



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS



**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DO COLMO DE
QUATRO ESPÉCIES DE BAMBUSOIDEAE (POACEAE)**

Maiby Teodoro de Oliveira

Florianópolis, SC
2017

Maiby Teodoro de Oliveira

**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DO COLMO DE
QUATRO ESPÉCIES DE BAMBUSOIDEAE (POACEAE)**

Tese submetida ao Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências; área de concentração: Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: **Prof^ª. Dr^ª. Marisa Santos**

Florianópolis, SC
2017

Ficha técnica:

Oliveira, Maiby

Caracterização histológica do colmo de quatro espécies de bambusoideae (Poaceae) (tese): Maiby Teodoro de Oliveira; Orientadora, Marisa Santos. – Florianópolis, SC, 2017.

55p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação Em Recursos Genéticos Vegetais.

Inclui referências

1. Bambusoideae. 2. Poaceae. 3. Estrutura anatômica do colmo. 4. Origem e caracterização do meristema intercalar.

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Dr(a). Karin Esemann de Quadros
Universidade Regional de Blumenau

Prof.(a) Dr(a). Luiz Antônio de Souza
Universidade Estadual de Maringá

Prof.(a) Dr(a). Paulo Cesar Poeta Fermino Junior
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Rurais

Prof.(a) Dr(a). Rosete Pescador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Dr(a). Rubens Onofre Nodari
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Ciências.

Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares
Coordenador(a) do Programa

Prof. Dra Marisa Santos
Orientadora

Dedico este trabalho à minha família pelo carinho, apoio, suporte e confiança.

Vocês são meus amores, minha vida, meu exemplo a seguir.

E ao meu avô Francisco Martins,
Que nos deixou recentemente e está fazendo muita falta,
Te amo, vizinho!

*“A mente que se abre para uma nova ideia,
Jamais voltará ao seu tamanho original”.*
Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, pelo incentivo e o amor em mim depositado, principalmente aos meus pais, Maria Aparecida e Altevir, por acreditarem que “A educação é a melhor herança que se pode deixar aos filhos”, vocês são minha vida!

À minha irmã, minha amiga Mayara, por tudo o que passamos durante estes anos de doutorado. Nega, te amo muito!

À Natália, minha amiga querida, pelo companheirismo, confiança, dedicação, conselhos, sinceridade e respeito. Mesmo estando longe, tivemos momentos de descontração e alegrias. Te amo, obrigada por fazer parte da minha vida.

Aos meus amigos Eudilene, Eliane, Aline, Kênia, Bertinho, Berê e Rafa que, apesar de nossas vidas terem tomado rumos diferentes e nós não mais podermos nos ver ou falar com frequência, nossa amizade vive. Afinal, a distância não apaga momentos sinceros de amizade e alegrias. Amo vocês de paixão!

Às minhas amigas Fabi, Kelly, Vanessa, Morgana, Márcia, mulheres maravilhosas e guerreiras, que eu admiro muito. Adoro vocês!

Às minhas amigas do Laveg, Ana, Marcia, Helen, Roberta, Camila, Grazi e Anniely, pela ajuda com os procedimentos e momentos de descontração, e ao Pedro, pela ajuda no desenvolvimento do Projeto Bambu.

Aos meus amigos do Micolab, principalmente à Maryzinha, Pam, Duda e, em especial, ao Samuel, pela ajuda em coletas, em uso de programas, pelas longas conversas. Obrigada pelo carinho, paciência e amizade. Amo vocês!

Às minhas amigas do muaythai, Mônica, Vilenia, Bruna e Yasmin, obrigada pelo apoio e momentos de alegria. Amo vocês!

À Eliana (LCME), pelo auxílio durante os procedimentos, por ensinar a operar os aparelhos, pela paciência e conselhos, por ser uma pessoa extremamente querida e atenciosa.

À professora Marisa Santos, pela orientação, pela oportunidade de aprender com uma pessoa que realmente ama o que faz.

Aos professores Guerra, Rosete, Maurício, que contribuíram muito para a minha formação, em especial ao professor Rubens Onofre Nodari, por ser mais que um professor, por ser um verdadeiro pai, por incentivar, tentando sempre nos fazer tirar o melhor de cada momento.

À CAPES - PROEX pela bolsa concedida.

À todos que contribuíram direta e indiretamente para a minha formação. Obrigada!

RESUMO

Os bambus perenes de florestas temperadas e tropicais pertencentes à família Poaceae, subfamília Bambusoideae, e possuem ampla distribuição. Estas plantas apresentam características de crescimento particularmente extraordinário, definido pelo tipo de rizoma, as quais estão associadas à resistência de seu colmo e despertaram o interesse econômico e ecológico, estimulando, assim, a criação de uma Lei Federal que incentiva o seu cultivo e manejo sustentável. Entretanto, conhecimentos morfohistológicos sobre espécies de bambu ainda são escassos e muitas vezes necessários para estudos aplicados de processos de propagação. Assim, o presente estudo objetivou caracterizar os tecidos do ápice caulinar e dos segmentos nodais de ramos jovens (no sentido ápice-base), de quatro espécies de bambu (*Dendrocalamus asper*, *Guadua chacoensis*, *Merostachys glauca* e *Phyllostachys aurea*), com ênfase na origem e na localização do meristema intercalar em *P. aurea*. O trabalho inclui dois capítulos: 1. Diferenças anatômicas entre as regiões de nó e entrenó do colmo de quatro espécies de Bambusoideae; 2. Origem e caracterização do meristema intercalar (MI) em *Phyllostachys aurea*. Os resultados revelaram semelhanças estruturais na região apical das quatro espécies. A análise histológica mostrou que, no sentido basípeto do colmo, ocorre o aumento no número de camadas de fibras e espessamento das paredes celulares das fibras e parênquima. Nas regiões de nó, a medula estava constituída por células parenquimáticas, intercaladas por fibras e feixes vasculares dispersos. O MI teve origem no meristema apical, a partir de células do promeristema, e estava presente na base dos entrenós e na base dos primórdios foliares. Na base do entrenó, o MI estava constituído por uma faixa estreita de dois tipos celulares, as células fusiformes e as células curtas. As células meristemáticas fusiformes revelaram ser as precursoras das fibras. As células meristemáticas curtas originaram as células parenquimáticas. Nos entrenós mais apicais predominou a presença de células parenquimáticas, porém no sentido basípeto foi registrado o predomínio de fibras. O MI promoveu o alongamento e o aumento do diâmetro do entrenó. Os resultados obtidos sobre a histologia destas quatro espécies de Bambusoideae poderá subsidiar estudos aplicados com bambu, entre eles os processos de micro e macropropagação.

Palavras-chave: bambu, entrenó, meristema intercalar, nó, anatomia do colmo.

ABSTRACT

The perennial bamboos of temperate and tropical forests belonging to the subfamily Bambusoideae and are widely distributed. These plants have particularly extraordinary growth characteristics, which are defined by the type of rhizome, such characteristics associated to resistance of their wood, have aroused economic and ecological interest, thus stimulating the creation of a Federal Law that encourages the cultivation and sustainable management. However, morphohistological knowledge about bamboo species is still scarce and often necessary for applied studies of propagation processes. In this way, the present study aimed to characterize the tissues of the apex and the nodal segments of young branches (apex-base), with emphasis on intercalary meristem (origin and location) in four bamboo species: *Dendrocalamus asper*, *Guadua chacoensis*, *Merostachys glauca* and *Phyllostachys aurea*. The work includes two chapters: 1. Anatomical differences between the regions of node and internode culm of four species of bamboo; 2. Origin and characterization of intermural meristem (IM) in *Phyllostachys aurea* (Bambusoideae - Poaceae). The results revealed structural similarities in the apical region of the four species. Histological analysis showed that, in the basipetal sense of the culm, the increase of fibers and thickening of the cell walls of the fibers and parenchyma occurs. In the node regions the pith is filled by parenchyma cells, interspersed with fibers and dispersed vascular bundles. The IM originated from the apical meristem, from promeristem cells, and is present at the base of the internodes and at the base of the foliar primordia. At the base of the internode, the IM consisted of a narrow band of two types of cells, fusiform and short. Fusiform meristematic cells are the precursors of the fibers. The meristematic short cells are the initials of the parenchyma cells. In the more apical internodes, the presence of parenchyma cells predominated, but in the basipetal direction it was registered a predominance of fibers. IM promoted elongation and increased diameter of the internode. The results obtained on the histology of these four species may support studies applied with bamboo, among them micro and macropropagation processes.

Key words: bamboo, internode, intercalary meristem, node, culm anatomy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Características morfológicas e detalhes das regiões utilizadas para análise anatômica.....	36
Figura 2: Secções longitudinais do ápice caulinar de espécies de bambu.....	37
Figura 3: Secções longitudinais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados.....	38
Figura 4: Secções longitudinais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados.....	39
Figura 5: Secções longitudinais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados.....	40
Figura 6: Secções transversais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados.....	41
Figura 7: Secções longitudinais do ápice caulinar de <i>Phyllostachys aurea</i> em microscopia óptica.....	52
Figura 8: Secções longitudinais do segmento nodal de regiões mais apicais do ramo lateral (segmentos nodais protegidos pela bainha foliar) de <i>Phyllostachys aurea</i> em microscopia óptica.....	53
Figura 9: Figura 9: Secções longitudinais do segmento nodal em região mais basais do ramo lateral (segmentos nodais desprovidos de bainha foliar) de <i>Phyllostachys aurea</i> em microscopia óptica.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela1: Espécies prioritárias de Bambusoideae.....	14
---	----

SUMÁRIO

AGRADECIMENTO.....	6
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO	111
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Subfamília Bambusoideae.....	14
2.2. Importância ecológica e uso do bambu	1616
2.3. Morfo-histologia	1818
2.4. Meristema intercalar.....	20
3. Referências bibliográficas.....	21
Capítulo 1: Estrutura anatômica do colmo de quatro espécies de Bambusoideae.....	26
Resumo.....	26
Abstract	26
Introdução	26
Material e Métodos	28
Resultados	30
Discussão.....	31
Referências Bibliográficas	34
Ilustrações	36
Capítulo 2: Origem e caracterização do meristema intercalar em <i>Phyllostachys aurea</i> (Bambusoideae – Poaceae).....	42
Resumo.....	42
Abstract	42
Introdução	43
Material e Métodos	45
Resultados	46
Discussão.....	48
Referências bibliográficas.....	49
Ilustrações	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	55

1. INTRODUÇÃO

A subfamília Bambusoideae é a linhagem de Poaceae com grande diversificação em ambiente florestal, na qual estão inseridos os bambus lenhosos, com cerca de 116 gêneros e 1.439 espécies (Bamboo Phylogeny Group - BPG 2012). Os bambus não possuem crescimento secundário, logo, não tem lenho. No entanto, são classificados como lenhosos, devido às suas características anatômicas, sendo considerados como madeira, e algumas espécies são comparadas ao carvalho, ou alguma outra madeira nobre. Vários trabalhos têm abordado a importância econômica e ecológica dos bambus (Fengel e Shao 1984, Triplett *et al.* 2010, Yeasmin *et al.* 2015), e o quanto é necessário conhecer estas plantas com o auxílio das mais diversas áreas de pesquisa, facilitando assim, o uso, o manejo e a conservação dos bambus.

Os bambus atuais são a resposta de vários eventos ocorridos durante sua evolução. Alguns autores tentam explicar como o ambiente influenciou na diversificação genética das linhagens de bambus (Triplett *et al.* 2010, Kelchner 2013, Vieira *et al.* 2015, Yeasmin *et al.* 2015), bem como ocorreu a sincronia durante a floração de uma espécie, mesmo que estas plantas estejam separadas por vários quilômetros de distância. Veller *et al.* (2015) levantaram a hipótese de uma fase de sucessivas pequenas multiplicações do intervalo de sincronização inicial, que resultou em intervalos extremamente longos como pode ocorrer em algumas espécies atuais.

As Poaceae apresentam uma anatomia característica da família, que é o crescimento de cada entrenó que se dá pela ação do meristema intercalar, citada por Evans (1965), Liese e Weiner (1996), Evans e Perez (2004) e Martin *et al.* (2017). O colmo e o rizoma dos bambus apresentam anatomia distinta, Ito *et al.* (2015) discutem as particularidades anatômicas destas regiões em *Phyllostachys pubescens* Mazel ex J. Houz. Fengel e Shao (1984) compararam a composição química de extrativos, alfa-celulose, hemicelulose e lignina encontrada em *Phyllostachys makinoi* Hay, os autores dizem que estas concentrações alfa-celulose, hemicelulose e lignina são semelhantes às de espécies arbóreas de zonas temperadas.

A demanda cada vez maior para o uso de bambu, para os mais diversos fins, torna necessário o desenvolvimento de técnicas para produção massal, tais como a macro e a

micropropagação. Para macropropagação são utilizadas algumas técnicas como estaquia, transplante de rizoma, copinho, colmo enterrado, mergulhia, entre outras. Para micropropagação são utilizadas pequenas partes da planta adulta, sendo que material escolhido pode oferecer diferentes respostas. Segundo Mudoj *et al.* (2013), o uso de materiais jovens como sementes e plântulas pode trazer bons resultados para algumas espécies. Singh *et al.* (2012) afirmam que a época de coleta de segmentos nodais desempenha um papel importante para o desenvolvimento dos explantes. O uso de meio de cultura apropriado e a adição de hormônios trazem respostas diferentes ao cultivo *in vitro* (Saxena e Bhojwan 1993, Lin *et al.* 2005, Sousa e Miranda 2006, Daquinta *et al.* 2007, Mishra *et al.* 2008, Stancato *et al.* 2008, Mudoj *et al.* 2013, Yuan *et al.* 2013, entre outros). Waikhom e Louis (2014) desenvolveram um protocolo de micropropagação com baixa taxa de contaminação, de acordo com o DNA dos explantes utilizados, limitando assim os fatores que poderiam afetar o cultivo *in vitro* para *Bambusa tulda* Roxb. e *Melocanna baccifera* (Roxb.) Kurz.

Devido ao alto potencial ecológico e econômico do bambu foi criada uma lei Federal que incentiva o cultivo e manejo sustentável, a Lei Nº 12.484, de 8 de setembro de 2011 (Brasil 2011). O Art. 1º desta Lei institui a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu - PNMCB, que tem por objetivo o desenvolvimento da cultura do bambu no Brasil por meio de ações governamentais e de empreendimentos privados. O Art. 3º descreve as diretrizes da PNMCB: “a valorização do bambu como produto agro-silvo-cultural capaz de suprir necessidades ecológicas, econômicas, sociais e culturais; o desenvolvimento tecnológico do manejo sustentado, cultivo e das aplicações do bambu; o desenvolvimento de polos de manejo sustentado, cultivo e de beneficiamento de bambu, em especial nas regiões de maior ocorrência de estoques naturais do vegetal, em regiões cuja produção agrícola baseia-se em unidades familiares de produção e no entorno de centros geradores de tecnologias aplicáveis ao produto”. O Art. 5º trata da implementação da política de que trata esta Lei por parte dos órgãos competentes: incentivar a pesquisa e o desenvolvimento tecnológico voltado para o manejo sustentado, o cultivo, os serviços ambientais e a aplicação dos produtos e subprodutos do bambu.

Porém, os bambus ainda são pouco explorados no Brasil, provavelmente devido à escassez de estudos sobre as espécies. Afinal, através de pesquisas é possível a utilização de forma sustentável e conservação das mesmas. Neste sentido, o conhecimento biológico, morfológico e histológico, poderá contribuir para o entendimento do desenvolvimento da

espécie e suas características, subsidiando possíveis usos. Zaragoza-Hernandes (2014) descreveu as características anatômicas de *Guadua aculeata* Rupr. ex E. Fourn. registrando a proporção e distribuição dos tecidos presentes no seu colmo, em que 50% são compostos por parênquima e 41% por fibras, sendo o restante constituído por tecidos condutores.

A propagação através de sementes é limitada devido aos longos períodos do ciclo de floração (Singh *et al.* 2013). Logo, são necessárias pesquisas sobre propagação *in vitro*. Existem dificuldades na obtenção de bons sistemas regenerativos *in vitro*. Entre as incógnitas podem ser citadas: Que região deve ser utilizada como explante? Qual a melhor estação do ano para a coleta de material? Como identificar o meristema intercalar? Os calos nodulares originam-se do meristema intercalar e/ou do meristema da gema axilar? Como decorrência, pesquisas futuras que visam estabelecer protocolos de micropropagação para a produção massal de plantas são indispensáveis. Ainda existem muitas perguntas a serem respondidas, sendo assim, a investigação histológica poderá fornecer subsídios para nortear os procedimentos técnicos mais adequados para a micropropagação, uma vez que dependem das estruturas escolhidas e da competência dos tecidos vegetais. Este trabalho colaborará para obtenção de algumas destas respostas, tal como a identificação e caracterização do meristema intercalar, inédita e de grande importância, que poderão auxiliar em trabalhos futuros.

As espécies escolhidas para o presente estudo foram selecionadas a partir de uma lista de espécies prioritárias, de acordo com suas características e seus possíveis usos (tabela 1), que foram escolhidas pelos membros do Projeto “Tecnologias para o desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva do bambu no sul do Brasil” - Chamada MCTI/Ação Transversal/CNPq N.º 66/2013 – Proc. 457726/2013-0, coordenado pelo Prof. Miguel Pedro Guerra, ao qual o presente estudo estava integrado.

Tabela 1: Espécies prioritárias de Bambusoideae selecionadas para o projeto “Tecnologias para o desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva do bambu no Sul do Brasil” relacionando nomes (botânico e comum), altura e diâmetro do colmo, origem e usos. (Fonte: Projeto Chamada MCTI/Ação transversal/CNPq n.º. 66/2013 – Proc. 457726/2013-0, coordenador Prof.

M.P. Guerra, com adaptações).

Nome botânico	Nome comum	Altura (m)	Diâmetro (cm)	Origem	Usos
<i>Bambusa oldhami</i> ^{2a}	Oldhami	10-20	5-10	China	Brotos, movelaria
<i>Dendrocalamus asper</i> ^{1a}	Bambu balde	20-30	10-20	Malásia, Tailândia, Indonésia	Construção, laminados, brotos
<i>Dendrocalamus latiflorus</i> ^{2a}	Latiflorus	20-25	10-15	China, Taiwan	Brotos, Construção
<i>Drepanostachyum falcatum</i> ^{1b}	Gracilis	3-5	0,5-1	China, Japão	Ornamental
<i>Guadua angustifolia</i> ^{1a}	Guadua	10-20	5-10	Colômbia	Construção, laminados
<i>Guadua chacoensis</i> ^{2a}	Taquaruçu	10-20	10-15	Brasil, Paraguai, Argentina	Construção, laminados
<i>Guadua magna</i> ^{2a}	Guadua	15-20	5-10	Brasil	Construção, laminados, movelaria
<i>Guadua paraguayana</i> ^{2a}	Picana, picanilla	5-10	3-5	Brasil, Paraguai, Argentina	Movelaria
<i>Guadua superba</i> ^{2a}	Taboca	15-20	10-15	Brasil	Construção, laminados, movelaria
<i>Guadua tagoara</i> ^{3a}	Taquaruçu	10-20	5-10	Brasil	Construção, laminados, movelaria
<i>Guadua weberbaueri</i> ^{3a}	Taboca	10-20	5-10	Brasil	Construção, laminados, movelaria
<i>Phyllostachys aurea</i> ^{1b}	Cana da índia	5-10	3-5	China	Brotos, movelaria
<i>Phyllostachys bambusoides</i> ^{2b}	Madake	20-25	10-15	China	Movelaria, laminados
<i>Phyllostachys nigra</i> ²	Bambu preto	5-10	5-10	China	Movelaria, laminados, ornamental
<i>Phyllostachys pubescens</i> ^{1b}	Mossô	10-20	5-15	China	Brotos, construção, laminados

1- Demanda garantida 2- Potencial promissor 3- Interesse ambiental
Tribos: a-Bambuseae; b-Arundinarieae

O estudo teve como objetivo caracterizar histologicamente o ápice caulinar e os segmentos nodais de ramos jovens (no sentido ápice-base) de quatro espécies de Bambusoideae – *Dendrocalamus asper* (Schult. & Schult. f.) Backer ex K. Heyne, *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P.M. Peterson., *Merostachys glauca* McClure & L.B. Sm. e *Phyllostachys aurea* Carrière ex Rivière & C. Rivière – e identificar a origem e caracterizar o meristema intercalar em *P. aurea*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Subfamília Bambusoideae

Incluída na família Poaceae, a subfamília Bambusoideae é representada por bambus perenes de florestas temperadas e tropicais, e estão distribuídos por todo o mundo. Existem os bambus lenhosos que apresentam importância econômica e ecológica, pertencentes às tribos Arundinarieae e Bambuseae, e os bambus herbáceos, encontrados em regiões de sub-bosque, pertencentes à tribo Olyreae (Kelchner 2013). Há uma grande influência geográfica sobre as linhagens de Bambusoideae (Zhou *et al.* 2010), o que as

tornam distintas. Os clados de espécies herbáceas são representados por Olyreae presentes no Novo Mundo; os bambus tropicais lenhosos são encontrados tanto no Novo Mundo quanto no Velho Mundo, e todos os das regiões temperadas do norte, pertencem à Bambuseae. Desta forma, tanto as tribos de bambus herbáceos quanto as tribos de bambus lenhosos são consideradas grupos monofiléticos devido às suas características, logo Bambuseae é considerada como um grupo-irmão de Olyreae (Kelchner e Clark 1997).

Na Ilha de Santa Catarina são encontradas várias espécies de bambus nativos pertencentes às tribos Olyreae e Bambusoideae (McClure e Smith 1967, Smith *et al.* 1981, Clark 1992, Clark e Blong 2009, Viana *et al.* 2013 e Greco e Zannin 2017). A tribo Bambuseae subdivide-se em várias subtribos, dentre elas Bambusinae, a qual pertence o gênero *Dendrocalamus*; Guaduinae, na qual está presente o gênero *Guadua*; na subtribo Arthrotydiinae encontra-se o gênero *Merostachys*; e na tribo Arundinarieae que insere o gênero *Phyllostachys*.

Dendrocalamus asper é nativo da Ásia (Ohrnberger 1998) possui colmo eretos com cerca de 30m, com tricomas castanho dourados quando jovem, e na maturidade o entrenó apresenta a coloração verde acinzentada (Tombolato *et al.* 2012).

Os colmos de *Guadua* são eretos, podendo atingir 30 m de altura e apresentam espinhos (Lindholm 2007). *Guadua chacoensis* é nativa do sul do Brasil, presente na bacia do Rio Paraguai e Rio Paraná, sendo também encontrada na Bolívia. Judziewicz e Clark (2007) também referem sua presença no norte do México, no norte da Argentina e Uruguai. Os colmos jovens de *G. chacoensis* apresentam as regiões de nó com coloração branca, os entrenós têm coloração verde escura; com um a dois anos exibem grande resistência, na maturidade são cobertos por líquens e adquirem a coloração amarela, reduzindo a resistência e atividade fisiológica (Lindholm 2007).

O gênero *Merostachys* ocorre no México, Belize, Bolívia, Paraguai, no nordeste da Argentina e sul do Brasil (Judziewicz e Clark 2007). *Merostachys glauca* apresenta ramo com inserção apsidada, ou seja, em forma de leque. Entrenós da porção mediana do colmo glabros e lisos, bainha das folhas de colmo glaucescente (do Latim, glauco = esverdeado), quando jovem e castanho-glaucescente na maturidade, com um tufo de tricomas na base da face abaxial da lâmina das folhas do ramo (Shirasuna e Filgueiras 2013, Greco 2013).

Phyllostachys aurea é uma espécie nativa da China (Ohrnberger 1998) e destaca-se por suportar baixíssimas temperaturas, em torno de -20°C (Tombolato *et al.* 2012). Os

colmos desta espécie são eretos com até 8m de altura, entrenó verde-claros, quando jovens, e amarelo-dourados, na maturidade; a região de nó é branca, quando jovem, e escura, na maturidade (Tombolato *et al.* 2012).

Os bambus são divididos de acordo com o tipo de rizoma e seu sistema radicular, apresentando comportamentos de crescimento distintos, podendo ser simpodial e monopodial. Os rizomas com crescimento simpodial são grossos e curtos, sua forma de crescimento é definida de acordo com a ramificação dos rizomas no solo, seus colmos apresentam crescimento agrupado, também chamados de entouceirantes. Os rizomas simpodiais/paquimórfico (entouceirante) estão presentes em bambus tropicais, o crescimento dos seus colmos tem início na estação chuvosa, de acordo com a umidade do solo, mas seu crescimento pode ocorrer durante todo ano, completando desenvolvimento em torno de 80 a 120 dias (Recht e Wetterwald 1994, Lindholm 2007). Os rizomas com crescimento monopodial/lepmórfico (alastrante) são longos, podendo atingir até 10 m de comprimento, com colmos distantes entre si. Os rizomas são ditos alastrantes por se espalhar rapidamente, sendo típicos de regiões com clima temperado. Estes bambus suportam baixíssimas temperaturas, algumas espécies em torno de -20°C, logo, o desenvolvimento dos seus brotos ocorre durante a primavera, e tornam-se adultos por volta de 60 dias (Recht e Wetterwald 1994, Lindholm 2007).

2.2. Importância ecológica e uso do bambu

Os bambus apresentam ciclos de uma ou várias décadas, mas todas com floração sincronizada ao longo de sua área de ocorrência. São escassos os trabalhos sobre o ciclo de vida da grande maioria das espécies, devido à dificuldade de acompanhar e descrever estes eventos. *Dendrocalamus asper* floresce aproximadamente a cada 100 anos (Judd *et al.* 2009). Segundo Vega e Hernández (2008) *Guadua chacoensis*, floresce a cada 28 anos. Com base em dados apresentados por Guerreiro (2014), *G. chacoensis* floresce a cada 31 anos. Em *Merostachys glauca* todos os colmos morrem após o florescimento e frutificação (Azzini e Mary 1982). Guilherme e Ressel (2001) descreveram o ciclo reprodutivo de *Merostachys riedeliana* Rupr. ex Döll, que floresce a cada três anos, no período mais quentes do ano, com pico de floração em dezembro. Já *Merostachys clausenii* Munro

floresce a cada 32 anos (Guerreiro 2014). *Phyllostachys aurea* apresenta ciclo de floração entre 15 a 30 anos (Londoño 2004).

Gadgil e Prasad (1984) descreveram o ciclo de vida de duas espécies de bambu, *Bambusa arundinacea* (Retz.) Willd. e *Dendrocalamus strictus* (Roxb.) Nees. Os autores afirmaram que a altura total dos colmos é atingida em alguns meses e, que após este período, ocorre o incremento no crescimento/alongamento do rizoma que é radial, formando novos brotos, que se desenvolvem e aumentam a touceira. Ben-Zhi *et al.* (2005) citando outros autores, afirmaram que cerca de 80% do sistema radicular dos bambus encontram-se na parte superficial do solo (0-30 cm de profundidade), aumentando a qualidade deste solo, evitando a erosão, e que algumas espécies podem apresentar um sistema radicular extremamente longo, tal como *Phyllostachys nigra* (Lodd. ex Lindl.) Munro, que pode atingir até 320 km. As raízes e os colmos espessos dos bambus evitam a perda de solo pela correnteza durante os períodos de cheias. As florestas de bambu evitam o deslizamento de terra, apresentam uma grande produção de serapilheira, que contribuirá para a umidade e fertilidade do solo (Ben-Zhi *et al.* 2005).

Um dos fatores que atribuem a importância ecológica ao bambu é o favorecimento à aeração do solo, evitando a erosão devido à presença de suas raízes fasciculadas, que se espalham pelo solo formando um emaranhado (Marinho *et al.* 2012).

O bambu aumenta a fertilidade do solo devido à produção de grande quantidade de matéria orgânica, suas raízes fasciculadas e as folhas acumuladas sobre o solo auxiliam na estabilização da umidade e temperatura local, e ainda, tem importância como alimento e serve de abrigo para algumas espécies animais (Lindholm 2007). Em alguns países asiáticos, o bambu é muito utilizado para a construção de casas, até mesmo vilas inteiras. Os bambus também servem de matéria prima para fabricação de utensílios domésticos, ferramentas, flechas, artesanato, móveis, instrumentos musicais, entre outras (Recht e Wetterwald 1994).

Vários autores (Azzini *et al.* 1979; Tomazello Filho e Azzini 1987; Liese e Weiner 1996; Guerreiro *et al.* 2013) afirmam que as características físicas, químicas e anatômicas variam de acordo com as espécies, o conduz a um uso correspondente específico correspondente aos atributos. Azzini *et al.* (1979) mensuraram o teor de carboidratos totais de *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J.C. Wendl., verificando a maior concentração de açúcares solúveis, polissacarídeos e carboidratos totais na camada mais

interna dos colmos, já na camada externa, verificaram menor concentração destes compostos agregando maior valor industrial.

Segundo Lindholm (2007), *G. chacoensis* apresenta uma grande quantidade de fibras e colmos densos e espessos, porém com grande flexibilidade. Com a qualidade de sua madeira comparável ao carvalho, e resistência à tração semelhante a algumas ligas de alumínio. Sendo assim, é uma espécie indicada para produção de laminados e construções.

Bystriakova (2001), citando outros autores, aborda a existência de estudos para o uso de *Guadua angustifolia* Kunth e *Guadua amplexifolia* J. Presl para a produção de papel, porém a quantidade de fibras encontradas nestas espécies é inferior àquela de outras espécies utilizadas para este fim. De acordo com Azzini *et al.* (1979), para fabricação de celulose para papel é necessário que a camada externa apresente maior quantidade de fibras por unidade de área. Sharma *et al.* (2011) afirmam ainda que as características destas fibras influenciam na densidade da folha de papel.

Os brotos de bambu são muito utilizados na alimentação devido à sua qualidade nutricional, pois é um alimento rico em nutrientes e fibras e com baixa caloria (Satya *et al.* 2010). Segundo Recht e Wetterwald (1994), a melhor espécie para a produção de brotos é bambu moso (*Phyllostachys pubescens* Mazel ex J. Houz.).

2.3. Morfo-histologia

A morfologia e a histologia auxiliam nos estudos de composição e função de tecidos, o que propicia a compreensão do desenvolvimento de estruturas adaptativas de algumas espécies. Nas culturas *in vitro* é possível verificar as respostas da planta aos tratamentos, devido ao gradiente de diferenciação e organização dos tecidos que seguem uma polaridade. De acordo com Esau (1976), desde fases iniciais do desenvolvimento embrionário já se destaca um polo caulinar e outro radicular.

Os estudos que incluem a avaliação das dimensões das fibras de determinadas espécies de bambu favorecem o entendimento de sua estrutura e seus possíveis usos. Segundo Liese e Weiner (1996), as mudanças relacionadas à idade têm de ser consideradas sob diferentes aspectos, tais como a diferenciação e o crescimento de um colmo, que são eventos individuais, a idade de colmos e sua origem (se foram produzidos a partir de plântulas ou brotos) e seu ciclo de vida.

Marinho *et al.* (2014) verificaram que as fibras de *Dendrocalamus giganteus* Wall. ex Munro aumentaram em comprimento de acordo com a idade dos colmos, sendo o menor comprimento encontrado no terceiro ano e o maior comprimento no sexto ano. Através de análises químicas feitas a partir dos entrenós, os autores observaram que o teor de lignina não foi influenciado pela idade do colmo (Marinho *et al.* 2012). As fibras de *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J.C. Wendl. alongam-se mais nas regiões mais basais comparadas com as mais apicais; no sentido transversal, apresentaram maior densidade nas camadas mais externas, em relação às mais internas; isto demonstra que a porcentagem de parênquima diminui nas camadas mais externas dos colmos, aumentando a quantidade de fibras (Tomazello Filho e Azzini 1987, Marinho *et al.* 2014). Marinho *et al.* (2014) constataram também que os tecidos do colmo variaram em quantidade, sendo a maior proporção de fibras, seguida de parênquima e a menor proporção corresponde aos elementos vasculares.

Tomazello Filho e Azzini (1987) descreveram a estrutura anatômica dos colmos de bambu e as características destas células. O parênquima fundamental é formado por células alongadas com parede espessa, as quais se tornam lignificadas nos primeiros estádios de crescimento dos colmos. Estas células estão dispostas verticalmente, intercaladas por células curtas, prismáticas que possuem paredes mais delgadas, durante toda vida do bambu, ou seja, não se lignificam e mantêm citoplasma denso favorecendo a sua atividade fisiológica. O amido está presente nas células parenquimáticas e a comunicação entre as células ocorre através de pontoações simples localizadas nas paredes longitudinais.

Ainda segundo Tomazello Filho e Azzini (1987), os feixes vasculares são formados por xilema, com dois vasos amplos de metaxilema (40-120 μm) e um ou mais vasos menores de protoxilema localizados entre os vasos do metaxilema; o floema, com tubos crivados, de paredes finas e não lignificadas, conectados com várias células companheiras. Os autores registraram também espaço intercelular, originado do protoxilema; protofloema formado por uma camada de células comprimidas, na periferia do metafloema. As pontoações areoladas estão dispostas de forma alterna ou opostas, conectando elementos de vaso entre si. O xilema e o floema são envolvidos por cordões de esclerênquima, que apresentam forma e dimensão variadas, de acordo com a espécie e posição no colmo.

Além do esclerênquima presentes nos feixes vasculares, os autores acrescentam que podem ser encontrados feixes isolados de fibras. As fibras são longas, com comprimento variando de 1,5 a 3,0 mm, entre as diferentes espécies de bambu. No sentido transversal, as fibras aumentam em comprimento a partir das camadas internas, atingem comprimento máximo nas camadas médias, decrescendo novamente nas camadas mais externas. Em um mesmo colmo, as fibras mais longas estão situadas na parte mediana do internódio e as mais curtas próximas dos nós. A medida que a distância do ápice à base aumenta, as fibras alcançam maior comprimento.

Gritsch e Murphy (2005) descrevem quatro estádios de desenvolvimento do entrenó, de acordo com as características das células parenquimáticas e das fibras, comparando ramos imaturos com ramos maduros. Constataram que o alongamento das fibras cessou no segundo entrenó, tanto em ramos imaturos, quanto maduros. Já as células parenquimáticas apresentaram diferenças entre as dos entrenós de ramos imaturos e maduros. Nos entrenós de ramos imaturos foram observadas células parenquimáticas com paredes delgadas; nos entrenós de ramos maduros já ocorreu espessamento da parede, na qual foi possível observar a deposição de pelo menos três camadas de parede secundária. No entanto, a lignificação foi restrita às fibras próximas aos feixes vasculares nos ramos maduros.

2.4. Meristema intercalar

Os tecidos meristemáticos presentes no colmo são responsáveis pelo crescimento em comprimento e suas alterações anatômicas (Liese e Weiner 1996, Evans e Perez 2004). O meristema apical origina o meristema intercalar (Evert 2013). O meristema intercalar encontra-se acima do nó (Haberlandt 1928), no sentido acrópeto. Segundo Evans (1965), o meristema intercalar proporciona a continuidade do crescimento em monocotiledôneas. O alongamento do colmo é resultado da expansão individual de seus entrenós, o que também ocorre nos brotos. Inicialmente, o entrenó é curto e, assim, está constituído de meristema intercalar, a medida que este começa a diferenciação, na sua região superior, a qual inclui alongamento dos diferentes tipos de células, o meristema intercalar passa a restringir sua ocupação à base do entrenó (Liese e Weiner 1996).

O colmo do bambu atinge sua altura total em poucos meses. O tecido responsável pelo alongamento do colmo é o meristema intercalar presente na base do entrenó

favorecendo o crescimento. Ocorre o estreitamento da do colmo no entrenó, em relação ao nó, devido à redução interna contendo mais parênquima e menos feixes vasculares; estes feixes apresentam tamanhos e formatos distintos de acordo com a sua posição no colmo. (Liese e Weiner 1996). Em estudos que abordam meristemas intercalares, sempre há dificuldade em determinar a posição exata deste tecido, como o observado por Evans e Perez (2004) ao analisar várias espécies de Poaceae, dentre elas, espécies de *Bambusa*, que apresentaram meristema intercalar entre o 1º e 3º nós, porém não foi determinada a posição específica do mesmo.

Os estudos sobre anatomia de bambu são escassos, especialmente das espécies objeto deste estudo, sendo necessário mais pesquisas sobre a descrição anatômica destas espécies.

3. Referências bibliográficas

- Azzini, A.; Mary, R. 1982. Florescimento e frutificação em bambu. **Bragantia** 41: 175 – 180.
- Azzini, A.; Silva, M. T. R.; Texeira, J. P. F. Teixeira; Demoraes, R. M. 1979. Teor de carboidratos em colmos de *Bambusa vulgaris* Schrad. **Bragantia** 38: 15 – 17.
- Bamboo Phylogeny Group - BPG 2012. In updated tribal and subtribal classification of the bamboos (Poaceae: Bambusoideae). Bamboo Science and Culture: **The Journal of the American Bamboo Society** 24: 1–10.
- Ben-Zhi, Z.; Mao-Yi, Y.; Jin-Zhong, X.; Xiao-Sheng, Y.; Zheng-Cai, L. 2005. Ecological functions of bamboo forest - research and application. **Journal of Forestry Research** 16: 143–147.
- Brasil. Lei nº 12.484, de 8 de setembro de 2011. Dispõe sobre a Política Nacional de Incentivo ao Manejo Sustentado e ao Cultivo do Bambu e dá outras providências. Publicado no DOU de 9.9.2011. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2011/lei/112484.htm. Acesso em: 27 de Setembro de 2016.
- Bystriakova, N.; Kapos, V.; Lysenko, I. 2001. Bamboos in the Americas. **Bamboo biodiversity. Africa, Madagascar and the Americas**. UNEP-WCMC/INBAR.
- Carlquist, S. 1982. The use of ethylenediamine in softening hard plant structures for paraffin sectioning. **Stain Technology** 57: 311 – 317.
- Clark, L. G. 1992. Chusquea sect. Swallenochloa (Poaceae: Bambusoideae) and allies in Brazil. **Brittonia** 44: 387– 422.
- Clark, L. G.; Blong, A. 2009. A new species of Chusquea sect. Swallenochloa (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae) from Brazil. **Bamboo Science and Culture: The Journal of the American Bamboo Society** 22: 26 – 31.

- Daquinta, M.; Gregori, A.; Cid, M.; Lezcano, Y.; Sagarra, F. 2007. Formación de callos e inducción de brotes a partir de tejido intercalar de ramas de plantas adultas de *Guadua angustifolia* Kunth. **Biocología Vegetal** 2: 119 – 122.
- Esau, K. 1976. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo, Editora Blucher.
- Evans, L. S.; Perez, R. K. 2004. Diversity of cell lengths in intercalary meristem regions of grasses: location of the proliferative cell population. **Canada Journal Botany** 82: 115 – 122.
- Evans, P. S. 1965. Intercalary growth in the aerial shoot of *Eleocharis acuta* R. Br. **Prodr. Annals of Botany** 29: 205 – 217.
- Evert, R. F. 2013. **Anatomia das plantas de ESAU**. São Paulo, Blucher.
- Fengel, D.; Shao, X. 1984. A chemical and ultrastructural study of the bamboo species *Phyllostachys makinoi* Hay. **Wood science and Technology** 18:103-112.
- Gadgil, M.; Prasad, S. N. 1984. Ecological determinants of life history evolution of two Indian bamboo species. **Biotropica** 16:161–172.
- Greco, T. M. 2013. **Diversidade de bambus (Poaceae: Bambusoideae) na Ilha de Santa Catarina, Brasil**. Dissertação. Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC.
- Greco, T. M.; Zannin, A. 2017. Tribo Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) na Ilha de Santa Catarina, Brasil Tribe Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) in the Island of Santa Catarina, Brazil. **Rodriguésia** 68: 557– 567.
- Gritsch, C. S.; Murphy, R. J. 2005. Ultrastructure of fibre and parenchyma cell walls during early stages of culm development in *Dendrocalamus asper*. **Annals of Botany** 95: 619 – 629.
- Guerreiro, A.; Rodríguez, M. C.; Agrasar, Z. E. R. 2013. Culm anatomy: A contribution to the identification of vegetative Andean woody bamboos in southernmost America. **Kew Bulletin** 68: 209 – 218.
- Guerreiro, C. 2014. Flowering cycles of woody bamboos native to southern South America. **Journal of Plant Research** 127:307–313.
- Guilherme, F. A. G.; Ressel, K. 2001. Biologia floral e sistema de reprodução de *Merostachys riedeliana* (Poaceae: Bambusoideae). **Revista Brasileira de Botânica** 24: 205-211.
- Haberlandt, G. 1928. **Physiological plant anatomy**. Reedição. London, Macmillan.
- Ito, R.; Miyafuji, H.; Kasuya, N. 2015. Rhizome and root anatomy of moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) observed with scanning electron microscopy. **The Japan Wood Research Society** 61:431– 437.
- Judd, W.S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F. & Donoghue, M. J. 2009. **Sistemática vegetal: Um enfoque filogenético**. 3ª ed. Porto Alegre: Artemad.
- Judziewicz, E. J.; Clark, L. G. 2007. Classification and biogeography of new world grasses: Nomochooideae, Pharoideae, Ehrhartoideae, and Bambusoideae. **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany** 23: 303–314.

- Kelchner, S. A. 2013. Higher level phylogenetic relationships within the bamboos (Poaceae: Bambusoideae) based on five plastid markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 67: 404 – 413.
- Kelchner, S. A.; Clark, L. G. 1997. Molecular evolution and phylogenetic utility of the chloroplast rpl16 intron in chusquea and the Bambusoideae (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 8: 385 – 397.
- Liese, W.; Weiner, G. 1996. Ageing of bamboo culms. A review. **Wood Science and Technology** 30: 77 – 89.
- Lin, C.-S.; Lin, C.-C.; Wei-Chin, C. 2005. Shoot regeneration, re-flowering and post flowering survival in bamboo inflorescence culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 82: 243 – 249.
- Lindholm, M. 2007. **Guadua chacoensis in Bolivia - an investigation of mechanical properties of a bamboo species**. Tese. Linköping University, Department of Management and Engineering, Carl Malmsten - Centre for Wood Technology e Design.
- Londoño, X. 2004. Bambúes exóticos en Colombia. **Colombia: Sociedad Colombiana del Bambu**. 74p.
- Marinho, N. P.; Nisgoski, S.; Klock, U.; Andrade, A. S.; Muñiz, G. I. B. 2012. Análise química do bambu-gigante (*Dendrocalamus giganteus* Wall. ex Munro). **Ciência Florestal** 22: 417 – 422.
- Marinho, N. P.; Nisgoski, S.; Muñiz, G. I. B. 2014. Avaliação das dimensões das fibras de colmos de bambu, *Dendrocalamus giganteus* (Wall) Munro, em diferentes idades. **Ciência Florestal** 24: 251 – 256.
- Martin, A. P.; Brown, C. W.; Nguyen, D. Q.; Palmer, W. M.; Furbank, R. T.; Byrt, C. S.; Lambrides, C. J.; Grof, C. P. L. 2017. Cell wall development in an elongating internode of *Setaria*. **Genetics and Genomics of Setaria Plant Genetics and Genomics: Crops and Models** 19: 211–238.
- McClure, F. A.; Smith, L. B. 1967. Gramíneas - Suplemento Bambúseas. In: Reitz, R. (ed.). Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí. Pp. 1– 78.
- Mishra, Y.; Patel, P. K.; Yadav, S.; Shirin, F.; Ansari, S. A. 2008. A micropropagation system for cloning of *Bambusa tulda* Roxb. **Scientia Horticulturae** 115: 315 – 318.
- Mudoj, K. D.; Saikia, S. P.; Goswami, A.; Gogoi, A.; Bora, D.; Borthakur, M. 2013. Micropropagation of important bamboos: A review. **African Journal Biotechnology** 12: 2770 – 2785.
- Ohrnberger, D. 1998. The Bamboos of the World: annotated nomenclature and literature of the species and the higher and lower taxa. Editora Elsevier. 585p.
- Recht, C.; Wetterwald, M. F. 1994. **Bamboos**. Timber Press. Portland, Oregon 128p.
- Reynolds, E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology** 17: 208 – 212.
- Satya, S.; Bal, L. M.; Singhal, P.; Naik, S. N. 2010. Bamboo shoot processing: food quality and safety aspect (a review) **Trends in Food Science e Technology** 21: 181 – 189.

- Saxena, S.; Bhojwani, S. S. 1993. *In vitro* clonal multiplication of 4-year-old plants of the bamboo, *Dendrocalamus longispathus* Kurz. **In Vitro Cellular e Developmental Biology – Plant** 29:135 – 142.
- Sharma, A. K.; Dutt, D.; Upadhyaya, J. S.; Roy, T. K. 2011. Anatomical, morphological, and chemical characterization of *Bambusa tulda*, *Dendrocalamus hamiltonii*, *Bambusa balcooa*, *Alocana baccifera*, *Bambusa arundinacea* and *Eucalyptus tereticornis*. **BioResources** 6: 5062 – 5073.
- Shirasuna, R. T.; Filgueiras, T. S. 2013. Bambus nativos (Poaceae, Bambusoideae) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Hoehnea** 40: 315– 359.
- Singh, S. R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A. K.; Kalia, R. K. (2012). Micropropagation of *Dendrocalamus asper* {Schult. & Schult. F.} Backer ex K. Heyne): an exotic edible bamboo. **Journal of plant biochemistry and biotechnology**, 21: 220-228.
- 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 planta with extraordinary qualities. **Physiology and Molecular Biology of Plants** 19: 21 – 41.
- Smith, L. B.; Wasshausen, D. C.; Klein, R. M. 1981. Gramíneas. In: Reitz, R. (ed.). Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí. Pp. 27–198.
- Sousa, C. M.; Miranda; R. M. 2006. Otimização do balanço entre auxina e citocinina para multiplicação *in vitro* de *Gerbera jamesonii* var. ‘ornela’. **Agronomia** 40: 66 – 72.
- Spurr A. R. 1969. A Low-Viscosity Epoxy Resin Embedding Medium for Electron Microscopy. **Journal of Ultrastructure Research** 26: 31– 43.
- Stancato, G. C.; Abreu, M. F.; Furlani, Â. M. C. 2008. Crescimento de orquídeas epífitas *in vitro*: adição de polpa de frutos. **Bragantia**, 67: 51 – 57.
- Tomazello Filho, M.; Azzini, A. 1987. Estrutura anatômica, dimensões das fibras e densidade básica de colmos de *Bambusa vulgaris* Schrad. **IPEF** 36: 43 – 50
- 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: 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: 471–492.
- Vega, A. S.; Hernández, J. C. 2008. La floración de *Guadua chacoensis* (Poaceae, Bambusoideae, Bambuseae). **Revista Facultad de Agronomía UBA** 28: 107-110.
- Veller, C.; Nowak, M. A.; Davis, C. C. 2015. Extended flowering intervals of bamboos evolved by discrete multiplication. **Ecology Letters** 18: 653 – 659.
- Viana, P. L.; Filgueiras, T. S. & Clark, L. G. 2013. Cambajuva (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae: Arthrostylidiinae), a new woody bamboo genus from Southern Brazil. **Systematic Botany** 38: 97– 103.
- Vieira, L. N.; Anjos, K. G.; Faoro, H.; Fraga, H. P. F.; Greco, T. M.; Pedrosa, F. O.; Souza. E. M.; Rogalski, M.; Souza, R. F.; Guerra, M. P. 2015. Phylogenetic inference and SSR characterization of tropical woody bamboos tribe Bambuseae (Poaceae:

- Bambusoideae) based on complete plastid genome sequences. **Current Genetics** 62: 443-453.
- Waikhom, S. D.; Louis, B. 2014. An effective protocol for micropropagation of edible bamboo species (*Bambusa tulda* and *Melocanna baccifera*) through nodal culture. **The Scientific World Journal** 2014: 1–8.
- Yeasmin, L.; Ali, N.; Gantait, S.; Chakraborty, S. 2015 Bamboo: an overview on its genetic diversity and characterization. **Biotech** 5:1–11.
- Yuan, J-L; Jin-Jun, Y.; Xiao-Li, W., Xiao-Ping, G. 2013. Protocol for callus induction and somatic embryogenesis in moso bamboo. **Plos One** 8: 1 – 6.
- Zaragoza-Hernades; I. Rosa, A. B.; Sánchez, F. J. Z.; Ordóñez-Candelaria, V. R.; Bárcenas-Pazos, G. M. 2014. Anatomía del culmo de bambú (*Guadua aculeata* Rupr.) de la región nororiental del estado de Puebla, México. **Madera y Bosques** 20: 87 – 96.
- 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.

Capítulo 1: Estrutura anatômica do colmo de quatro espécies de Bambusoideae

Resumo

Espécies de Bambusoideae, conhecidas como bambu, tem servido de matéria prima para os mais diversos fins devido às particularidades do desenvolvimento e da madeira. O tipo de crescimento dos bambus é caracterizado de acordo com a estrutura do rizoma, simpodial (curtos e grossos) formando touceiras ou monopodial (longos) alastrante. O conhecimento das características anatômicas poderá favorecer o uso conforme os atributos de cada espécie. O presente estudo teve por objetivo caracterizar a histologia dos colmos de ramos laterais jovens (no sentido ápice-base, a partir do ápice) de quatro espécies de bambu, *Dendrocalamus asper*, *Guadua chacoensis*, *Merostachys glauca*; e *Phyllostachys aurea*. Segmentos nodais e ápice dos colmos foram analisados em microscopia óptica e eletrônica de varredura. O desenvolvimento do colmo, no sentido basípeto, mostrou aumento na quantidade de fibras, principalmente na periferia do córtex, e mais espessamento nas paredes das células parenquimáticas. Nas regiões de nó, a medula estava composta por células parenquimáticas, intercaladas por fibras e feixes vasculares dispersos. A estrutura do colmo das quatro espécies mostrou grande semelhança.

Palavras-chave: Bambu, histologia, parênquima, fibra, medula do colmo

Abstract

Bambusoideae species, know as bamboo, have served as raw material for the most diverse purposes due to the particularities of development and wood. The type of bamboos growth is characterized according to rhizome structure, sympodial (short and thick) forming clumps or monopodial (long) spreading. The knowledge of the anatomical characteristics may favor the use according to the attributes of each species. The aim of the present study was to characterize the histology of culms of young lateral branches (in the apex-base direction, from the apex) of four bamboo species, *Dendrocalamus asper*, *Guadua chacoensis*, *Merostachys glauca*, and *Phyllostachys aurea*. Culms nodal segments and apex were analyzed by both light and scanning electron microscopy. The development of the culm, in the basipetal diretion, showed an increase in the amount of fibers, mainly in the periphery of the cortex, and more thickening in the walls of the parenchyma cells. In the node regions, the medulla was composed of parenchymatic cells, interspersed by fibers and scattered vascular bundles. The structure of the culms of the four species showed great similarity.

Keywords: Bamboo, histology, parenchyma, fiber, culm medulla

Introdução

Os bambus pertencem à família Poaceae, subfamília Bambusoideae, tribo Bambusae e incluem espécies herbáceas e lenhosas (Judziewicz e Clark 2007; Judd *et al.*

2009). A distinção entre as linhagens de Bambusoideae tem influência geográfica (Zhou *et al.* 2010) Os bambus lenhosos apresentam cerca de 116 gêneros e 1.439 espécies (Bamboo Phylogeny Group - BPG 2012).

Os bambus não apresentam crescimento secundário, porém, eles são classificados como lenhosos por apresentar colmos bem desenvolvidos e resistente, muitos apresentando importância econômica no uso como madeira. Lindholm (2007) menciona que *Guadua chacoensis* apresenta colmo denso e espesso, com grande quantidade de fibras, no entanto, mostra grande flexibilidade, tais características são semelhantes a algumas madeiras nobres. Estas plantas vêm despertando interesse em programas de reflorestamento, na construção civil, fabricação de móveis, artesanato, alimentação, fato decorrente do rápido crescimento e resistência a patógenos. A adição de fibras de bambu na fabricação de cimento confere maior qualidade e resistência do produto (Correia 2011). O entendimento da estruturação das fibras, em biomimética, conforme esclarecem Li *et al.* (1995), remete ao uso dos bambus em projetos de engenharia, na fabricação laminados para melhorar as propriedades do corte interlaminar. Os autores esclarecem que a deposição de microfibrilas na parede celular da fibra apresenta zonas de transição, nas quais os ângulos, entre os sucessivos depósitos, mudam gradualmente de uma camada para a outra constituindo uma unidade estrutural em dupla hélice e isto confere resistência às fibras. Amada *et al.* (1997) mencionam que o bambu tem “estrutura inteligente”, por apresentar cilindro longo e oco, o que reduz o peso, e as fibras, distribuídas ao longo do colmo, proporcionam um reforço adicional devido ao complexo entrelaçamento nos nós, tornando a planta adaptada ao vento.

O colmo apresenta características anatômicas distintas, de acordo com o estágio de desenvolvimento (Liese e Weiner, 1996). O arranjo topográfico de cada tecido nos órgãos do corpo da planta, bem como as características histológicas dos componentes celulares, está sempre relacionado com a atividade fisiológica. Assim, a complexidade histológica de um tecido ou de um sistema de tecidos está fundamentada no número e na variedade das funções particulares determinando o desempenho.

O tipo de crescimento dos bambus é caracterizado de acordo com o rizoma e o sistema radicular, podendo ser simpodial ou monopodial. Os rizomas com crescimento simpodial/paquimórfico são grossos e curtos, cujos colmos apresentam crescimento agrupado, sendo chamados de entouceirantes. Este tipo de crescimento é típico de bambus tropicais. O crescimento dos colmos tem início na estação chuvosa, atingindo altura total

em torno de 120 dias (Recht e Wetterwald 1994, Lindholm 2007). Os rizomas com crescimento monopodial/leptomórfico são longos, podendo atingir até 10m, com colmos distantes entre si, e são ditos alastrantes, pois se espalham rapidamente. Estes ocorrem em bambus de regiões com clima temperado. O desenvolvimento dos brotos ocorre durante a primavera e o desenvolvimento se completa por volta de 60 dias (Recht e Wetterwald 1994, Lindholm 2007).

O presente estudo visou descrever histologicamente os colmos de ramos laterais jovens (no sentido ápice-base, a partir do ápice) de quatro espécies de bambu, *Dendrocalamus asper* (Schult. & Schult. f.) Backer ex K. Heyne, *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño e P.M.Peterson, *Merostachys glauca* McClure e L.B.Sm., *Phyllostachys aurea* Carrière ex Rivière e C. Rivière.

Material e Métodos

No estudo foram utilizados ápices e segmentos nodais (região que inclui nó e internós superior e inferior) de ramos laterais jovens de quatro espécies de bambu (Poaceae – Bambusoideae; Fig. 1): três entouceirantes – *Dendrocalamus asper* (Schult. E Schult. F.) Backer ex K. Heyne, *Merostachys glauca* McClure e L.B.Sm. e *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño e P. M. Peterson – e uma alastrante, *Phyllostachys aurea* Carrière ex Rivière e C. Rivière. Todas as amostras foram coletadas no município de Florianópolis, SC: *P. aurea* – da Coleção de Bambus da Fazenda Experimental da Ressacada (27°40'54.81"S, 48°32'26.83"O), *M. glauca* - Unidade de Conservação Ambiental Desterro UCAD/SC401 (27°31'52"S - 48°30'45"W), *G. chacoensis*- Instituto ÇaraKura/Ratones (27°31'33,5"S - 48°27'55,7"W) e *D. asper* – Horto Botânico/UFSC (27°36'06,32"S - 48°31'28,18"W).

Os segmentos nodais foram numerados no sentido ápice-base e classificados como: 1° ao 4° segmento nodal protegidos por bainha foliar; e 1° ao 4° segmento nodal desprovidos de bainha foliar. A bainha foliar mantém-se aderida ao colmo apenas nos segmentos mais apicais, porém o número de segmentos protegidos é variável com a espécie. Com base nisto, optou-se por reiniciar a contagem (1° ao 4° segmento nodal), nas quatro espécies, a partir do segmento destituído de bainha, visando analisar alguns segmentos com maior grau de desenvolvimento estrutural.

Microscopia óptica

As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1 M, em pH 7,2, por quatro horas em bomba de vácuo, a fim de retirar todo ar existente, facilitando a infiltração. Em seguida, o material foi lavado por três vezes no mesmo tampão e colocado em solução de etilenodiamina 10%, diluído em água (uma semana para regiões mais apicais e quatro semanas para regiões mais basais), visando reduzir a rigidez decorrente da lignificação da parede celular (fibras e elementos traqueais) e, assim, facilitar a secção do material, conforme Carlquist (1982). Posteriormente, o material vegetal foi lavado três vezes em água destilada e desidratado em série etílica gradual. Seguiu-se o processo de infiltração e emblocamento em hidroxietilmetacrilato (*Jung's Histo-resin* - Leica, Heidelberg, Germany), conforme Gerrits e Smid (1983). Os blocos, contendo o material, foram seccionados com 5 µm de espessura, em micrótomo de rotação RM 2125 RT (Leica, Nussloch, Germany). As secções longitudinais seriadas do ápice e dos segmentos nodais foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (60°C). Depois da secagem das lâminas, o material vegetal foi corado com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964).

As análises foram realizadas em microscópio óptico DM2500® (Leica, Wetzlar-Germany) e para captura de imagens foi usada câmera digital Opticam 5.1 MP (New Songdo City, South Korea) e *software* OPTHD.

Microscopia eletrônica de varredura

Nos estudos ultraestruturais foram utilizadas amostras fixadas em glutaraldeído 2,5%, em solução tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, lavadas na mesma solução tampão e desidratadas em etanol, passando pelo etanol 100° GL (Ruzin 1999) por duas vezes. Após a total desidratação as amostras foram secas, conforme procedimento de Horridge e Tamm (1969), em ponto crítico de CO₂ Leica EM CDP 030 (Leica, Heidelberg, Germany). As amostras secas foram aderidas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador Leica SCD 500 (Leica, Vienna, Austria). Posteriormente, as amostras foram analisadas e documentadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM-6390LV (Tokyo, Japan), no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME-UFSC).

Resultados

Na região nodal, foi constatada a típica morfologia, caracterizada pela presença de crista supranodal, intranó e crista nodal (Fig. 1 D, H, K, O). A crista supranodal é uma protuberância resultante da presença interna do meristema intercalar (MI). O intranó é uma zona de transição e a crista nodal é corresponde à cicatriz da bainha.

Nas quatro espécies de bambu, as secções logitudinais da região apical dos ramos jovens (Fig. 2A-H) revelaram semelhanças estruturais, com ápice caulinar protegido por primórdios foliares e entrenós muito curtos, quase indistintos. Os primórdios foliares apresentaram estádios diferentes de desenvolvimento, nos mais apicais as células eram meristemáticas e, no sentido ápice-base, mostraram-se gradualmente diferenciadas (Fig. 2A, C, E e G). No ápice caulinar (Fig. 2B, D, F e H), a protoderme estava delimitando o promeristema, sendo estes tecidos estavam constituídos por células iniciais, correspondendo à túnica e ao corpo, respectivamente. A protoderme de em *D. asper* exibiu um segundo estrato celular como resultado de divisão periclinal da túnica (Fig. 2B), este segundo estrato celular não foi observado nas outras três espécies. A protoderme originou a epiderme unisseriada, das folhas e colmos nas quatro espécies. Células derivadas do promeristema originaram, no sentido basípeto, o procâmbio e o meristema fundamental. O meristema intercalar (Fig. 2B, D, F e H), também originou-se do promeristema, porém tornou-se mais evidente na base dos entrenós mais distantes do ápice.

A análise dos segmentos nodais, seguindo no sentido basípeto, mostrou que o MI possibilitou o alongamento dos entrenós decorrente de divisões e alongamentos das células meristemáticas. Estas divisões e alongamentos celulares, considerando cada MI supranodal, deram-se no sentido acrópeto (ou basífugo). A distribuição e características dos tecidos do nó e entrenó mostraram-se bem distintas (Fig. 3A-D; 4A-D). Na região de nó, a vascularização estava mais concentrada (Fig. 3A, C-D; 4A, C), pois além do percurso longitudinal dos feixes vasculares, estes originaram os traços foliares que determinam a vascularização das folhas; somando-se ainda as anastomoses que interconectam feixes adjacentes. As regiões do entrenó, localizadas acima mostraram maior número de camadas de células parenquimáticas, enquanto naquelas abaixo do nó ocorreu incremento de fibras. Nas quatro espécies, desde regiões muito jovens do colmo, medula mostrou-se fistulosa nos entrenós (Fig. 3B; Fig. 4B e D), devido à lise de células parenquimáticas.

Com alongamento do colmo, o meristema intercalar apresentou-se como uma faixa de células entre os tecidos diferenciados, na base do entrenó (Fig. 5 A-C), com algumas células apresentando formato fusiforme e curtas. Nas regiões nodais foram evidenciados gânglios de floema e feixes vasculares (Fig. 5D-F). No sentido basípeto, o colmo mostrou maior presença de fibras subepidérmicas (Fig. 6A-D) e maior quantidade de feixes vasculares, em número e diâmetro, aumentando também a quantidade de fibras perivasculares (Fig. 6 C-F) determinando, assim, o aumento de diâmetro do colmo. Os elementos traqueais do xilema mostraram parede celular com diferentes tipos de espessamento, de anelar a reticulado. O floema apresentou células condutoras alongadas, com placas crivadas nas extremidades dos elementos de tubo crivado.

A base dos entrenós mais apicais dos colmos mantém-se protegida por bainha, após maturação dos tecidos internos, os segmentos nodais são destituídos de bainha. A análise dos segmentos nodais, no sentido basípeto, revelou que nos segmentos protegidos, a presença de tecidos parenquimáticos predominou. Porém, após queda da bainha, com a progressiva diferenciação histológica, predominam tecidos com paredes espessadas e lignificadas e o revestimento do colmo permanece sendo epiderme (Fig. 6G).

Discussão

As regiões apicais dos colmos que estão protegidas pelas bainhas foliares são ainda frágeis, com maior quantidade de tecido meristemático e parenquimático, como observado nas espécies estudadas. A formação do meristema apical ocorre durante a embriogênese (Lenhard e Laux 1999, Rodrigues e Kerbauy 2009) e é responsável pela formação de novos tecidos e órgãos (Sussex 1989). As células iniciais apicais atuam na perpetuação meristemática (Lenhard e Laux 1999). A formação do procâmbio coincidente com a formação dos primórdios foliares das gemas axilares Dengler (2006). A bainha, dentre outras funções, atua na proteção do entrenó durante o seu desenvolvimento. Segundo Lybeer (2006), quando o entrenó do colmo torna-se mais resistente, com paredes celulares mais espessadas, a bainha foliar perde a sua função, se desprendendo do colmo.

Guerreiro *et al.* (2013) constataram presença de epiderme unisseriada em colmos de *Chusquea*. As quatro espécies estudadas (*D. asper*, *M. glauca*, *G. chacoensis* e *P. aurea*) também apresentaram esta característica. Entretanto, apenas a protoderme (túnica) de *D. asper* estava constituída por dois estratos no ápice caulinar, as demais mostraram

protoderme com um só estrato. O ápice caulinar das angiospermas tem padrão de zonação com organização túnica-corpus e durante a divisão celular na túnica, novas paredes celulares ocorrem em planos perpendiculares a superfície da cúpula dando origem a dois estratos de túnica (Beck 2010), designadas por Lyndon (1998) de L1 e L2 (*layer 1 and 2*). A camada 1, mais externa, é a que forma a epiderme.

Tomazello Filho e Azzini (1987) e Marinho *et al.* (2014) referem aumento da quantidade de fibras nas regiões mais periféricas do colmo de espécies de bambu. As fibras subepidérmicas observadas nos entrenós, nas espécies investigadas, também mostraram aumento na quantidade em direção à base do colmo, o que deve contribuir para maior resistência estrutural.

Guerreiro *et al.* (2013) referem que o tamanho e forma dos feixes vasculares, nos colmos de espécies de *Chusquea*, variam da periferia em direção ao centro, sendo circundados por bainhas esclerenquimáticas. Nas espécies estudadas também foi constatada a variação no tamanho e forma dos feixes vasculares e a presença de fibras envolvendo os feixes vasculares. A forma e dimensão das bainhas de fibras varia com a espécie, fato já relatado por Tomazello Filho e Azzini (1987) e Guerreiro *et al.* (2013).

O parênquima fundamental em espécies de bambu é formado por células alongadas, dispostas verticalmente, e intercaladas por células curtas (Metcalf 1960, Tomazello Filho e Azzini 1987). As células longas lignificam-se nos primeiros estágios de desenvolvimento do colmo. De acordo com Gritsch e Murphy (2005), a deposição da parede secundária por ser responsável por cessar o alongamento celular. As células curtas mantêm paredes delgadas e citoplasma denso, o que confere totipotência.

A medula, composta por tecido parenquimático, em *D. asper*, *G. chacoensis*, *M. glauca* e *P. aurea* apresentou-se fistulosa nos entrenós, portanto, “oca” desde o primeiro seguimento nodal. A formação de amplos espaços na região medular pode ocorrer de forma esquizógena, pelo afastamento das células ou de forma lisígena, através da produção de uma enzima que destrói as células locais, tal como tem sido relatado para espaços intercelulares de aerênquima. Nas quatro espécies analisadas foram constatadas evidências de lise celular. Segundo Drew *et al.* (2000), o aerênquima auxilia nas trocas gasosas e na respiração das mitocôndrias das células, fazendo com que as plantas sobrevivam em ambientes com baixa concentração de oxigênio. Nos colmos de bambu, a presença destes

amplos espaços para armazenamento de ar na região central do colmo pode favorecer o desempenho de produção de energia das células próximas. Porém, este também pode ser um ambiente propício à presença de microorganismos.

O meristema intercalar de *D. asper*, *G. chacoensis*, *M. glauca* e *P. aurea* apresentou-se como uma faixa de células na base dos entrenós. O meristema intercalar contém as iniciais meristemáticas dos diversos tipos de tecidos do entrenó, favorecendo o seu alongamento (Fisher 1970, Fisher e French 1976, Liese e Weiner 1996, Kempe *et al.* 2013).

O nó apresenta uma estrutura complexa, externa e internamente (Lybeer 2006). Externamente, o autor reconhece três regiões: a crista supranodal (região superior), protuberância formada pelo meristema intercalar; o intranó (zona de transição) e a crista nodal (região inferior), cicatriz da bainha. Na região nodal, das quatro espécies estudadas, estas regiões foram registradas, bem como uma grande quantidade de feixes vasculares mais centrais, direcionados longitudinalmente no colmo, e também traços foliares, direcionados para a periferia, constituindo anastomoses. Ding *et al.* (2000) mencionam a presença de gânglios de floema nos nós de *Phyllostachys edulis*, os quais localizam-se nas bifurcações dos feixes vasculares, servindo como células de transferência. Em *P. aurea*, estes glânglios não estava constatado, como também em *G. chacoensis* e *M. glauca*, porém foram observados em *D. asper*.

Logo, as espécies estudadas mostraram semelhanças estruturais na região apical. A medula dos entrenós tornou-se fistulosa, em regiões muito jovens do colmo, isto foi constatado nas quatro espécies. Além disso, com o desenvolvimento, no sentido basípeto do colmo, ocorreu aumento na quantidade de fibras, subepidemicamente e contornando os feixes vasculares. As paredes das células parenquimáticas e das fibras tornaram-se mais espessas e lignificadas, conferindo resistência estrutural. A região nodal apresentou-se altamente vascularizada com feixes vasculares longitudinais e transversais. A região, na qual esta presente o meristema intercalar (MI), apresenta uma morfologia característica em Bambusoideae, a crista supranodal, que é uma protuberância resultante da presença interna deste meristema. A caracterização morfoanatômica poderá embasar estudos aplicados, pois o conhecimento das particularidades de cada espécie permite optar por regiões dos colmos das espécies de bambu mais adequado aos procedimentos de propagação.

Referências Bibliográficas

- Amada, S.; Ichikawa, Y.; Munekata, T.; Nagase Y.; Shimizu, H. 1997. Fiber texture and mechanical graded structure of bamboo. **Composites Part B: Engineering** 28: 13 – 20.
- Bamboo Phylogeny Group - BPG 2012. An Updated Tribal and Subtribal Classification of the Bamboos (Poaceae: Bambusoideae). **Bamboo Science and Culture: The Journal of the American Bamboo Society** 24:1–10.
- Beck, C. B. 2005. **An Introduction to Plant Structure and Development**. Cambridge, Univerty Press.
- Carlquist, S. 1982. The use of ethylenediamine in softening hard plant structures for paraffin sectioning. **Stain Technology** 57: 311 – 317.
- Correia, V. C. 2011. Produção e caracterização de polpa organossolve de bambu para reforço de matrizes cimentícias. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, SP. 118 p.
- Dengler, N. G. 2006. The shoot apical meristem and development of vascular architecture. **Canadian Journal of Botany** 84: 1660–1671.
- Ding, Y. L.; Fan, R. W.; & Huang, J. S. 2000. Development and ultrastructure of phloem ganglion in bamboo node. **Acta Botanica Sinica** 42: 1009 – 1013.
- Drew, M.C.; Chuan-Jiu, H.; Morgan, P.W. 2000. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. **Trends in Plant Science** 5: 123 – 127.
- Fisher, J.B. 1970. Development of the intercalary meristem of *Cyperus alternifolius*. **American Journal of Botany** 57: 691 – 703.
- Fisher, J. B.; French, J. C. 1976. The occurrence of intercalary and uninterrupted meristems in the internodes of tropical monocotyledons. **American Journal of Botany** 63: 510 – 525.
- Gerrits, P. O.; Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Joiirnal of Microscopy** 132: 81– 85.
- Gritsch, C. S.; Murphy, R. J. 2005. Ultrastructure of fibre and parenchyma cell walls during early stages of culm development in *Dendrocalamus asper*. **Annals of Botany** 95: 619 – 629.
- Guerreiro, A.; Rodríguez, M. C.; Agrasar, Z. E. R. 2013. Culm anatomy: a contribution to the identification of vegetative Andean woody bamboos in southernmost America. **Kew Bulletin** 68: 209 – 218.
- Horridge, G. A.; Tamm, S. L. 1969. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science** 163: 817 – 818.
- Judd, W.S.; Campebell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F.eDonoghue, M. J. 2009. **Sistemática vegetal: Um enfoque filogenético**. 3ª ed. Porto Alegre: Artemad.
- Judziewicz, E. J.; Clark, L. G. 2007. Classification and Biogeography of New World Grasses: Anomochlooideae, Pharoideae,Ehrhartoideae, and Bambusoideae. **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany** 23: 303 – 314.
- Kempe, A.; Sommer, M.; Neinhuis, C. 2013. A Comparative Analysis of the Mechanical Role of Leaf Sheaths of Poaceae, Juncaceae, and Cyperaceae. **Journal of Botany** 2013:1-6.
- Lenhard, M.; Laux, T. 1999. Shoot meristem formation and maintenance. **Current Opinion In Plant Biology** 2: 44 – 50.

- Li, S.H.; Zeng, Q.Y.; Xiao, Y.L.; Fu, S.Y.; Zhou, B.L. 1995. Biomimicry of bamboo bast fiber with engineering composite materials. **Materials Science and Engineering** 3: 125 – 130.
- Liese, W.; Weiner, G. 1996. Ageing of bamboo culms. A review. **Wood Science and Technology** 30: 77 – 89.
- Lindholm, M. 2007. *Guadua chacoensis* in Bolivia -an investigation of mechanical properties of a bamboo species. **Tese**. Linköping University, Department of Management and Engineering, Carl Malmsten - Centre for Wood Technology e Design.
- Lybeer, B. 2006. Age-related anatomical aspects of some temperate and tropical bamboo culms (Poaceae: Bambusoideae). **Dissertação Doctor Wetenschappen: Biologie**.
- Lyndon, R. F. 1998. **The Shoot Apical Meristem: Its Growth and Development**. Cambridge: Cambridge University Press.
- Marinho, N. P.; Nisgoski, S.; Muñoz, G. I. B. 2014. Avaliação das dimensões das fibras de colmos de bambu, *Dendrocalamus giganteus* (Wall) Munro, em diferentes idades. **Ciência Florestal** 24: 251 – 256.
- O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma** 59: 368 – 373.
- Recht, C.; Wetterwald, M. F. 1994. Bamboos. Timber Press. Portland, Oregon.
- Rodrigues, M. A.; Kerbauy, G. B. 2009. Meristemas- fontes de juventude e plasticidade no desenvolvimento vegetal. **Hoehnea** 36: 525-550.
- Ruzin, S. E. 1999. Plant Microtechnique and Microscopy. New York: Oxford University Press.
- Tomazello Filho, M.; Azzini, A. 1987. Estrutura anatômica, dimensões das fibras e densidade básica de colmos de *Bambusa vulgaris* Schrad. **IPEF** 36: 43 – 50.
- Sussex, I. M. 1989. Developmental Programming of the Shoot Meristem. **Cell** 56: 225-229.
- 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.

Ilustrações

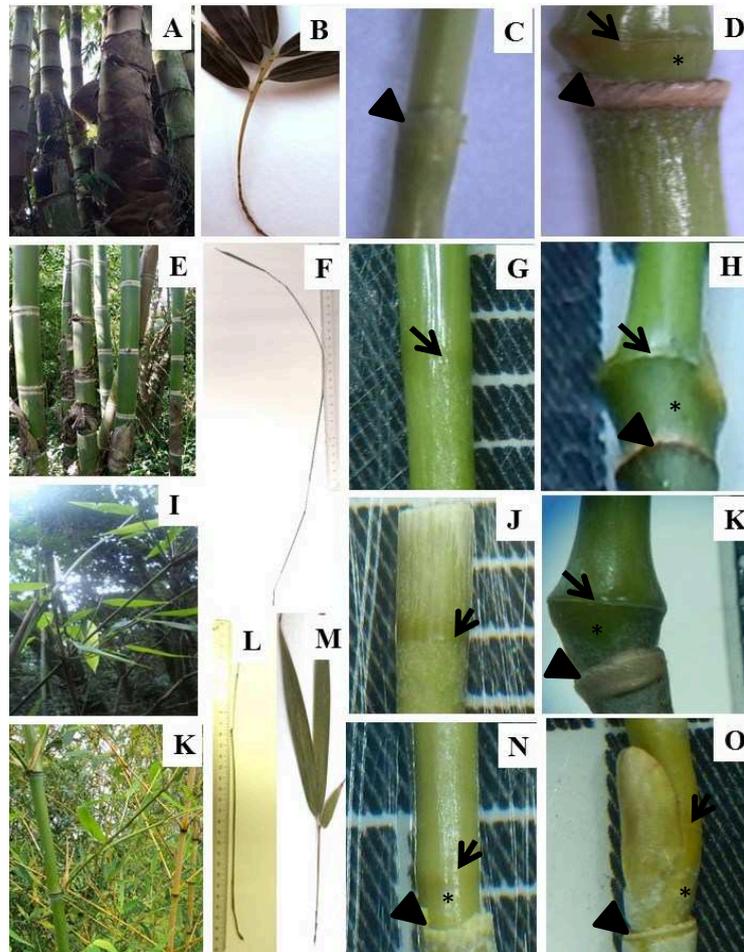


Figura 1: Características morfológicas e detalhes das regiões utilizadas para análise anatômica. **A-D-** *Dendrocalamus asper*. **E-H-** *Guadua chacoensis*, **I-L-** *Merostachys glauca*, **M-P-** *Phyllostachys aurea*. **A, E, I, K-** Vista geral do colmo de uma planta adulta. **B, F, L, M-** Ramo lateral. **C, G, J, N-** Segmento nodal protegido pela bainha foliar. **D, H, K, O-** Segmento nodal desprovido de bainha foliar (seta – crista supranodal; cabeça de seta – crista nodal; asterisco – intranó).

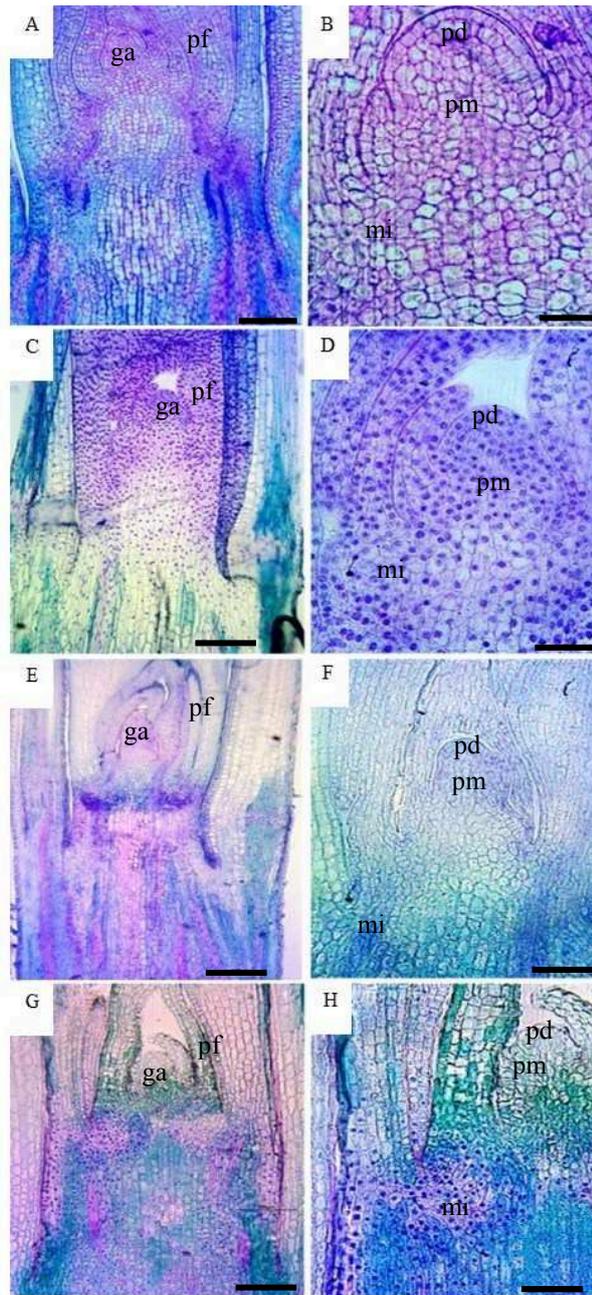


Figura 2: Secções longitudinais do ápice caulinar de espécies de bambu: A-B- *Dendrocalamus asper*. C-D- *Guadua chacoensis*. E- F- *Merostachys glauca* G-H- *Phyllostachys aurea*. A, C, E, G- Vista geral do ápice caulinar, em evidência os primórdios foliares em estádios diferentes de desenvolvimento. B, D, F, H- Detalhe do ápice com protoderme (túnica), promeristema (corpo) e meristema intercalar. Legenda: ga-gema apical; mi- meristema intercalar; pf- primórdio foliar; pm- promeristema; pd- protoderme. Barras: A, C, E, G- 150 μ m; B, D, F, H- 50 μ m.

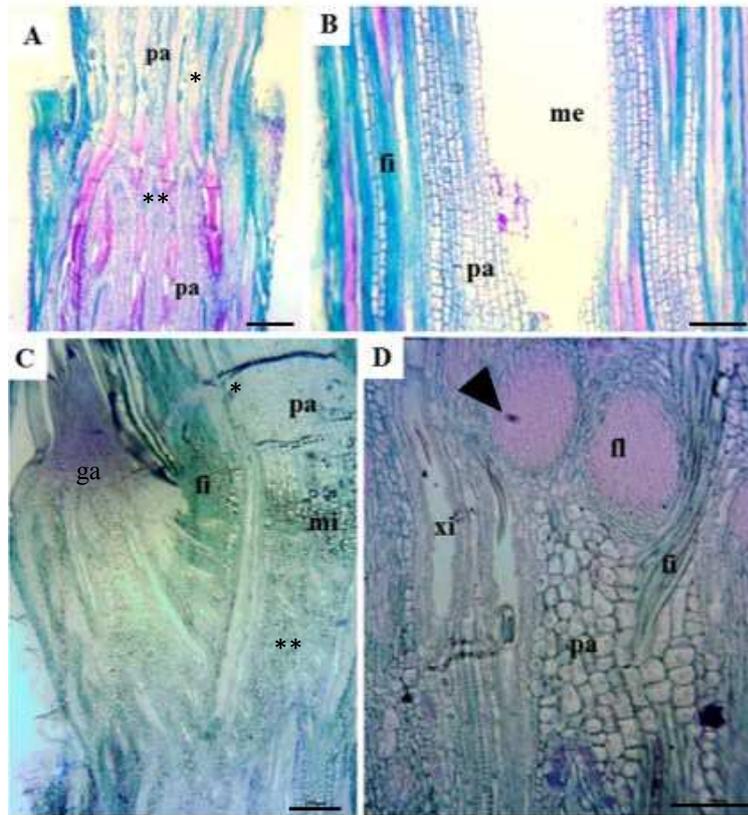


Figura 3: Secções longitudinais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados. A-B - *Dendrocalamus asper*. C-D - *Guadua chacoensis*. A- Segmento nodal, abrangendo região de nó (*) e entrenó (**). B- Região de entrenó (acima do nó) com medula fistulosa. C- Segmento nodal (entrenó*/nó**), com gema axilar. D- Detalhe de feixes vasculares na região nodal, com gânglios de floema (ponta de seta) evidentes. Legenda: fi- fibra; ga- gema axilar; me- medula; mi- meristema intercalar; pa- parênquima; xi- xilema. Barras: A,C- 250µm; B, D-100µm.

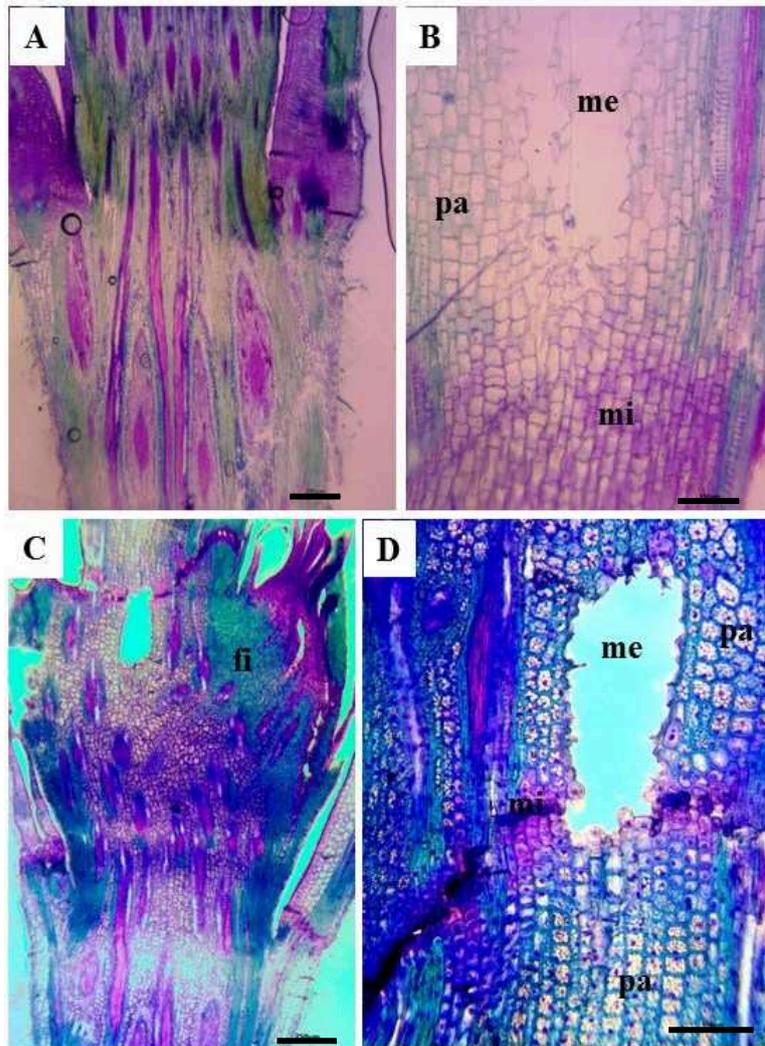


Figura 4: Secções longitudinais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados. A-B- *Merostachys glauca*. C-D- *Phyllostachys aurea*. A. Segmento nodal com feixes vasculares seguindo várias orientações na região do nó. B- Região de entrenó (pouco acima do nó) com medula fistulosa. C- Segmento nodal (entrenó- predomina parênquima/nó- predominam os feixes vasculares); gema lateral evidente. D- Região de entrenó com medula fistulosa. Legenda: fi- fibra; me- medula; mi- meristema intercalar; pa- parênquima. Barras: A,C- 250 μ m; B- 150 μ m; D-50 μ m.

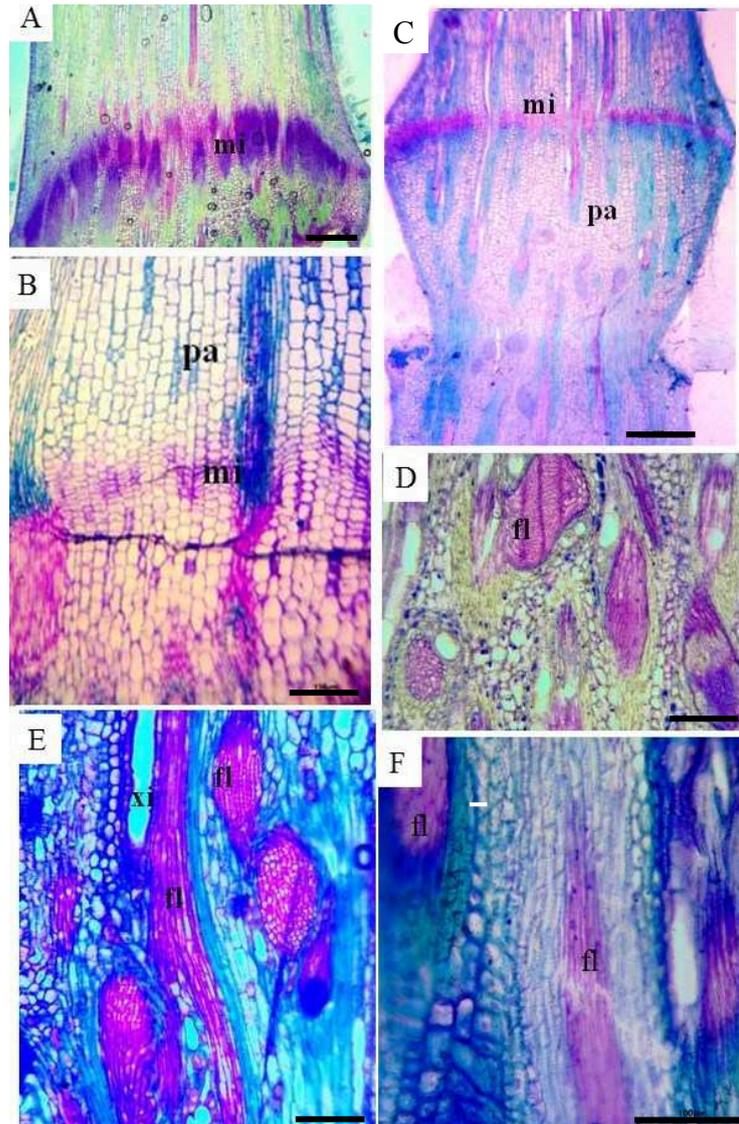


Figura 5: Secções longitudinais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados. **A, D-** *Dendrocalamus asper*. **B, E-** *Guadua chacoensis*. **C-** *Phyllostachys aurea*. **F-** *Merostachys glauca*. **A-C-** Meristema intercalar, localizado na região basal do entrenó, determinando a crista supranodal (dilatação no colmo). **D-** Gânglios de floema (ponta de seta) presentes na região nodal. **E, F-** Detalhe dos feixes vasculares na região nodal. fl- fibra; me- medula; mi- meristema intercalar; pa- parênquima; xi- xilema. Barras: A, C – 250µm; B, D- 150µm; E, F -100µm.

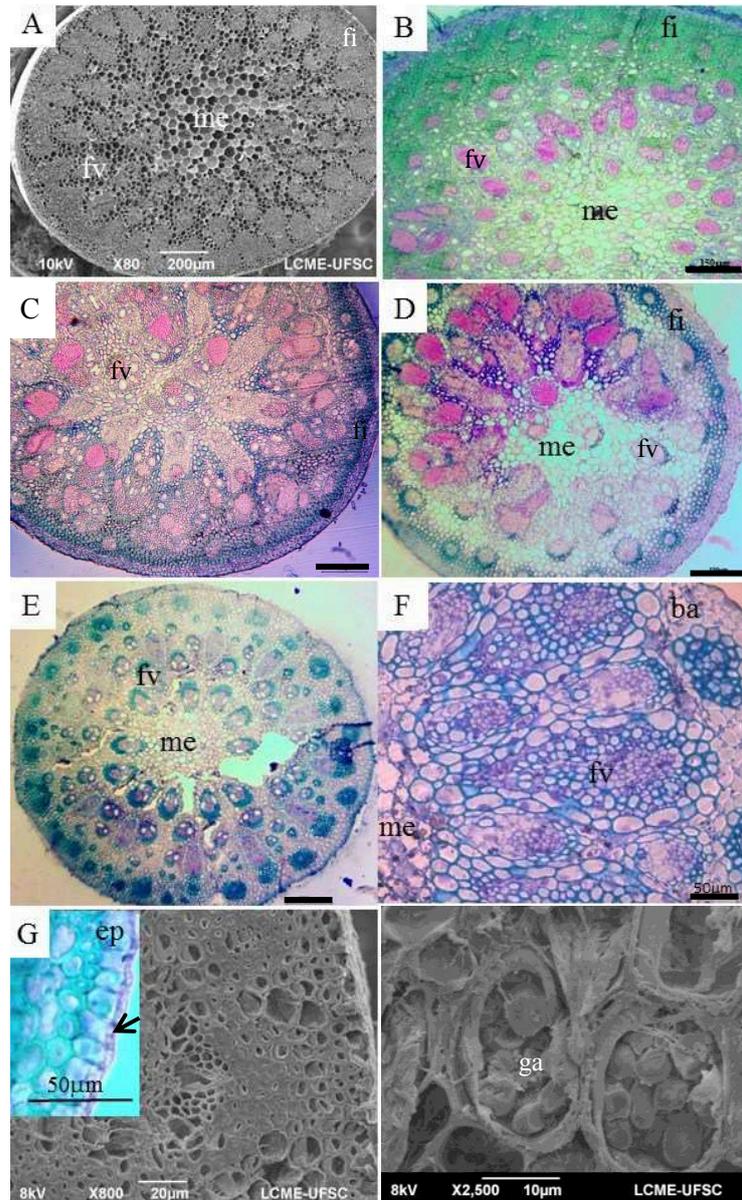


Figura 6: Secções transversais do colmo de ramos laterais de espécies de bambu com tecidos já diferenciados. A, B- *Dendrocalamus asper*. C, D- *Guadua chacoensis*. E, F- *Merostachys glauca* G, H- *Phyllostachys aurea*. A, G, H – MEV. B-F – MO. A- Região intermediária do entrenó com medula parenquimática, feixes vasculares dispersos e fibras subepidérmicas. B, C, D- Fibras subepidérmicas e feixes vasculares dispersos com anastomoses (B, D- Região Basal; C- Região intermediária). E- Região intermediária do entrenó com medula parenquimática. F - Detalhe dos feixes vasculares na região apical de entrenó. G- Epiderme e tecidos internos em região de entrenó; detalhe em MO, evidenciando cutícula (seta) revestindo epiderme. H- Tecido parenquimático com grãos de amido. ep- epiderme; fi- fibra; fv- feixe vascular, ga- grãos de amido; me- medula; pa- parênquima. Barras: A- 200µm; B, C, D- 150µm; E-250µm; F- 50µm; G- 20µm; H-10µm.

Capítulo 2: Origem e caracterização do meristema intercalar em *Phyllostachys aurea* (Bambusoideae – Poaceae)

Resumo

Devido à resistência e ao rápido crescimento das plantas de Bambusoideae, estas despertaram interesse econômico e ecológico. Este rápido crescimento está associado à presença do meristema intercalar (MI). A caracterização deste tecido pode favorecer as técnicas apropriadas de propagação. O trabalho teve por objetivo identificar a origem e caracterizar o MI em ramos laterais jovens de *Phyllostachys aurea*. Amostras foram analisadas em microscopias óptica e eletrônica de varredura. O MI originou-se no meristema apical, a partir de células do promeristema, e estava presente na base dos entrenós e na base dos primórdios foliares. O MI manteve células com características iniciais entre tecidos diferenciados da base dos entrenós promovendo o alongamento do colmo devido à adição e à diferenciação de células. Não foi constatada redução de MI no sentido basípeto do colmo. No sentido radial, o MI estava presente desde a camada subepidérmica até a região medular, sendo interrompido apenas pelo sistema vascular. O MI estava constituído por uma faixa estreita de dois tipos de células, as fusiformes e as quadrangulares. Ambos os tipos mostram células curtas (as fusiformes pouco alongadas), com paredes delgadas, protoplasto vivo e núcleos evidentes. As células fusiformes, com extremidades afiladas, mostraram disposição em cordões ao redor dos feixes vasculares, sendo as precursoras das fibras. As células quadrangulares originaram as células parenquimáticas. Nos entrenós mais apicais predominaram as células parenquimáticas, porém no sentido basípeto do colmo ocorreu maior presença de fibras, além de outras células com paredes espessas e lignificadas. Estes tipos celulares provindos do MI promoveram o alongamento e o aumento em diâmetro do entrenó, favorecendo também a sustentação do colmo. Sendo assim, o MI mostrou ser o tecido com potencialidade para ser explorado em técnicas de propagação de bambu.

Palavras-chave: bambu, histologia, diferenciação, promeristema, entrenó.

Abstract

Due to the resistance and rapid growth of Bambusoideae plants, they aroused economic and ecological interest. This fast growth is associated with the presence of the intercalary meristem (IM). Characterization of this tissue may favor the appropriate propagation techniques. This study aimed to identify the origin and characterize the IM in young side branches of *Phyllostachys aurea*. Samples were analyzed in optical microscopy and scanning electron microscopy. IM originated in the apical meristem from promeristem cells, and is present at the base of the internodes and at the base of leaf primordia. The IM maintains initial characteristics between cells already differentiated tissues internodes of promoting the elongation of the culm due to the addition and differentiation of new cells.

No recuocion of MI was observed in the basipetal direction of the culm. In the radial direction, IM was present from the subepidermal layer to the pith region, being interrupted only by the vascular system. The IM was show to be a narrow band of two types of cells, spindle-shaped and quadrangular. Both types presented as short cells (spindle-shaped ones were slightly elongated), with thin walls, living protoplast and evident nuclei. The spindle-shaped cells had thin ends and were arranged in cords around the vascular bundles, being the precursors of the fibers. The quadrangular cells originated the parenchymatic cells. In the more apical internodes the parenchymal cells predominated, but in the basipetal direction of the culm there was a grater presence of fibers, besides other cells with thick and lignified walls. These cell types originating from IM promoted lengthening and increased in internode diameter, also favoring the culm support. Thus, IM has been shown to be the potential tissue to be explored in bamboo propagation techniques.

Keywords: bamboo, histology, differentiation, promeristem, internode.

Introdução

As espécies da subfamília Bambusoideae (bambus) incluem plantas perenes amplamente distribuídas nas florestas tropicais e temperadas. Esta subfamília está constituída por três tribos: Olyrae, com espécies herbáceas; Arundinarieae e Bambuseae, que incluem espécies lenhosas com interesse econômico e ecológico. Kelchner e Group (2013) reconheceu quatro linhagens plastidiais entre os bambus: lenhosos temperados, lenhosos paleotropicais, lenhosos neotropicais e herbáceos. O autor acrescenta que os bambus lenhosos são resolvidos como parafiléticos com relação à Olyrae, mas os testes revelaram que não pode ser rejeitado que espécies lenhosas (Arundinarieae e Bambuseae) não sejam monofiléticas. *Phyllostachys aurea* Carrière ex Rivière e C. Rivière é um bambu lenhoso e pertencente à tribo Bambusae (Judziewicz e Clark 2007), subtribo Shibataeinae, é nativo da China (Ohrnberger 1998). Esta espécie, apresenta rizoma leptomorfo (longo), alastrante e colmos eretos com cerca de 2-8 m altura; é utilizada na confecção de varas de pesca, móveis, artesanato, usado também como planta ornamental, cerca-viva, e ainda, para alimentação (Tombolato *et al.* 2012).

Os bambus apresentam características anatômicas que tornam sua madeira leve e resistente (Amada *et al.* 1997); tais características, associadas ao seu rápido crescimento, tornam estas plantas alvo de um grande interesse econômico. Alguns autores atribuem aos bambus uma alta capacidade de reter CO₂. As florestas de bambu mantêm a umidade do solo, devido à sua grande produção de serapilheira, evitam a erosão do solo com o seu sistema radicular, servem de abrigo e fornecem alimento para várias espécies animais (Ben-Zhi *et al.* 2005).

Devido à importância econômica e ecológica, é necessário o desenvolvimento de técnicas que propiciem a produção de bambus em larga escala. Porém, a produção de mudas ainda é um processo dispendioso financeiramente, no qual não se consegue padronizar o tamanho e as características genéticas das plantas. Desta forma, a micropropagação seria uma alternativa favorável para produção em grande escala, entretanto requer o desenvolvimento de técnicas adequadas devido às peculiaridades de resposta de cada espécie ao cultivo *in vitro*. Singh *et al.* (2012) ressaltam que a época de coleta de segmentos nodais escolhidos para micropropagação desempenha um papel importante para o desenvolvimento dos explantes. Segundo Mudo *et al.* (2013), o uso de materiais jovens como sementes e plântulas podem trazer bons resultados para algumas espécies. Daquinta *et al.* (2007) obtiveram resultados satisfatórios para produção de calos a partir dos tecidos intercalares de ramos jovens de *Guadua angustifolia* Kunth. Disto decorre que o conhecimento estrutural da espécie de bambu a ser micropropagada pode corroborar com a aplicação de procedimentos mais eficientes.

Assim, são necessários conhecimentos sobre a morfologia e anatomia das estruturas do bambu, de modo a identificar e localizar os tecidos com potencialidade para o sucesso de processos de propagação. Como enfatizado por Kerbauy (1998), os processos de regeneração de uma planta estão relacionados à totipotência celular, ou seja, sua carga genética, favorecendo sua diferenciação e desenvolvimento. Tecidos meristemáticos são os que exibem estas características, os quais, nas Poaceae, estão presentes não apenas nos ápices, mas permanecem residuais como meristema intercalar (MI) entre tecidos diferenciados em regiões distantes do ápice caulinar.

Entre os vários tecidos que constituem os caules nas monocotiledôneas, o MI é alvo de interesse quando se quer tecidos com totipotência para processos de propagação massal. O MI tem origem no meristema apical (Evert 2013) e mantém-se presente na base dos entrenós (Haberlandt 1928). Entretanto, ocorrendo a redução do MI nas regiões mais distantes do ápice caulinar (Fisher 1970; Evert 2013). Porém, Fisher e French (1976) verificaram que, em algumas monocotiledôneas, o alongamento do caule pode ocorrer ativado por MI, em maiores ou menores distâncias do domo apical caulinar. Liese e Weiner (1996) relatam que estudos comprovam que o alongamento do colmo resulta da expansão individual dos entrenós, a partir do meristema intercalar, presente na base do entrenó desde o ápice caulinar.

Tendo em vista que *P. aurea* é espécie considerada de interesse para propagação massal; porém, com carência de dados anatômicos que subsidiem técnicas de micro e macropropagação, o objetivo deste estudo foi investigar o MI em ramos jovens, identificando e caracterizar os aspectos histológicos ao longo do colmo.

Material e Métodos

Nas análises foram usados o ápice e os segmentos nodais do colmo de *Phyllostachys aurea* Carrière ex Rivière e C. Rivière Poaceae - Bambusoideae. Amostras com 2 a 4cm de comprimento foram obtidas a partir de ramos laterais jovens, adquiridas através da Coleção de bambus da UFSC estabelecida na Fazenda Experimental da Ressacada (27°40'54.81"S, 48°32'26.83"O), Florianópolis- SC.

Os segmentos nodais foram numerados no sentido ápice-base: 1° ao 4° segmento nodal protegidos por bainha foliar; e 1° ao 4° segmento nodal desprovidos de bainha foliar. Não foi possível usar uma numeração sequencial, pois havia variação no número de segmentos nodais com e sem bainha foliar, nas diferentes espécies e mesmo entre ramos de uma mesma espécie.

Microscopia óptica

Nos estudos em microscopia óptica (MO), as amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1 M, em pH 7,2, por 4h em bomba de vácuo, afim de retirar todo ar existente, facilitando a infiltração. Em seguida, o material foi lavado por três vezes no mesmo tampão, colocado em uma solução de etilenodiamina 10%, diluído em água (sendo uma semana para as regiões mais apicais e quatro semanas para as regiões mais basais), para reduzir a rigidez decorrente da lignificação da parede celular (fibras e elementos traqueais) e, assim, facilitar a secção do material, conforme Carlquist (1982). Após esta etapa, o material foi lavado três vezes em água destilada e desidratado em série etílica gradual. As amostras foram infiltradas em hidroxietilmetacrilato (*Jung's Historessin* – marca Leica), seguindo os procedimentos de Gerrits e Smid (1983). Os blocos, contendo o material, foram seccionados com 5µm de espessura, em micrótomo de rotação Leica — RM 2125 RT (Leica, Nussloch- Alemanha). As secções longitudinais seriadas do ápice e dos segmentos nodais foram distendidas sobre lâminas contendo água,

em chapa aquecedora (60°C). Depois da secagem das lâminas, o material foi corado com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964).

As análises foram realizadas em microscópio óptico DM2500® (Leica, Wetzlar-Germany) e para captura de imagens foi usada câmera digital Opticam 5.1 MP (New Songdo City, South Korea) e software OPTHD.

Microscopia eletrônica de varredura

Nos estudos ultraestruturais foram utilizadas amostras fixadas em glutaraldeído 2,5%, em solução tampão fosfato de sódio 0,1 M, em pH 7,2, lavadas na mesma solução tampão e desidratadas em etanol, passando pelo etanol 100° GL (Ruzin, 1999) por duas vezes. Após a total desidratação, as amostras foram secas, conforme procedimento de Horridge e Tamm (1969), em ponto crítico de CO₂ Leica EM CDP 030 (Leica, Heidelberg, Germany). As amostras secas foram aderidas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador Leica SCD 500 (Leica, Vienna, Austria). Posteriormente, as amostras foram analisadas e documentadas em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol JSM-6390LV (Tokyo, Japan), no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME-UFSC).

Resultados

Os tecidos meristemáticos presentes no ápice de colmos de *P. aurea* estavam protegidos por primórdios foliares e folhas jovens (Figuras 7A e 7E). A gema apical (Figuras 7A e 7F) mostrou-se formada por protoderme e promeristema (Figura 7B). A protoderme apresentou uma camada de células com núcleos conspícuos e frequentes evidências de divisões anticlinais (Figura 7B). A gradual diferenciação das células deste tecido meristemático, no sentido basípeto do colmo, resultaram na formação da epiderme. O promeristema apresentou células com diversos planos de divisão (Figura 7B) e, no sentido basípeto, teve as células diferenciadas em meristema fundamental e procâmbio (Figura 7C). Porém, o promeristema também originou o meristema intercalar (MI; Figuras 7A e 7D), formado por um anel periférico de células residuais, com manutenção das características iniciais, isto é, núcleos conspícuos e indícios de intensa mitose (Figura 7D).

Decorrente da multiplicação celular do MI, este tecido foi observado também na base do primórdio foliar (Figura 7C).

No ápice caulinar não havia iniciado ainda alongamento dos entrenós e, devido à proximidade entre os nós nesta região, o MI apresentou-se de forma praticamente contínua, como pode ser observado na Figura 7A. As células do meristema intercalar presentes na base do ápice caulinar, formaram um aglomerado de células que exibiu vários planos de divisão. O MI estava circundado por células do procâmbio (Figura 7A) que mostraram, no sentido basípeto, indícios de divisão e alongamento, cujas células inicialmente eram fusiformes, porém curtas, e depois originaram as fibras. O MI presente na base dos primórdios foliares mostrou-se contínuo e, no sentido basípeto, com células MI apresentando-se mais diferenciadas (alongadas) na base dos primórdios foliares seguintes. Estas células mais alongadas do MI ficaram confinadas na região mais periférica do colmo (Figura 7A).

No segmento nodal seguinte, no sentido basípeto, o MI estava presente entre tecidos já diferenciados, na base do entrenó (Figuras 8A-8D). O MI estava constituído por dois tipos celulares, com formas distintas, as células fusiformes e as células quadrangulares (Figuras 8E-8H). As células fusiformes (Figuras 8E e 8F) eram curtas e constituíam as iniciais das fibras, dispostas ao redor dos feixes vasculares. Próximo às células fusiformes, na área medular, as células quadrangulares (Figuras 8G e 8H) mostraram ser as iniciais meristemáticas das células parenquimáticas (Figuras 8B e 8D; 9B, 9D, 9F e 9H).

O MI promoveu o desenvolvimento do entrenó, tanto em diâmetro, quanto em comprimento (Figuras 8A e 8C; 9A, 9C, 9E e 9G). As células do MI multiplicaram-se e alongaram-se promovendo o alongamento do colmo devido à adição de novas células. Este alongamento das células do MI ocorreu no sentido acrópeto, pois células residuais do meristema intercalar mantiveram-se na base do entrenó (Figura 9H). O MI estava presente desde a camada subepidérmica até a região medular, sendo interrompido apenas pelos feixes vasculares (Figuras 8B e 8D; 9B, 9D, 9F e 9H).

Nos segmentos nodais, foi constatado que quanto mais próximo ao ápice caulinar havia maior quantidade de parênquima (Figura 8A), porém quanto mais próximo à base, era maior a quantidade de fibras (Figura 9G). Com o aumento do diâmetro do colmo (Figuras 9G e 9H), devido a ação do MI, ocorreu adição de fibras subepidérmicas. Estas fibras mostraram paredes celulares espessadas (Figura 9H). A faixa de MI apresentou-se de

forma semelhante na base dos entrenós, desde a região apical do colmo até regiões mais basais, não havendo redução do MI no sentido basípeto.

Discussão

Os ramos laterais de *P. aurea* apresentaram bainha foliar nos segmentos nodais das regiões apicais, atuando na proteção destes já que são compostos por tecidos frágeis, portanto, tecidos meristemáticos e parenquimáticos. Segundo Kempe *et al.* (2013), a rigidez da bainha foliar evita danos mecânicos, promovendo a proteção do colmo durante seu desenvolvimento. Lybeer (2006) esclarece que a bainha foliar permanece no entrenó durante o desenvolvimento do colmo de bambu e quando cessa o crescimento, ocorre sua queda ou dependendo da espécie ela pode permanecer na planta. Com o crescimento do ramo lateral de *P. aurea*, seus tecidos tornaram-se diferenciados e as paredes celulares mostraram espessamento e lignificação, assim, a bainha foliar perdeu sua função e se despreendeu do colmo.

Na base do ápice caulinar de *P. aurea*, a partir do promeristema, originaram-se as células do MI. Este grupo de células multiplicou-se, e continuou a diferenciação, tornando-se mais alongadas, no sentido basípeto, e manteve-se na região mais periférica do colmo. Bleecker *et al.* (1986), estudando uma espécie de Poaceae, descrevem a região do MI como região de divisão e alongamento celular, como ocorreu com *P. aurea*, no presente estudo.

Na base do entrenó de *P. aurea* foram observadas células com características distintas das demais células do colmo. Na região subepidérmica estavam presentes células quadrangulares e, adjacentes a estas, células fusiformes, curtas e com extremidades afiladas, precursoras das fibras. Na região de medula foram visualizadas células quadrangulares, iniciais das células parenquimáticas. De acordo com Fisher (1970), o MI contém as iniciais meristemáticas dos tecidos do córtex e da medula do entrenó.

O MI favorece o alongamento do colmo, auxiliando na multiplicação dos tecidos definitivos presentes no mesmo, assim como descrito por Fisher e French (1976) e Liese e Weiner (1996). Kempe *et al.* (2013) atribuíram o rápido crescimento do colmo e também dos brotos ao meristema intercalar. Isto ocorre devido ao fato de que este tecido totipotente

é capaz de produzir diversas células que compõem a região de entrenó, favorecendo seu crescimento. Fournier e Andrieu (2000) admitem que o meristema intercalar recebe estímulos externos, tal como da temperatura, promovendo assim o alongamento do entrenó. Durante este alongamento ocorre a redução do meristema intercalar no sentido basípeto, as paredes celulares tornam-se lignificadas, tornando o colmo mais resistente, o que leva a estagnação do alongamento (Gritsch e Murphy 2005). Porém, no presente estudo, este comportamento não foi observado em *P. aurea*, não ocorrendo a redução do MI em direção a base do colmo dos ramos analisados, ou seja, células residuais foram mantidas ao longo do colmo, mesmo em regiões mais basais.

O alongamento do colmo de *P. aurea* ocorreu no sentido basípeto, porém, o crescimento do meristema intercalar ocorreu no sentido acrópeto. Este tipo de crescimento que já foi referido por Fisher e French (1978). Evans (1969) ressaltou que a diferenciação das células do meristema intercalar varia de acordo com os tecidos que serão originados.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho a partir de ramos jovens de *P. aurea*, é possível afirmar que células do promeristema presentes no ápice caulinar originaram o MI contribuiu para o desenvolvimento da região de entrenó, promovendo o aumento do diâmetro e o alongamento, além disto, com o incremento na quantidade de fibras e espessamento da parede celular destas e de outras células, contribuindo para a resistência do colmo. Estes eventos ocorreram no sentido basípeto do colmo, já no sentido acrópeto de cada entrenó ocorreu o alongamento do MI. Não houve redução do meristema intercalar no sentido basípeto do colmo, ocorrendo presença de células residuais de MI em regiões mais basais do colmo.

Referências bibliográficas

- Amada, S.; Ichikawa, Y.; Munekata, T.; Nagase Y.; Shimizu, H. 1997. Fiber texture and mechanical graded structure of bamboo. **Composites Part B: Engineering** 28: 13 – 20.
- Ben-Zhi, Z.; Mao-Yi, F.; Jin-Zhong, X.; Xiao-sheng, Y.; Zheng-cai, L. 2005. Ecological functions of bamboo forest: Research and Application. **Journal of Forestry Research** 16: 143 – 147.
- Bleeker, A. B.; Schuette, J. L.; Kende, H. 1986. Anatomical analysis of growth and developmental patterns in the internode of deepwater rice. **Planta** 169:490 – 497.
- Carlquist, S. 1982. Te use of ethylenediamine in softening hard plant structures for parafin sectioning. **Stain Technology** 57: 311 – 317.

- Daquinta, M.; Gregori, A.; Cid, M.; Lezcano, Y.; Sagarra, F. 2007. Formación de callos e inducción de brotes a partir de tejido intercalar de ramas de plantas adultas de *Guadua angustifolia* Kunth. **Biotecnología Vegetal** 2: 119 – 122.
- Evans, P. S. 1969. Intercalary growth in the aerial shoot of *Eleocharis acuta* R. BR: II Development of the main internode. **New Zealand Journal of Botany**, 7: 36 – 42.
- Evert, R. F. 2013. **Anatomia das Plantas de ESAU**. Editora Blucher. 728p.
- Fisher, J. B. 1970. Development of the intercalary meristem of *Cyperus alternifolius*. **American Journal of Botany** 57: 691 – 703.
- Fisher, J. B.; French, J. C. 1976. The occurrence of intercalary and uninterrupted meristems in the internodes of tropical monocotyledons. **American Journal of Botany** 63: 510 – 525.
- Fisher, J. B.; French, J. C. 1978. Intermodal meristems of monocotyledons: Further studies and a general taxonomic. **Annals of Botany** 42: 41 – 50.
- Fournier, C.; Andrieu, B. 2000. Dynamics of the Elongation of Internodes in Maize- *Zea mays* L.-Analysis of Phases of Elongation. **Annals of Botany** 86: 551 – 563.
- Gerrits, P. O.; Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy** 132: 81 – 85.
- Gritsch, C. S.; Murphy, R. J. 2005. Ultrastructure of fibre and Parenchyma Cell Walls During Early Stages of Culm Development in *Dendrocalamus asper*. **Annals of Botany** 95: 619 – 629.
- Haberlandt, G. 1928. **Physiological Plant Anatomy**. Reedição. London, Macmillan.
- Horridge, G. A.; Tamm, S. L. 1969. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science** 163: 817 – 818.
- Judziewicz, E. J.; Clark, L. G. 2007. Classification and Biogeography of New World Grasses: Nomochoideae, Pharoideae, Ehrhartoideae, and Bambusoideae. **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany** 23: 303 – 314.
- Kelchner, S. A.; Group, B. P. 2013. Higher level phylogenetic relationships within the bamboos (Poaceae: Bambusoideae) based on five plastid markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 67: 404 – 413.
- Kempe, A.; Sommer, M.; Neinhuis, C. 2013. A Comparative Analysis of the Mechanical Role of Leaf Sheaths of Poaceae, Juncaceae, and Cyperaceae. **Journal of Botany** 2013:1-6.
- Kerbauy, G. B. 1998. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas *In*: Torres, A.C.; Caldas, L.S. e Buso, J.A. (Eds.) Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: **CBAB/EMBRAPA**. p. 519 – 531.
- Liese, W.; Weiner, G. 1996. Ageing of bamboo culms. A review. **Wood Science and Technology** 30: 77 – 89.
- Lybeer, B. 2006. Age-related anatomical aspects of some temperate and tropical bamboo culms (Poaceae: Bambusoideae). **Dissertação Doctor Wetenschappen: Biologie**. Disponível em: <https://biblio.ugent.be/publication/472175>. Acessado em: 23 de julho de 2015.

- Mudoi, K. D.; Saikia, S. P.; Goswami, A.; Gogoi, A.; Bora, D.; Borthakur, M. 2013. Micropropagation of important bamboos: A review. **African Journal Biotechnology** 12: 2770 – 2785.
- O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma** 59: 368 – 373.
- Ohrnberger, D. 1998. *The Bamboos of the World*. Editora Elsevier. 585p.
- Ruzin, S. E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. New York: Oxford University Press. 322p.
- Singh, S. R.; Dalal, S.; Singh, R.; Dhawan, A. K.; Kalia, R. K. Micropropagation of *Dendrocalamus asper* {Schult. & Schult. F.} Backer ex k. Heyne): an exotic edible bamboo. 2012. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology** 21:220–228.
- 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: 105 – 114.

Ilustrações

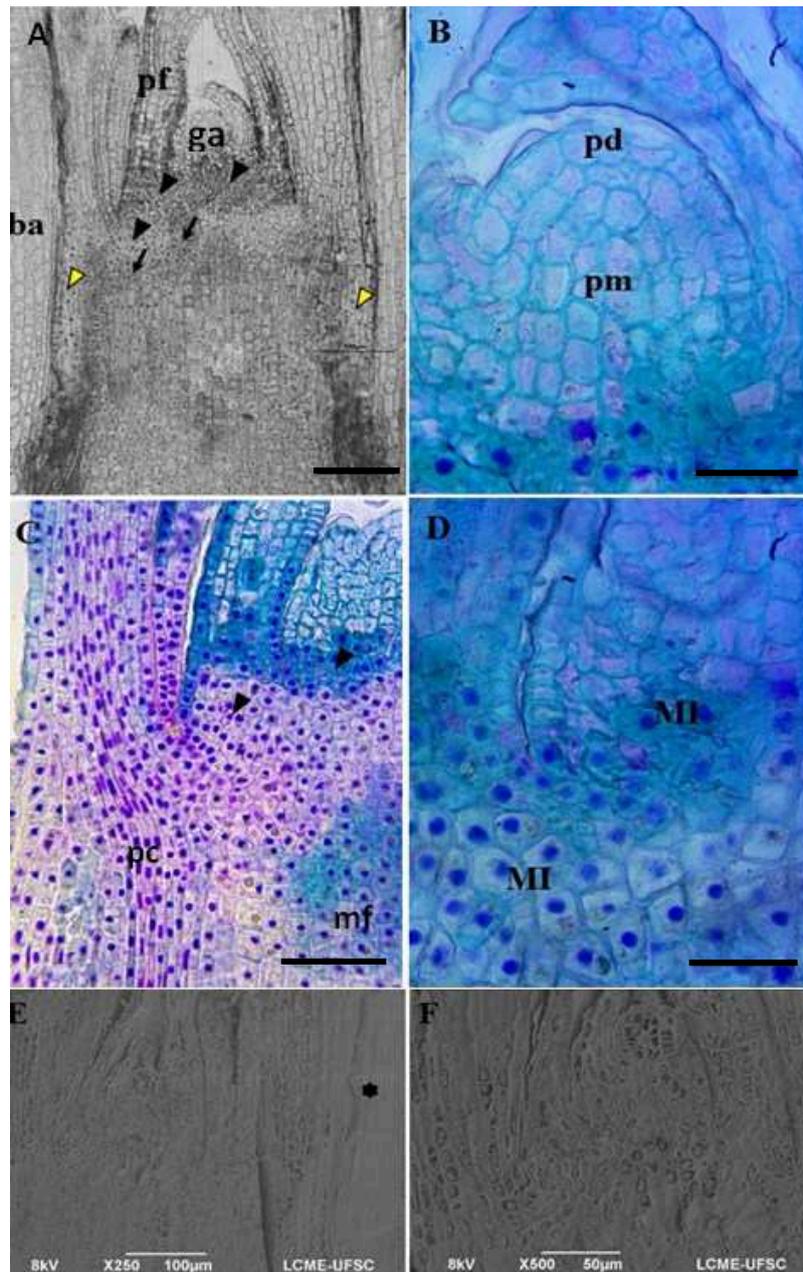


Figura 7: Secções longitudinais do ápice caulinar de *Phyllostachys aurea* em microscopia óptica. **A-** vista geral do ápice caulinar protegido pelos primórdios foliares e folhas jovens. Meristema intercalar apresentando-se de forma praticamente contínua, com vários planos de divisão (ponta de seta preta) na base do ápice caulinar, circundado por células procambiais (células fusiformes) (seta). As células do meristema intercalar se alongaram, essas tornaram mais diferenciadas, ficando limitadas à extremidade do colmo (ponta de seta amarela). **B-** Detalhe do ápice caulinar, sendo possível observar a protoderme e o promeristema protegido pelos primórdios foliares. **C-** Detalhe do meristema intercalar (ponta de seta) na base do ápice caulinar, células residuais do meristema intercalar mantiveram-se na base do primórdio foliar. **D-** Detalhe do meristema intercalar com evidência de divisão celular (estrela). **E-** Vista geral do ápice caulinar em microscopia eletrônica de varredura. **F-** Em detalhe a gema apical protegida pelos primórdios foliares e folhas jovens. Legenda: gema apical; ba- bainha foliar; mf- meristema fundamental; mi- meristema intercalar; pc- procâmbio; pd- protoderme; pf- primórdio foliar; pm- promeristema; pt- protoderme. Escala: A-150µm; B, D-25µm; C, F- 50µm; E-100µm.

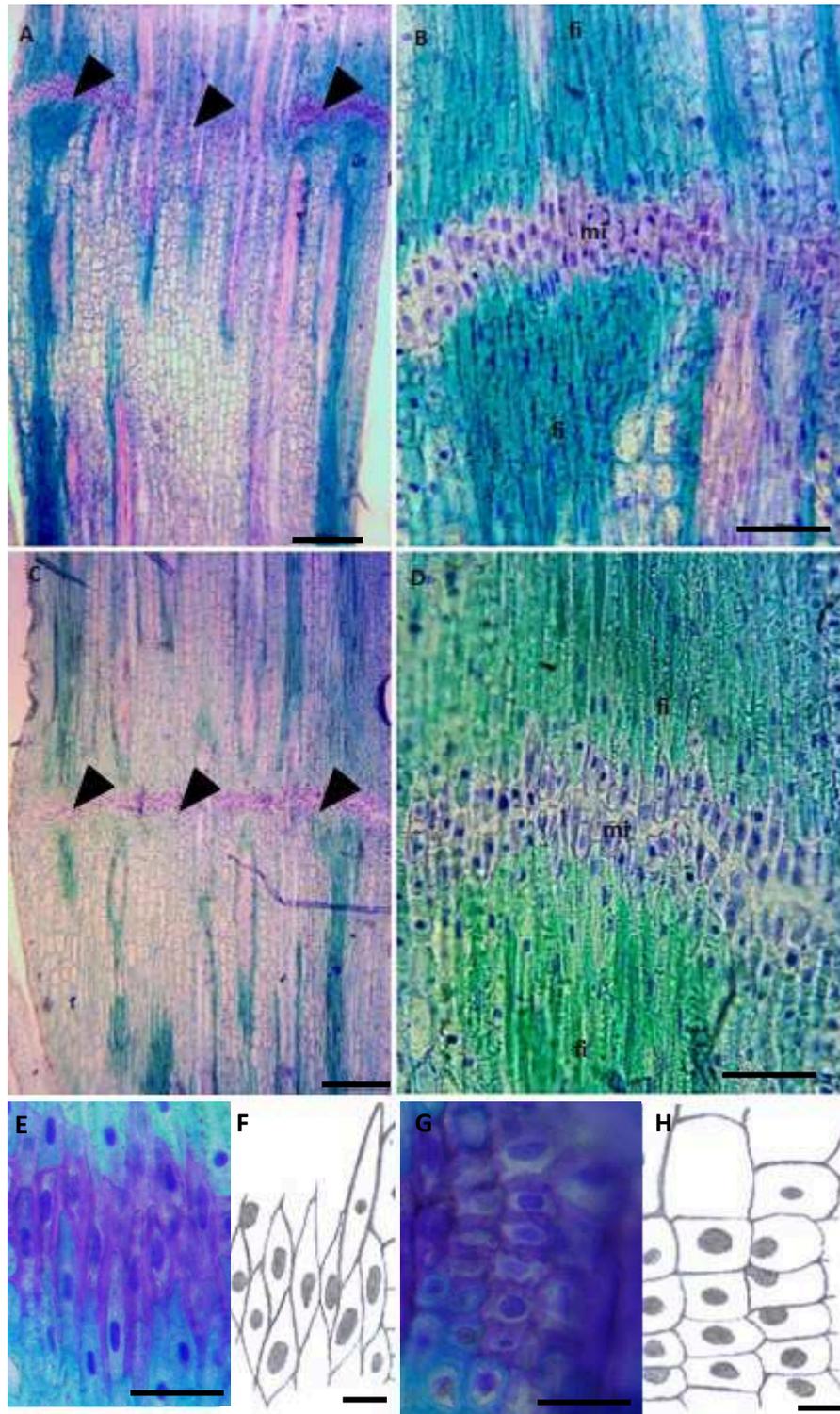


Figura 8: Secções longitudinais do segmento nodal de regiões mais apicais do ramo lateral (segmentos nodais protegidos pela bainha foliar) de *Phyllostachys aurea* em microscopia óptica. Meristema intercalar presente na base do entrenó. **A-** Vista geral do segmento nodal 2 com meristema intercalar evidente (ponta de seta). **C-** Vista geral do segmento nodal 3 com meristema intercalar evidente (ponta de seta). **B-D-** Detalhe do segmento nodal 2 e 3 com meristema intercalar se diferenciando em fibras, as mesmas tornam-se mais alongadas ao se distanciar do meristema intercalar. **E-F-** Detalhe das células fusiformes e quadrangulares (G-H); **F-H-** representações esquemáticas. Legenda: fi- fibra; mi- meristema intercalar. Escala: A- 150µm; B- 50µm; C-250µm; E-H- 25µm.

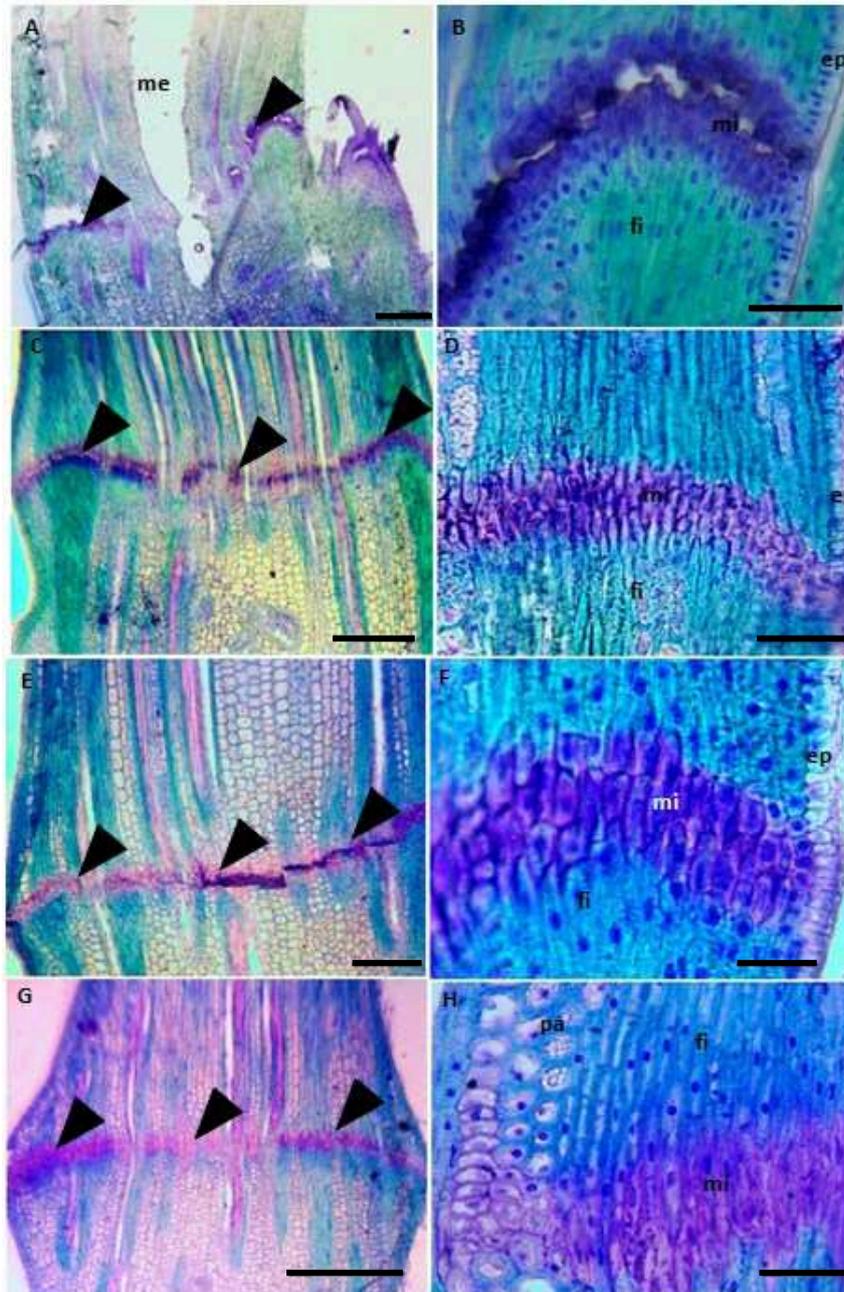


Figura 9: Secções longitudinais do segmento nodal em região mais basais do ramo lateral (segmentos nodais desprovidos de bainha foliar) de *Phyllostachys aurea* em microscopia óptica. Meristema intercalar presente na base do entrenó. **A-** Vista geral do segmento nodal 1 com meristema intercalar evidente (ponta de seta). **C-** Vista geral do segmento nodal 2 com meristema intercalar evidente (ponta de seta). **E-** Vista geral do segmento nodal 3 com meristema intercalar evidente (ponta de seta). **G-** Vista geral do segmento nodal 4 com meristema intercalar evidente (ponta de seta). **B, D, E, F-** Detalhe dos segmentos nodais 1, 2, 3 e 4 (respectivamente) com meristema intercalar se diferenciando em parênquima e fibras, as células tornam-se mais alongadas ao se distanciarem do meristema intercalar. ep- epideme; fi- fibra; me- medula; mi- meristema intercalar; pa- parênquima. Escala: A, C, G- 250µm; E-100µm; B, D, F, H- 50µm.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Dentre as quatro espécies estudadas, duas são nativas e duas exóticas, as mesmas foram selecionadas em uma lista de espécies prioritárias para estudos com bambus, devido aos seus potenciais usos e seus potenciais ecológicos. Logo estes resultados obtidos são muito relevantes, devido à escassez de dados sobre a estrutura interna dos colmos que possam fundamentar estudos aplicados de propagação vegetativa.

O uso das técnicas de microscopia possibilitou responder algumas perguntas sobre a estrutura histológica dos colmos de espécies de Bambusoideae (*Phyllostachys aurea*, *Dendrocalamus asper*, *Guadua chacoensis* e *Merostachys glauca*) e sobre a origem e localização do meristema intercalar. Até o presente momento, há grande carência de estudos abordando estas características em Bambusoideae. Soma-se a isto também, a rara existência de trabalhos que abordam o meristema intercalar até mesmo em outros grupos taxonômica de monocotiledôneas.

As espécies de bambu estudadas apresentam constituições histológicas do colmo distintas. A quantidade de tecidos meristemáticos e parenquimáticos também é variável com o desenvolvimento no sentido ápice-base. Por consequência, no sentido basal há um incremento de fibras, as quais favorecem a sustentação do colmo.

Ao descrever as características celulares e mostrar a exata posição do meristema intercalar no colmo de espécies de Bambusoideae, será possível a utilização deste trabalho para o desenvolvimento de pesquisas futuras, para subsidiar procedimentos técnicos mais adequados para macro e micropropagação, pois as respostas da cultura *in vitro*, por exemplo, são dependentes das estruturas vegetais escolhidas (totipotentes). Logo, regiões com tecidos meristemáticos são indicadas para propagação vegetativa dos bambus. Estes estão presentes no ápice dos caules, mas também, a região supranodal é indicada por conter o meristema intercalar.

Porém, ainda existem muitas questões a serem respondidas acerca das mais variadas espécies de bambu. Seria relevante conhecer ultraestruturalmente a estrutura do MI, descrevendo suas características celulares. Assim, os avanços científicos podem auxiliar na compreensão da ontogênese histológica do MI, durante o desenvolvimento dos outros tecidos do colmo.