
Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa computacional SAEG (2007).

### 3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

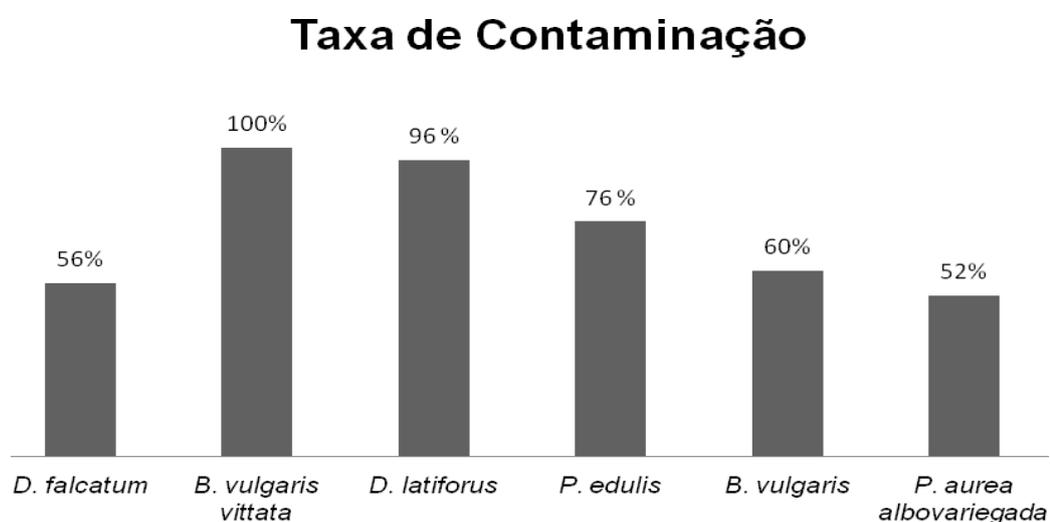
A desinfestação consiste na remoção dos contaminantes existentes na superfície do explante oriundo da casa de vegetação ou do campo e deve ser o primeiro passo para o estabelecimento *in vitro* de qualquer material vegetal (Cid e Teixeira, 2010). Usualmente, a desinfestação é realizada com o auxílio de soluções de hipoclorito de sódio, de Tween 20, álcool 70%, entre outras substâncias capazes de remover os contaminantes superficiais de maneira eficiente sem levar o explante à morte.

No primeiro experimento de desinfestação, realizado, apenas, com a espécie *B. vulgaris vittata*, observa-se alta contaminação fúngica e bacteriana. Embora o uso de hipoclorito de sódio tenha reduzido a contaminação, diferenciando-se, estatisticamente, dos tratamentos sem hipoclorito de sódio, todos os tratamentos apresentaram contaminação acima de 50% (Figura 1).

O segundo experimento de desinfestação foi realizado com as seis espécies estudadas, *D. falcatum*, *P. aurea albovariegada*, *P. edulis*, *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata* e *D. latiforus*, buscando identificar as espécies que apresentam maiores contaminações. Altas taxas de contaminação foram observadas nas espécies *B. vulgaris vittata* e *D. latiforus*. As espécies que apresentaram as menores taxas foram *P. aurea albovariegada* e *D. falcatum* (Figura 2).



**Figura 1.** Porcentagem de contaminação por fungos e bactérias em segmentos nodais de *B. vulgaris vittata* submetidos a diferentes concentrações de NaClO (%) em diferentes tempos (minutos). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 2.** Porcentagem de contaminação das espécies de bambu submetidos à desinfestação com hipoclorito de sódio a 1,8%.

No terceiro teste de desinfestação, utilizou-se de meio MS com e sem adição de 0,0003% de hipoclorito de sódio ao meio de cultura. Não houve efeito da adição de NaClO ao meio de cultura para a maioria das espécies, sendo a carga microbiana inicial do explante o principal fator responsável pela contaminação (Tabela 1).

**Tabela 1.** Análise de variância do terceiro experimento de desinfestação com as espécies *B. vulgaris*, *B. vulgaris vittata*, *D. falcatum*, *D. latiforus*, *P. aurea albovariegada* e *P. edulis*. Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Meio	1	0,83333	0,83333	0,462 <sup>ns</sup>	0,49723
Espécie	5	14,33667	2,86733	15,905 <sup>**</sup>	0,00000
Meio x Espécie	5	4,57667	0,9153333	5,077 <sup>**</sup>	0,00017
Resíduo	288	51,92000	0,1802778		
CV (%) = 68,853					

ns – não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade.

Para o meio sem adição de hipoclorito de sódio, as espécies *D. falcatum* e *P. edulis* foram as que apresentaram as menores taxas de contaminação (36%), enquanto as maiores taxas de contaminação foram observadas nas espécies *B. vulgaris vittata* (96%) e *D. latiforus* (92%) (Tabela 2).

Para o meio com adição de hipoclorito de sódio, as maiores taxas de contaminação foram observadas nas espécies *D. latiforus* (100%) e *D. falcatum* (80%) e as menores taxas foram observadas nas espécies *P. edulis* (24%) e *B. vulgaris* (36%) (Tabela 2). Resultados anteriores também mostraram alta contaminação em segmentos nodais de *D. latiforus* e *B. vulgaris vittata* (Figura 2).

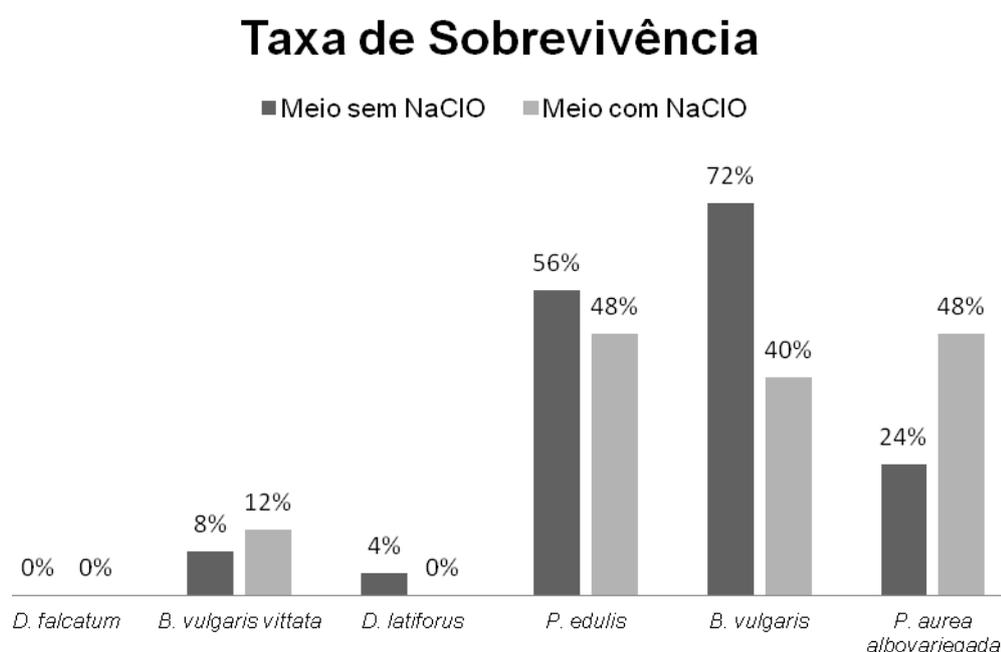
A adição de hipoclorito de sódio ao meio de cultivo para a espécie *B. vulgaris vittata* foi mais eficiente no controle da contaminação do que nas demais. Porém, para a espécie *D. falcatum*, o meio sem a adição do hipoclorito de sódio foi mais eficiente na redução da contaminação (Tabela 2).

**Tabela 2.** Porcentagem de contaminação de segmentos nodais de seis espécies de bambu inoculadas em meio MS com e sem adição de 0,0003% de hipoclorito de sódio. Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

Espécies	Meios	
	Sem NaClO	Com NaClO
<i>D. falcatum</i>	36 C b	80 AB a
<i>B. vulgaris vittata</i>	96 A a	60 BC b
<i>D. latiforus</i>	92 A a	100 A a
<i>P. edulis</i>	36 C a	24 D a
<i>B. vulgaris</i>	48 BC a	36 CD a
<i>P. aurea albovariegada</i>	72 AB a	60 BC a

Médias seguidas de, pelo menos, uma mesma letra, maiúscula (na coluna) e minúscula (na linha), não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A sobrevivência dos explantes também foi avaliada, e algumas espécies apresentaram uma grande sensibilidade às condições deste experimento, como a espécie *D. falcatum*, em que 100% dos explantes inoculados nos dois tipos de meio morreram. Resultado semelhante foi observado para a espécie *D. latiforus*. Por outro lado, sobreviveram 72% dos explantes de *B. vulgaris* e 56% dos explantes de *P. edulis* no meio sem adição de NaClO (Figura 3). Soto e Arias (2001), trabalhando no estabelecimento *in vitro* de *Bambusa vulgaris*, também observou o escurecimento e morte dos explantes de bambu uma semana após a desinfestação e inoculação.



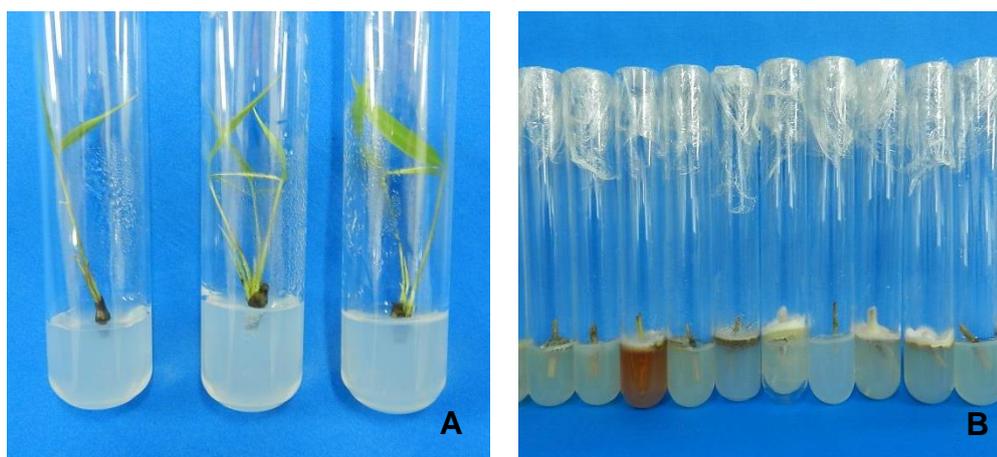
**Figura 3.** Porcentagem de sobrevivência dos segmentos nodais das seis espécies de bambu submetidas ao meio de cultivo com e sem adição de NaClO.

Na cultura de tecidos vegetais, a contaminação pode ser um grande obstáculo para o estabelecimento e a propagação de clones (Cid e Teixeira, 2010). A partir dos resultados obtidos nesses experimentos, observa-se uma grande dificuldade em se obter explantes de bambu livres de contaminantes *in vitro* (Figura 4).

Essa dificuldade também foi relatada por Lemos et al. (2011), que trabalharam com sementes e segmentos nodais de *Guadua angustifolia*

desinfestados com hipoclorito de sódio a 2%, durante 20 minutos. A contaminação foi reduzida com o uso de fungicidas e antibióticos durante o estabelecimento do bambu *in vitro*.

Sánchez (2011) também encontrou dificuldades na desinfestação de segmentos nodais de bambu, com porcentagem de contaminação por fungos e bactérias de, até, 100%. A contaminação por micro-organismos é o principal fator limitante no estabelecimento de segmentos nodais de bambu *in vitro*.



**Figura 4.** A) Explantes de bambu livres de contaminantes, B) Explantes de bambu apresentando diferentes tipos de contaminações ocasionadas por fungos e bactérias, 10 dias após a desinfestação.

Diversos trabalhos testaram a eficiência de reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultivo para a emissão de brotações e multiplicação de bambus (Agnihotri e Nandi, 2008; Mudoj et al., 2009), e os melhores resultados relatados foram obtidos com o uso  $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$  de BA e  $1,07 \mu\text{mol L}^{-1}$  ANA.

Os resultados do experimento de multiplicação mostram que, nas condições desse trabalho, as concentrações de fitoreguladores adicionados ao meio de cultivo para as espécies estudadas, *B. vulgaris vittata*, *P. edulis*, *B. vulgaris*, *D. falcatum* e *P. aurea albovariegada*, não foram satisfatórios, pois as brotações apresentaram muita oxidação e alta taxa de mortalidade (Tabela 3 e Figura 5).



**Figura 5.** Baixo desenvolvimento de explantes de bambu submetidos ao meio de multiplicação *in vitro*.

A maior formação de brotação foi observada na espécie *B. vulgaris vittata*, em que todos os explantes inoculados no meio com fitoreguladores apresentaram brotações. A espécie *D. falcatum* apresentou a menor formação de brotos, apenas, em 5% dos explantes (Tabela 3).

**Tabela 3.** Porcentagem de brotação, oxidação e mortalidade de explantes de cinco espécies de bambus durante a fase de multiplicação *in vitro*. Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

<b>Espécies</b>	<b>Brotação %</b>	<b>Oxidação %</b>	<b>Mortalidade %</b>
<i>B. vulgaris</i>	80 AB	16,7 A	40 B
<i>B. vulgaris vittata</i>	100 A	30 A	70 AB
<i>D. falcatum</i>	5 B	0 A	100 A
<i>P. aurea albovariegada</i>	10 AB	0 A	60 AB
<i>P. edulis</i>	29 AB	20 A	50 B

Médias seguidas de, pelo menos, uma mesma letra maiúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A oxidação fenólica consiste no escurecimento do explante durante o cultivo *in vitro*. Foi observada a ocorrência de oxidações nos explantes de *B. vulgaris* (16,7%), *B. vulgaris vittata* (30%) e *P. edulis* (20%). Porém, as médias de todas as espécies estudadas não se diferenciaram, estatisticamente, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 3).

Soto e Arias (2001), durante o estabelecimento *in vitro* de *Bambus vulgaris*, também observaram a ocorrência de oxidação nos explantes de bambu. Assim sendo, a oxidação e morte dos explantes devido aos compostos fenólicos podem

ser controladas, usando-se antioxidantes e carvão ativado adicionados ao meio de cultivo (Singh et al., 2013).

A espécie *D. falcatum* se mostrou muito sensível às concentrações de fitoreguladores, em que 100% dos explantes não sobreviveram. As menores taxas de mortalidade foram observadas nas espécies *B. vulgaris* (40%) e *P. edulis* (50%).

Segundo Cid e Teixeira (2010), nem todos os explantes reagem da mesma forma *in vitro*; dessa forma, as condições de cultivo *in vitro* devem atender aos requerimentos nutricionais e hormonais específicos para cada espécie e para cada tipo de explante.

### 3.2.5. CONCLUSÕES

O uso de hipoclorito de sódio para a desinfestação de explantes de bambu ajudou a reduzir a quantidade de contaminações por fungos e bactérias. Porém, as concentrações e tempos utilizados não foram eficientes na desinfestação dos explantes, por apresentarem altas taxas de contaminação inicial.

As espécies *B. vulgaris vittata* e *D. latiforus* foram as espécies com maiores dificuldades de estabelecimento *in vitro* por apresentarem as maiores taxas de contaminações por fungos e bactérias.

O uso de hipoclorito de sódio na concentração de 0,0003%, adicionado ao meio de cultivo, ajudou a diminuir a porcentagem de contaminação para a espécie *B. vulgaris vittata*.

As concentrações de fitoreguladores, adicionadas ao meio de cultivo, não foram eficientes para a multiplicação de brotações de *B. vulgaris vittata*, *P. edulis*, *B. vulgaris*, *D. falcatum* e *P. aurea albovariegada*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, W. (2012) Bambus ajudam na formação geológica de rios na Amazônia. <http://www.portalamazonia.com.br/editoria/meio-ambiente/bambus-ajudam-na-formacao-geologica-de-rios-na-amazonia/> em 25/05/2013.
- Agnihotri, R. K., Shyamal N. (2009) *In vitro* Shoot Cut: A High Frequency Multiplication and Rooting Method in the Bamboo *Dendrocalamus hamiltonii*. *Biotechnology*, 8(2):259-263.
- Alexander, M. P., Rao, T. C. (1968) *In vitro* culture of bamboo embryo. *Current Science*, 15, p. 37.
- Almeida, J. G. (2010) Proposta para a Implantação de uma rede brasileira do bambu. Anais do I Seminário Nacional do Bambu. 2. ed. Brasília: CPAB, Universidade de Brasília, 196p.
- Azzini, A., Claramello, D., Nagai, V. (1978) Propagação vegetativa do bambu-gigante; *Bragantia*, v. 37.
- Azzini, A., Salgado, A. L. B. (1993) Enraizamento de propágulos de Bambu em diferentes substratos. Campinas – SP, *Bragantia*, 52(2): 113-118.

- Bamboo Phylogeny Group, (2012) An Updated Tribal and Subtribal Classification of the Bamboos (Poaceae: Bambusoideae). *The Journal of the American Bamboo Society*, 24(1):1-10.
- Barbosa, A. C. (2012) Bioengenharia utilizando bambus em faixas para o controle de processos erosivos: uma análise qualitativa. *Polibotanica*. 33:223-243.
- Bhattacharya, S., Das, M., Bar, R., Pal, A. (2006) Morphological and Molecular Characterization of *Bambusa tulda* with a Note on Flowering. *Annals of Botany*, 98: 529–535.
- Bhattacharya, S., Ghosh, J. S., Das, M., Pal, A. (2009) Morphological and molecular characterization of *Thamnocalamus spathiflorus* subsp. *spathiflorus* at population level. *Plant System Evolution*, 282, p. 13–20.
- Borges, O., Céspedes G. H. G. (2011) Os Benefícios Socioambientais das Florestas de Bambu (*Bambusa vulgaris*), no Nordeste do Brasil. *Anais do I Seminário Nacional do Bambu*. 2. ed. Brasília: CPAB, Universidade de Brasília, 196p.
- Bystriakova, N., Kapos, V., Lysenko, I. (2003) Bamboo Biodiversity: Africa Madagascar and the Americas. UNEP-WCMC/INBAR. Disponível em: [http://www.unep-wcmc.org/resources/publications/UNEP\\_WCMC\\_bio\\_series/19.htm](http://www.unep-wcmc.org/resources/publications/UNEP_WCMC_bio_series/19.htm), acesso em: 19/11/2013.
- Calderón, C. E., Soderstrom, T. R. (1980) The genera of Bambusoideae (Poaceae) of the American continent. *Smithsonian Contributions to Botany*, 44: 1-27.
- Cid, L. P. B., Teixeira, J. B., (2010) Oxidação fenólica, Vitriificação e Variação Somaclonal, In: Cultivo *in vitro* de plantas, editor técnico Cid L. P. B., *Embrapa Informação Tecnológica*, Brasília, DF p. 51-66.

- Clark, L. G., (1990) Diversity and Biogeography of Neotropical Bamboos (Poaceae: *Bambusoideae*). *Acta Botânica Brasil*, 4(1).
- Clark, L.G., Dransfield, S., Triplett, J. Sánchez-Ken, J. G. (2007) Phylogenetic relationships among the one-flowered, determinate genera of Bambuseae (Poaceae: *Bambusoideae*) In: Columbus J.T., Friar E.A., Hamilton, C.W., Porter J.M., Prince L.M. and Simpson M.G. Eds. *Monocots: Comparative Biology and Evolution—Poales*, p. 315-332.
- Crouzet, Y., Starosta. P. (1998) Bamboos. Evergreen, Itália: 121p.
- Cruz, C. D. (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*. 35(3): 271-276.
- Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v.2.
- Das, M.; Bhattacharya, S.; Basak, J.; Pal, A. (2007) Phylogenetic relationships among the bamboo species as revealed by morphological characters and polymorphism analyses. *Biologia Plantarum*, 51 (4): 667-672.
- Das, M., Bhattacharya, S., Singh, P., Filgueiras, T. S., Pal, A. (2008) Bamboo Taxonomy and Diversity in the Era of Molecular Markers. *Advances in Botanical Research*, 47.
- Ferreira, D. F. (1996) Análise multivariada. *Universidade Federal de Lavras – UFLA –Departamento de Ciências Exatas*, Lavras, MG, 400p.
- Ferreira, D. F. (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* (UFLA). 35(6): 1039-1042.
- Filgueiras, T. S. (1988) Bambus nativos do Distrito Federal, Brasil (Gramineae: *Bambusoideae*). *Revista Brasileira Botânica*, 11: 47-66.

- Filgueiras, T. S., Gonçalves, A. P. S. (2004) A Checklist of the Basal Grasses and Bamboos in Brazil (POACEAE). *The Journal of the American Bamboo Society*, 18(1): 7-18.
- Filgueiras T. S., Gonçalves, A. P. S. (2011) Bambus nativos no Brasil: oportunidades e desafios para seu conhecimento. Anais do I Seminário Nacional do Bambu. 2. ed. Brasília: CPAB, Universidade de Brasília, 2011, 196p.
- Fonseca, F. K. P. (2007) Produção de mudas de bambu *Guadua augustifolia* Kunth (Poaceae) por propagação vegetativa. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Rio Largo – AL – Universidade Federal de Alagoas, 58p.
- Galvão, F., Augustin, C. R., Curcio, G. R. Domanowski, B. P., Koreza, C., Sawzu, A. T., Bonnet, A. (2009) Autoecologia de *Guadua* aff. *Paraguayana* (Poaceae). *Pesquisa Floresta Brasileira*, Colombo, 58: 05-16.
- Gradaille, M. D., Rodríguez, D. P., Más, Y. L., Torrijo, F. S. (2010) Propagación *in vitro* de Bambú Chino (*Dracaena sanderiana* L.). *Ciencia y Tecnología*, 3(1): 7-13.
- Grombone-Guaratini M. T., Nascimento A. A., Santos-Gonçalves A. P. (2011) Flowering and fruiting of *Aulonemia aristulata*: a gynomonocious woody bamboo species from Atlantic Forest in Brazil. *Revista Brasileira Botanica*, 34(1): 135-140.
- Gonçalves A. P. S., Okano R. M. C., Vieira M. F., Filgueiras T. S. (2011) Bambus (Bambusoideae: Poaceae) do Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais: Florística e Morfologia. *In: I Seminário Nacional do Bambu. Anais do I Seminário Nacional do Bambu*. 2. ed. Brasília: CPAB, Universidade de Brasília, 196p.

- GPWG [Grass Phylogeny Working Group], (2001) Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88: 373-457.
- Guerreiro, C. I., Lizarazu M. A. (2010) Flowering of *Bambusa tuldooides* (Poaceae, Bambusoideae, Bambuseae) in southern South America. *Darwiniana*, 48(1): 25-31.
- Guo, Z. H., Li, D. Z. (2004) Phylogenetics of the *Thamnocalamus* group and its allies (Gramineae: Bambusoideae) inferred from the sequences of GBSSI gene and ITS spacer. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30: 1-12.
- Itapagé (2005). [http://www.itpage.com/html/a\\_fabrica\\_p.htm](http://www.itpage.com/html/a_fabrica_p.htm), em 01/05/2013.
- Judziewicz, E. J., Soreng, R. J., Davidse, G., Peterson, P. M., Filgueiras, T. S. Zuloaga, F., (2000) Catalogue of New World Grasses (Poaceae): I. Subfamilies Anomochlooideae, Bambusideae, Ehrhartioidae, Pharoideae. Chiefe editor: Soreng, R. J., *Smithsonian Institution*, vol. 39:1-128.
- Kapai, V. Y., Kapoor, P., Rao I. U., (2010) *In Vitro* Propagation for Conservation of Rare and Threatened Plants of India – A Review. *International Journal of Biological Technology*, 1(2):1-14.
- Lei 12.484 (2011) Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu - *PNMCB*.
- Lemos, E. E. P., Fonseca, F. K. P., Oliveira, J. F., Leão, I. B., Rezende, L. P., Souza, C. D., Filgueiras, T. S., Ferreira, M. O. (2011) Inovações Tecnológicas para a Propagação de Espécies de Bambu. . *In: I Seminário Nacional do Bambu. Anais do I Seminário Nacional do Bambu*. 2. ed. Brasília: CPAB, Universidade de Brasília, 196p.

- Lin, D. Z. (1996) The Flora of China Bambusoideae Project: Problems and current understanding of bamboo taxonomy in China. In: Chapman, G. P. *The Bamboos*, p. 61-81.
- Lin, C. S., Lin, C. C., Chang, W. C. (2003) In vitro flowering of *Bambusa edulis* and subsequent plantlet survival. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 72: 71–78.
- Lin, C. S., Lin, C. C., Wei-Chin Chang, W. C. (2005) Shoot regeneration, re-flowering and post flowering survival in bamboo inflorescence culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82: 243–249.
- Linville, D., Linton, F., Hotchkiss, M., (2012) Growing Bamboo in Georgia. *UGA Cooperative Extension Bulletin*, 1357.
- Londoño X. (2010) Evaluation of Bamboo Resources in Latin America. *Instituto Vallecaucano de Investigaciones Científicas Cali*, Colombia.
- Marinho, N. P., Nisgoski, N., Klock, U., Andrade, A. S., Muñoz, G. I. B. (2012) Análise química do bambu-gigante (*dendrocalamus giganteus* wall. ex munro) em diferentes idades. Santa Maria, *Ciência Florestal*, 22(2): 417-422.
- Medina, J. C., Ciaramello, D., Castro, A. P. (1962) Propagação vegetativa de Bambu Imperial (*Bambusa vulgaris* Schard. var. *vittata* A. et C. Riv) Campinas – SP, *Bragantia*, 21(37).
- Mehta, R., Sharma, V., Sood, A., Sharma, M., Sharma, R. K. (2011) Induction of somatic embryogenesis and analysis of genetic fidelity of in vitro-derived plantlets of *Bambusa nutans* Wall. using AFLP markers. *European Journal of Forest Research*, 130:729–736
- Moreira, A. C. O. (2012) Caracterização de *Bambusa vulgaris* Schard. ex J. C. Wendl. var. *vulgaris*, e dos Resíduos de Caldeira no Processo de Conversão Térmica de Energia. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais,

Departamento de Engenharia Florestal, *Universidade de Brasília*, Brasília, DF, 72p.

- Moris, S. A., Boom, B., Carvalho, A. M., Santos, T. S. (1983) Southern Bahian moist forest. *Botanical Review*, 49: 155-232.
- Mudoj, K. D., Borthakur, M. (2009) *In vitro* micropropagation of *Bambusa balcooa* Roxb. through nodal explants from field-grown culms and scope for upscaling. *Current Science*, 96(7).
- Murashige, T., Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*, 15:473–497.
- Nath, A. J., Das, G., Das, A. K. (2004) Phenology and Culm Growth of *Bambusa cacharensis* R. Majumdar in Barak Valley, Assam, North-East India. *The Journal of the American Bamboo Society*, 18(1): 7-18.
- Ndiaye, A., Diallo, M. S., Niang, D., Gassama-Dia, Y. K. (2006) *In vitro* regeneration of adult trees of *Bambusa vulgaris*. *African Journal of Biotechnology*, 5(13): 1245-1248.
- Negi, D., Saxena, S. (2011) *In vitro* propagation of *Bambusa nutans* Wall. ex Munro through axillary shoot proliferation. *Plant Biotechnology*, 5: 35–43.
- Nick, C., Silva, D. J. H., Mattedi, A. P., Pedrosa, D. A. (2010) Conservação ex situ dos recursos fitogenéticos. In: Pereira, T. N. S. *Germoplasma: Conservação, manejo e uso no Melhoramento de Plantas*. Viçosa, MG, Arca, 59-88.
- Oliveira, L. F. A. (2013) *Conhecendo Bambus e suas Potencialidades para uso na Construção Civil*. Monografia (Especialização em Construção Civil) Brasília - Escola de Engenharia UFMG, 82p.
- Oliveira, R. P., Longhi-Wagner, H. M., Jardim J. G. (2011) *Diversidade e Conservação dos Bambus herbáceos (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae) da*

*Mata Atlântica, Brasi.* Anais do I Seminário Nacional do Bambu. 2. ed. Brasília: CPAB, Universidade de Brasília, 196p.

Ostapiv, R. (2007) *Análise e melhoria do processo produtivo de tábuas de bambu (Phyllostachys pubescens) com foco em pisos.* Dissertação (Mestrado em Engenharia de materiais), Curitiba, PR, Universidade Tecnológica Federal DO Paraná, 116p.

Pereira, J. E. S., Costa, F. H. S. (2010) Conservação in vitro de recursos genéticos de plantas: estratégias, princípios e aplicações. *In: Cultivo in vitro de plantas*, editor técnico Cid L. P. B., *Embrapa Informação Tecnológica*, Brasília, DF, p. 177- 234.

Ramanayake, S. M. S. D. (2006) Flowering in Bamboo: An Enigma!. *Ceylon Journal of Science, (Biological Sciences)* 35(2): 95-105.

Rao, R.C. (1952) *Advanced statistical methods in biometric research.* New York: J. Wiley, p. 330.

Rao, I. V. R., Rao, I. U. (1990) Tissue Culture Approaches to the Mass-propagation and Genetic Improvement of Bamboos. *In: Rao I. V. R., Rao, Gnanaharan, R, Sastry, C. B. Bamboos*, India, 151-158.

Rao, A. N., Rao, V. R., Williams J. T. (1998) Priority species of bamboo and rattan. *IPGRI e INBAR*, 156p.

Resende, C. D. S., Costa, J. V., Brito, A. S., Rauecker, U. N., Rodovalho, L. F. F. (2011) Obtenção do Extrato Hidroalcoólico da *Bambusa vulgaris vittata* e Avaliação da Atividade Antimicrobiana. *In: II Seminário de Pesquisas e TCC da Faculdade União de Goyazes, 2011, Trindade- GO. Anais do II Seminário de Pesquisas e TCC da Faculdade União de Goyazes.*

Ribas, R. P. (2010) Bambu: Planta de Grande Potencial no Desenvolvimento Sustentável. Disponível em

:

<http://www3.mg.senac.br/NR/rdonlyres/ebct4snas56zftg4uufdapm2vk7fmedw5tdeoexhuj2k5v77xsp7xt6xu7glaxgju6xxmoub3ihqbl/Rodrigo%252BPinheiro%252BRibas%25252e8.pdf>, acesso em 18/04/2013.

Rodrigues, R., Bento, C. S., Silva, M. G. M., Sudré, C. P. (2010) Atividades de Caracterização e avaliação em bancos de germoplasma. In: Pereira, T. N. S. Germoplasma: Conservação, manejo e uso no Melhoramento de Plantas. Viçosa, MG, Arca, 115-140.

Saad, M. S., Rao V. R., (2001) Establishment and management of field Genebank, a training manual. IPGRI-APO.

Saarela, J. M., (2007) The North American flowering of the cultivated fountain bamboo, *Fargesia nitida* (Poaceae: Bambusoideae), in Vancouver, British Columbia, Canada; *Davidsonia*, 18(2): 43–55.

SAEG: Sistema para Análises Estatísticas (2007), Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV – Viçosa.

Safe, S. (2004) Bambus como Recurso Florestal - Suas aplicações, manejo, silvicultura, propagação, entomologia e a situação no DF. Monografia (Engenheiro Florestal), Brasília – DF, *Universidade de Brasília*, 50p.

Salgado, A. L., Azzini, A., Ciaramello, D., Maçedo, E. L., (1992) Instruções técnicas sobre o bambu. Campinas, *Instituto Agrônomo*, 43 p.

Sánchez, N. L. (2011) Propagación in vitro y convencional de tres especies de Bambú. Tese (Mestrado em Ciências), Puebla - México, *Colégio de Postgraduados – Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas*, 78p.

- Schmidt, R. Longhi-Wagner, H. M. (2009) A tribo Bambuseae (Poaceae, Bambusoideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 7: 71-128.
- Shalini, A., Meena, R. K., Tarafdar, S., Thakur S. (2013) Evaluation of Genetic Diversity in Bamboo through DNA Marker and Study of Association with Morphological Traits. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 2(8), p. 78-83.
- Sharma, P., Sarma, K. P. (2011) *In vitro* propagation of *Bambusa balcooa* for a better environment. *International Conference on Advances in Biotechnology and Pharmaceutical Sciences*.
- Shirasuna, R. T. (2012) Bambus nativos (Poaceae: Bambusoideae) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, Brasil. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 266 p.
- Silva, I. F., Pereira, D. S., Silva, S. R. F., (2011) Estudos Morfológicos do Bambu (*Bambusa cf. vulgaris* L.), uma espécie invasora em área de Mata Atlântica no Parque Municipal de Maceió - Alagoas. *Revista Semente*, 6(6): 99-109.
- Silva, J. T (2007) Caracterização citogenética de espécies e variedades de bambu com potencial econômico no Nordeste Brasileiro. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Recife – PE - Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 53p.
- Silva, R. M. C. (2005) O Bambu no Brasil e no mundo. [http://www.embambu.com.br/imagens/bambu\\_brasil\\_mundo.pdf](http://www.embambu.com.br/imagens/bambu_brasil_mundo.pdf). em 26/07/2013.
- Singh, D. (1981) The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, 41(2): 237-245.

- Singh, S. R., Singh, R., Kalia, S., Dalal, S., Dhawan, A. K., Kalia, R. K. (2013) Limitations, progress and prospects of application of biotechnological tools in improvement of bamboo — a plant with extraordinary qualities. *Physiology and Molecular Biology Plants*, 19(1): 21–41.
- Singhal, P., Satya, S., Sudhakar, P. (2011) Antioxidant and pharmaceutical potential of bamboo leaves. *The Journal of the American Bamboo Society*, 24(1): 19-28.
- Soto, A. H., Arias, A. G., Guerrero, M. (2011) Establecimiento *in vitro* de *Bambusa vulgaris* (Bambú amarillo). *Instituto Tecnológico da Costa Rica*. Disponível em: <http://bibliodigital.itcr.ac.cr/xmlui/bitstream/handle/2238/34/BJFIB200330.pdf?sequence=1> Acesso em: 22/05/2013.
- Souza, A. S., Junghans, T. G., (2007) Introdução à Micropropagação de plantas – Cruz das Almas, *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*.
- Sun, Y., Xia, N., Lin R. (2005) Phylogenetic Analysis of *Bambusa* (Poaceae: Bambusoideae) Based on Internal Transcribed Spacer Sequences of Nuclear Ribosomal DNA. *Biochemical Genetics*, 43: 11-12.
- Sungkaew, S., Stapleton, C. M. A., Salamin N., Hodkinson T. R. (2009) Non-monophyly of the woody bamboos (Bambuseae; Poaceae): a multi-gene region phylogenetic analysis of Bambusoideae. *Journal of Plant Research*, 122: 95-108.
- Tombolato, A. F. C., Greco, T. M., Pinto M. M. (2012) Dez espécies de bambus exóticos mais comuns no paisagismo no Brasil. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 18 (2): 105-114.
- Triplett, J. K., Oltrogge, K. A., Clark, L. G. (2010) Phylogenetic Relationships and Natural Hybridization Among the North American Woody Bamboos (Poaceae: Bambusoideae: Arundinaria) *American Journal of Botany* 97(3): 471–492.

- Vicini, L. (2005) Análise multivariada da teoria à prática. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, 215 p.
- Wahab, R., Mustapa, M. T., Sulaiman, O., Mohamed, A., Hassan A., Khalid, I. (2010): Anatomical and Physical Properties of Cultivated Two- and Four-year-old *Bambusa vulgaris*. *Sains Malaysiana*, 39(4), 571–579.
- Wong, K. M. (2004) The Amazing Grass: A Guide to The Diversity and Study of Bamboos in Southeast Asia. *International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) e University of Malaya*. <http://www.biodiversityinternational.org/>, em 02/05/2013.
- Xiaohong, G., Yulong, D. (2005) Developmental anatomy of the fiber in *Phyllostachys edulis* culm. *The Journal of the American Bamboo Society*, 19(1): 16-22.
- Yang, H. Q., Yang, J. B., Peng, Z. H., Gao, J., Yang, Y. M., Peng, S., Li D. Z. (2008) A molecular phylogenetic and fruit evolutionary analysis of the major groups of the Paleotropical woody bamboos (Gramineae: Bambusoideae) based on nuclear ITS, GBSSI gene and plastid *trnL-F* DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 809-824.
- Zhou, M. B., Lu, J. J., Zhong, H., Tang, K. X., Tang, D. Q., (2010) Distribution and polymorphism of Mariner-like elements in the Bambusoideae subfamily. *Plant Systematics and Evolution*, 289: 1–11.