



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

José Edson Lourenço dos Santos

**EFEITO DE AGENTES GELEIFICANTES E MEIO SIMPLIFICADO NA
GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE *Cereus jamacaru* e *Pilosocereus pachycladus***

AREIA-PB
2018

JOSÉ EDSON LOURENÇO DOS SANTOS

**EFEITO DE AGENTES GELEIFICANTES E MEIO SIMPLIFICADO NA
GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE *Cereus jamacaru* e *Pilosocereus pachycladus***

Trabalho de graduação apresentado ao curso de Agronomia Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Campus II – Areia – PB, como requisito para obtenção do título de **Engenheiro Agrônomo.**

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Naysa Flávia Ferreira do Nascimento

Coorientadora: Msc. Lais Tomaz Ferreira

AREIA - PB
2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237e Santos, Jose Edson Lourenco Dos.

EFEITO DE AGENTES GELEIFICANTES E MEIO SIMPLIFICADO NA GERMINAÇÃO IN VITRO DE *Cereus jamacaru* e *Pilosocereus pachycladus* / Jose Edson Lourenco Dos Santos. - AREIA, 2018.

38 f. : il.

Orientação: NAYSA FLÁVIA FERREIRA DO NASCIMENTO
NASCIMENTO.

Coorientação: LAIS TOMAZ FERREIRA FERREIRA.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Cactáceas, Cultivo in vitro , Amido de milho. I.
NASCIMENTO, NAYSA FLÁVIA FERREIRA DO NASCIMENTO. II.
FERREIRA, LAIS TOMAZ FERREIRA. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA
Campus II - Areia - PB



DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO Nº 1188

TÍTULO: "EFEITO DE AGENTES GELEIFICANTES E MEIO SIMPLIFICADO NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE *Cereus jamacaru* e *Pilosocereus pachycladus*"

AUTOR(A): **José Edson Lourenço dos Santos**

ORIENTADOR(A): Prof^ª. Dr^ª. Naysa Flávia Ferreira do Nascimento

APROVADA EM: 13/07/2018.

BANCA EXAMINADORA	NOTA	ASSINATURA
Prof ^ª . Dr ^ª . Naysa Flávia F. do Nascimento	10,0	Naysa F. F. do Nascimento
MSc. Lais Tomaz Ferreira	10,0	Lais Tomaz Ferreira
Eng ^ª . Agron ^ª Sabrina Kelly dos Santos	10,0	SKSantos
MÉDIA FINAL	10,0	

Areia (PB), 13 de Julho de 2018.

José Edson Lourenço dos Santos
José Edson Lourenço dos Santos
Aluno(a)

Djanice S. de Santana
Djanice Silva de Santana
Secretário(a)

Bruno de Oliveira Dias
Prof. Bruno de Oliveira Dias
Coordenador

“Até onde posso, vou deixando o melhor de mim... Se alguém não viu, foi porque não me sentiu com o coração.”

(Clarice Lispector)

Pai e Mãe...

Dedico e Ofereço

Agradecimentos

A **DEUS**, por me conceder o maior dos presentes que alguém pode desejar ter, a vida. Por ser minha fortaleza nos momentos difíceis da vida e por me motivar a seguir em frente, sempre me dando forças para superar os mais difíceis obstáculos...

A toda minha família, em especial aos meus pais Helena e Heleno, que apesar de todas as dificuldades enfrentadas na vida, me deram uma boa educação e sempre me ofereceram o essencial: amor...

A minha esposa Adriana, pela paciência e amor dedicados, e por fazer não desistir dos meus objetivos, a minha filha Lara, meu amor maior, razão da minha vida....

Aos meus irmãos, Elias, Edna e Elaine, a meus primos João Victor e João Gabriel, a minha sobrinha Elis, que amo incondicionalmente....

A toda família COFEP, pelos ensinamentos, incentivos, e toda confiança depositada, amo todos vocês....

A segunda família que Deus me deu em Areia (Mãe Zefinha, Pequena, Mine, Belinha, Ceci, Bruna) pelos incentivos e confiança...

Ao meus fieis amigos e companheiros de turma e para uma vida toda, Augusto, Raiana, Luana Silva, Sabrina, Luana Carneiro, Fernanda, Harly, Priscylla, Ivamberta, Luan Cardoso, Francisco Jeanes, e aos demais colegas da turma 2012.2

Aos companheiros do LAMEPLA, Maria, Carol, Jessica, Cinthia, Marta, Priscila, Guilherme, Gabriela...

Á Lais Tomaz pelos ensinamentos e dedicação, sempre disposta a ajudar, meu muito obrigado....

A minha Orientadora Naysa Flávia, meu muito obrigado pelos ensinamentos e incentivos, e por fazer parte de minha formação acadêmica...

Lania Isis, Willian, Severino, Jessica Trajano, Saulo Alves, Karla Rocha....

A todos os professores do CCA/UFPB, em especial Núbia Pereira, Flávio Pereira, Laís Borges, e aos ex professores Mauro Nóbrega, Adriana Martins e Carliane Rebeca....E a todos que de certa forma contribuíram para minha formação, pessoal e profissional...

SANTOS, J. E. L. Efeito de agentes geleificantes e meio simplificado na germinação *in vitro* de cactáceas. Areia, PB: UFPB, 2018 38f. (Monografia apresentada ao Centro de Ciências Agrárias).

RESUMO

As cactáceas apresentam importância para o desenvolvimento ecológico, social e econômico principalmente no que diz respeito ao bioma Caatinga, entretanto, como consequência do extrativismo intensivo, algumas espécies estão em risco de extinção. Com isto, são necessários estudos que melhorem, viabilizem e acelerem a multiplicação dessas espécies. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do meio simplificado e o tipo do agente geleificante na germinação *in vitro* de espécies de cactáceas. Foram utilizados frutos de duas espécies de cactáceas, *Cereus jamaracu* e *Pilosocereus pachycladus*, coletados no Instituto Nacional do Semiárido. As sementes destes foram desinfestadas e inoculadas *in vitro* na Universidade Federal da Paraíba, sendo utilizados quatro tratamentos: 1 – ½ CK+AG; 2 – ½ CK+AM; 3 - CK+AG; 4 – CK+AM. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento por 30 dias em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. Foi avaliado o percentual de contaminação e germinação, com 100 repetições por tratamento em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (2 meios de cultivo e 2 agentes geleificantes), foi realizado a análise biométrica aos 60 dias, do comprimento da parte aérea e comprimento da maior raiz, sendo utilizadas 15 repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Observou-se que os meios simplificados CK+AG (tratamentos 1 e 3) se mostraram mais eficientes na germinação das duas espécies avaliadas. No desenvolvimento de plântulas de *Pilosocereus pachycladus* o tratamento com o meio de cultura CK+AM proporcionaram maior altura da parte aérea, já o tratamento com CK+AG, resultou em maiores médias para a variável comprimento da maior raiz. Para a espécie *Cereus jamacaru*, o único tratamento significativo foi o CK+AG, este apresentou médias de 0,51 e 0,61 para as características altura da parte aérea e comprimento da maior raiz, todavia, não pode-se realizar nenhuma comparação com os demais tratamentos devido a ocorrência de contaminações. Diante os resultados obtidos sugerem-se a utilização do amido de milho em meios de cultura como uma excelente alternativa na germinação *in vitro* das espécies estudadas, proporcionando redução nos custos e um percentual de germinação satisfatório.

Palavras- chave: Cactáceas, Cultivo *in vitro* , Amido de milho.

SANTOS, J. E. L. Effect of gelling agents and simplified medium on the in vitro germination of cacti. Areia, PB: UFPB, 2018 38f. (Monograph presented to the Agricultural Sciences Center).

ABSTRACT

Cactaceae are important for ecological, social and economic development, especially in relation to the Caatinga biome. However, as a consequence of intensive extractivism, some species are in danger of extinction. With this, studies are needed that improve, make feasible and accelerate the multiplication of these species. The objective of the present study was to evaluate the effect of the simplified medium and the type of the gelling agent on the in vitro germination of cactus species. Fruits of two species of cacti, *Cereus jamaracu* and *Pilosocereus pachycladus*, collected at the National Institute of the Semiarid were used. The seeds were disinfested and inoculated in vitro at the Federal University of Paraíba, using four treatments: 1 - ½ CK + AG; 2 - ½ CK + AM; 3-CK + AG; 4 - CK + AM. The cultures were kept in the growth room for 30 days at a temperature of 25 ± 2 °C and photoperiod of 16 hours. The percentage of contamination and germination was evaluated, with 100 replicates per treatment in a completely randomized design in a 2x2 factorial scheme (2 culture media and 2 gelling agents). Biometric analysis was performed at 60 days, shoot length and length with 15 replicates per treatment. Data were submitted to analysis of variance and compared by Tukey test at 5% probability. It was observed that the simplified CK + AG media (treatments 1 and 3) were more efficient in the germination of the two species evaluated. In the development of *Pilosocereus pachycladus* seedlings the treatment with the CK + AM culture medium provided higher shoot height, and the treatment with CK + AG resulted in higher averages for the length variable of the larger root. For the species *Cereus jamacaru*, the only significant treatment was CK + AG, which presented averages of 0.51 and 0.61 for the characteristics of shoot height and length of the largest root, however, no comparison can be made with the other treatments due to the occurrence of contaminations. Considering the results obtained, the use of corn starch in culture media is an excellent alternative in the in vitro germination of the studied species, providing a reduction in costs and a satisfactory percentage of germination.

Key words: cactus, *in vitro* culture, corn starch.

LISTA DE FIGURAS

Figura1- Sementes de mandacaru e facheiro.....	21
Figura 2 - Etapas da preparação do meio, assepsia, e inoculação de <i>Cereus jamaracu</i> e <i>Pilosocereus pachycladus</i>	22
Figura 3 - Percentual de germinação em diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo <i>in vitro</i> . (A) <i>C. jamaracu</i> ; (B) <i>P. pachycladus</i>	23
Figura 4 - Cultivo de <i>C. jamaracu</i> e <i>P. pachycladus</i> apresentando contaminação fúngica.....	24
Figura 5 - Percentual de germinação em diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo <i>in vitro</i> . (A) <i>C. jamaracu</i> ; (B) <i>P. pachycladus</i>	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição básica dos principais meios de cultura.....	18
Tabela 2 - Efeito do agente geleificante no desenvolvimento de plântulas de <i>Pilosocereus pachycladus</i> germinadas <i>in vitro</i> , após 60 dias de cultivo.....	26
Tabela 3 - Efeito do meio de cultura no desenvolvimento de plântulas de <i>Pilosocereus pachycladus</i> germinadas <i>in vitro</i> , após 60 dias de cultivo.....	27
Tabela 4 - Efeito do meio de cultura e agente geleificante no desenvolvimento de plântulas de <i>Cereus jamacaru</i> germinadas <i>in vitro</i> , após 60 dias de cultivo.....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. <i>Objetivo Geral</i>	13
2.2. <i>Objetivos específicos</i>	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. <i>Cactáceas</i>	14
3.2. <i>Importância das cactáceas</i>	15
3.3. <i>Cultivo in vitro</i>	16
3.4. <i>Meio simplificado</i>	17
3.5. <i>Agentes geleificantes</i>	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	28

1. INTRODUÇÃO

A família Cactaceae é constituída por aproximadamente 124 gêneros e 1.427 espécies (HUNT, 2006), apresenta distribuição Neotropical, sendo encontrada em uma ampla variedade de habitats. No Brasil estão descritas cerca de 35 gêneros e 237 espécies (ORTEGA-BAES & GODÍNEZ-ALVAREZ, 2006), das quais 181 são endêmicas (CAVALCANTE, 2013).

No país, as cactáceas apresentam importância para a sustentabilidade do bioma Caatinga, constituindo-se como fonte alternativa para a alimentação animal, especialmente nas épocas de seca prolongada, além de possuírem características de interesse ornamental e medicinal (NOBEL, 2002; CAVALCANTI & RESENDE, 2007; XAVIER, 2010). Contudo, em consequência do extrativismo intensivo, do pisoteio animal e da não prioridade nas políticas governamentais de desenvolvimento para pesquisas e extensão, algumas espécies estão em risco de extinção.

Dentro desse contexto, surge a necessidade de estudos que visem à propagação dessas espécies, especialmente as que ocorrem no Semiárido Brasileiro (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000). Sendo imprescindível projetos que melhorem, viabilizem e acelerem a multiplicação das mesmas, proporcionando a manutenção da variabilidade genética destas e aumentando a disponibilidade de mudas tanto para os agricultores, quanto para ações conservacionistas.

As Cactáceas desenvolveram aptidões para continuar em ambientes áridos, que possuem como principal fator limitante a água. Algumas destas plantas pertencem ao gênero *Cereus*, representado principalmente por *Cereus jamacaru*, conhecido popularmente como mandacaru, sendo ele um cacto colunar que pode ou não apresentar espinhos (CORREIA et al., 2010; 2012).

O mandacaru (*C. jamacaru*) possui ampla importância para a sustentabilidade e conservação da biodiversidade. Seus caules servem de habitat reprodutivo para algumas espécies e como fonte alternativa para alimentação animal, seus frutos servem de alimento e suas flores são fonte de pólen e néctar (LEAL SALES et al., 2014). Destaca-se ainda pelo seu potencial ornamental, forrageiro, medicinal e industrial (LUCENA et al., 2012). Entretanto, o desmatamento, o desenvolvimento agrícola e o pisoteio animal vem causando a fragmentação do habitat natural dessa espécie, além disso, existe a coleta

extrativista e ilegal de grandes quantidades de sementes e plantas para o abastecimento do mercado ornamental (ZAPPI et al., 2011).

O facheiro (*Pilosocereus pachycladus*) é uma espécie de grande ocorrência no Semiárido Nordestino (BRAGA, 1976). É uma planta perene, arbustiva, robusta, de tronco ereto com galhos laterais, porém pouco ramificada, de coloração verde escura, que apresentam espinhos agudos e flores grandes, alvas e isoladas (BRAGA, 1976). Seus frutos são consumidos por pássaros e suas sementes são dispersas pela avifauna. Embora distribuídas em pequenas áreas, fator que dificulta sua preservação, a espécie constitui um importante elemento da paisagem, apresentando caules suculentos, áfilos, cobertos por espinhos de diversas formas, tamanhos e dimensões (SOUZA & LORENZI, 2005).

Atualmente a propagação das espécies de cactáceas pode ser realizada por sementes ou vegetativamente via estacas ou brotos. A propagação por sementes mantém a diversidade genética das populações, e aliada às técnicas do cultivo *in vitro* apresenta grandes vantagens como rápido desenvolvimento, elevado número de plantas em uma área reduzida e independentemente da época do ano.

O cultivo *in vitro* é considerado uma alternativa importante na propagação de cactáceas cujo método segue um protocolo para a produção em tempo reduzido e grande escala, principalmente com o intuito de resgatar espécies ameaçadas de extinção (PEDROSO DE MORAES et al., 2009). Cordeiro et al. (2011) ressaltam que o cultivo *in vitro* é considerado uma boa alternativa para conservação dessas espécies.

Uma das desvantagens da propagação *in vitro* é o elevado custo dos reagentes puro para análise (PA) utilizados na preparação do meio de cultura, porém estes reagentes podem ser adquiridos comercialmente por um preço mais acessível e apresentando a mesma concentração, mudando apenas a pureza do produto (PRAKASH et al., 2004).

A substituição dos sais PA por adubos comerciais tem sido testado em diversas culturas. Estudos têm sido realizados por Soares et al. (2012); Pinheiro et al. (2012), Pereira (2014), Sasamori et al. (2015) demonstrando que através da simplificação dos meios de cultura, utilizando, principalmente, fertilizantes como base foi possível, diminuir os custos, garantindo resultados satisfatórios para a produção de mudas.

O meio de cultura mais utilizado no cultivo *in vitro* é o meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), porém, o meio de cultura simplificado, composto pelos fertilizantes Calcinit e Kristalon, em substituição aos macro e micronutrientes, é uma das alternativas

que vem dando certo no cultivo *in vitro* de cactáceas. (GUIMARÃES et al., 2016; MARTÍNEZ et al., 2016).

Alguns meios de cultura precisam ser consistente, para tanto, é necessário a utilização de um agente geleificante, os mais utilizados são o ágar e o phytigel. O ágar é um produto extraído de algas (Rhodophyta) pertencente aos gêneros *Acanthopeltis*, *Gelidiella*, *Gelidium*, *Gracilaria* e *Pterocladia*. É considerado um elemento que onera os custos de produção, além de restringir o crescimento de algumas espécies de plantas (SCHÄFFER et al., 2004).

Para reverter o elevado custo, é indispensável estudos que possam substituir este agente geleificante ou a retirada do mesmo do meio de cultura. Um dos agentes geleificantes mais utilizados para substituição do ágar é o amido de milho. Este vem sendo utilizado proporcionando resultados satisfatórios na germinação, pois além de reduzir os custos, apresenta consistência e turbidez, favorecendo o enraizamento *in vitro* (SOUZA et al 2012).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito do meio simplificado e do agente geleificante alternativo, amido de milho, na germinação *in vitro* de duas espécies de cactáceas *Cereus jamaracu* e *Pilosocereus pachycladus*

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a germinação *in vitro* das espécies *Cereus jamaracu* e *Pilosocereus pachycladus*, em meios alternativos;
- Quantificar os diferentes parâmetros de crescimento e desenvolvimento *in vitro* de cada espécie;
- Definir o tempo de germinação de cada espécie;
- Avaliar a eficiência do agente geleificante alternativo em comparação com o padrão;
- Avaliar a viabilidade econômica da germinação *in vitro* para a produção de mudas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cactáceas

A família Cactaceae, constitui-se como uma das principais representantes da vegetação de Caatinga, com cerca de 1300 espécies é a segunda em ordem de tamanho entre as plantas vasculares endêmicas das Américas (HUNT et al., 2006). No Brasil foram registrados 37 dos 120 gêneros com 227 espécies catalogadas, onde, destas, 176 são endêmicas, sendo considerado como o terceiro centro de diversidade das cactáceas, logo após do México e dos Estados Unidos. No país, as regiões com maior representatividade em termos de biodiversidade, são Bahia, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (ZAPPI et al., 2011).

Acredita-se que atualmente o ambiente de Caatinga é extremamente fracionado e perturbado em razão da exploração do território, provocado pela influência antrópica, para construção de cidades, por meio de atividades agropecuárias para a produção de alimento e criação de gado, por exemplo. A comunidade vegetal das cactáceas é a que mais supera tais adversidades ambientais naturais e impostas, em razão da sua grande adaptabilidade e resistência (ZAPPI et al., 2011).

Dentre as adaptações fisiológicas mais relevantes que as cactáceas possuem, têm-se a presença de espinhos, estômatos reduzidos e em menor quantidade a captação de carbono desempenhada pelo mecanismo do metabolismo ácido das crassuláceas ou das plantas CAM (GARCÍA & GONZÁLEZ, 2010). Uma das funções deste mecanismo onde as plantas fecham seus estômatos durante o dia e os abrem durante a noite, é evitar a perda de água, pelo processo de fotossíntese, reduzindo o seu uso. As cactáceas atendem aos requisitos metabólicos e mantêm o armazenamento de água em seus tecidos, mesmo estando em um ambiente onde a disponibilidade de água no solo é baixa e as exigências ambientais são intolerantes, o que as possibilita a competência de habitarem ambientes quentes e secos (BARRETO & BARBOSA, 2001).

De acordo com, Gibson e Nobel (1986), outras adaptações da família utilizadas como estratégias de sobrevivência em ambientes de clima semiárido, solos rochosos e rasos, em virtude da ausência de água e que possibilitam uma maior capacidade em armazenamento e eficiência no uso desta, é a morfologia da raiz, caracterizada como extensa e superficial e caules fotossintéticos chamados de cladódios, com capacidade de estocar grande quantidade de água em seus tecidos.

As cactáceas além de serem adaptadas para sobreviverem em ambientes quentes e secos, são também excelentes bioindicadores do clima semiárido e, conseqüentemente, do ambiente em que o mesmo prevalece e atua. Os bioindicadores são organismos biológicos ou grupos de organismos, que podem ser utilizados para fazer inferências a respeito da dinâmica do ecossistema e conseqüentemente do habitat no qual se encontram, atendendo também aos requisitos que o ambiente obriga LANDRES et al., (1988).

Por meio do seu conjunto de estratégias de sobrevivência e adaptações fisiológicas, as cactáceas apresentam grande potencial para estudos sobre a Caatinga, se fortalecendo como um dos cruciais e mais diversificados representantes em espécies biológicas vegetais encontrados no domínio natural de tal ambiente.

3.2 Importância das cactáceas

Devido a sua importância econômica, ecológica e social em diversos ecossistemas, em especial para o bioma Caatinga, os cactos são plantas consideradas prioritárias para ações de conservação. O armazenamento adequado em bancos de germoplasma, permitem manter a variabilidade genética, e a realização de estudos sobre a diversidade, morfologia e fisiologia da espécie.

A implementação de bancos de germoplasma sejam eles bancos de sementes ou bancos in vitro, constitui-se como uma das principais dificuldades enfrentadas, tanto para a conservação das sementes, quanto para a propagação em meio de cultivo. Estudos acerca da germinação e o estabelecimento das plântulas das cactáceas, são extremamente importantes para o conhecimento sobre a biologia reprodutiva, propagação e conservação dessas espécies. (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000).

Neste sentido alguns trabalhos foram realizados, Barbosa et al., (2010) com o intuito de avaliar a conservação dessas espécies a longo prazo, utilizou a técnica de criopreservação, que é capaz de interromper todo o metabolismo celular e tem sido apontada como a maneira mais ascendente de conservação das cactáceas para células, tecidos e órgãos vegetais. A partir desses explantes, poderão ser regeneradas plantas em qualquer época, sem risco de variações genéticas no material preservado.

Dentre as espécies a serem preservadas, destaca-se o mandacaru, uma cactácea de grande importância para a sustentabilidade e conservação da biodiversidade desse bioma. Seus frutos servem de alimentos para pássaros e animais silvestres nos períodos de seca,

é largamente utilizada pelos agricultores para alimentação dos animais após a retirada dos espinhos (CAVALCANTI et al., 2007).

Outra espécie passível de preservação é o facheiro uma cactácea xerófila, robusta, pouco ramificada, (BARBOSA, 1998), com caule suculento, carnosos e verde (GUIZZO, 1994). Espécie utilizada na carpintaria, como fonte de caibros e ripas, é rica em água, chegando a apresentar teores de 93,6% de umidade (LIMA et al., 2005). Atualmente tem-se utilizado seus caules na alimentação humana, na produção de doces, bolos, bolachas, cocadas e mouses, entre outros. Na alimentação animal, é utilizada como forragem, sendo uma das alternativas para o produtor alimentar os animais em épocas de longas estiagens.

Como já mencionado a população humana além da utilização das cactáceas na alimentação de bovinos, caprinos e ovinos, utiliza economicamente as espécies para ornamentação.. Apesar de ser uma fonte alternativa de alimento animal, alguns agricultores não realizam um manejo sustentável dessas espécies vegetais, pois além do extrativismo intenso, à queimam para a remoção dos espinhos no local em que se encontram, inviabilizando dessa forma, a recuperação das mesmas nas áreas de vegetação primária e secundária (LUCENA et al., 2012).

Culturalmente as Cactáceas também são importantes, onde frequentemente aparecem em cartazes de restaurantes, bares e outdoor, em várias regiões do Nordeste do Brasil, sendo representantes característicos do folclore regional.

3.3 Cultivo *in vitro*

O cultivo *in vitro* é uma ferramenta biotecnológica em que células, tecidos, órgãos e/ou plantas inteiras são cultivados de forma asséptica em um meio nutritivo, sob condições controladas de densidade de fluxo de fótons, fotoperíodo e temperatura (CARVALHO et al., 2011). A micropropagação pode ser dividida em quatro etapas principais: introdução e estabelecimento da cultura *in vitro*, multiplicação, alongamento, enraizamento e aclimatização. Podendo ocorrer alterações de acordo com a espécie vegetal e seu desempenho *in vitro*.

Dentre as vantagens da técnica do cultivo *in vitro* tem-se o curto intervalo de tempo para produção de mudas, a necessidade de pequeno espaço físico, a obtenção de mudas livre de patógenos. Por constituírem uma alternativa à conservação e à propagação convencional de espécies que possuem crescimento lento e poucas brotações, as técnicas

de cultivo *in vitro* vêm sendo cada vez mais aplicadas às diferentes espécies de cactáceas (RESENDE et al., 2009; CORREIA et al., 2011; BÁRBARA et al., 2015). O sucesso em sua utilização envolve diferentes fatores, tais como a composição do meio de cultura, o ambiente de cultivo e o genótipo estudado, dentre outros.

A técnica do cultivo *in vitro* constitui uma estratégia importante para solucionar problemas não apenas no âmbito da propagação, mas também do melhoramento genético clássico e da biotecnologia de plantas, (ERIG e SCHUCH, 2003). Portanto, esse meio de propagação influencia nas formas de prevenção e controle de contaminação e oxidação, tornando-se relevante determinar protocolos para seu estabelecimento e desenvolvimento *in vitro*. As Cactáceas apesar de se adaptarem a locais secos, com baixos índices de chuvas, elas apresentam dificuldades para germinarem nesses ambientes, pois as sementes precisam de um substrato adequado e com boa umidade. Muitas vezes, essas sementes são dispersas em ambientes muito secos, ou em locais rochosos, onde não há nenhuma forma dessas sementes se propagarem.

A propagação por meio de sementes pode ser desvantajosa por diversos fatores internos e externos (MARTINS et al., 2008), sendo eles temperatura, umidade, luz, viabilidade da semente, forma de armazenamento, fatores genéticos, entre outros. Como uma alternativa para a obtenção de mudas tem-se a técnica denominada cultivo *in vitro* in vitro (PAIVA et al., 2012).

3.4 Meio simplificado

Os meios de cultura utilizados no cultivo *in vitro* oferecem as condições necessárias ao crescimento e desenvolvimento das plantas (BUTCHER e INGRAN, 1976, AMO et al., 2009). E o uso em quantidades adequadas de reguladores de crescimento nas diferentes fases do processo, é de fundamental importância para sua realização (SOUZA et al., 2003). Esses meios apresentam composição complexa, com diversos nutrientes, vitaminas e reguladores de crescimento (VENTURA et al., 2002), que elevam os custos do cultivo *in vitro*.

Vários meios de cultura têm sido testados e identificados pela composição em sais minerais, vitaminas, reguladores e outros suplementos orgânicos que variam

consideravelmente de acordo com composição e concentração (Tabela 1). A escolha do meio de cultura dependerá da espécie estudada e do objetivo da cultura.

Tabela 1. Composição básica dos principais meios de cultura. Fonte: Quisen e Angelo, 2008. Areia – PB, 2018

Componente	B5*	H	LS	MS	White*	WPM	SH
	mg L ⁻¹						
Macronutrientes		166	-	-	-	-	-
CaCl ₂	-	-	440	440	-	96	200
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	150	-	-	-	300	556	-
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	-	-	-	-	65	-	-
KCl	-	68	170	170	-	170	-
KH ₂ PO ₄	-	950	1900	1900	80	-	2.500,00
KNO ₃	2.500,00	-	-	-	-	990	-
K ₂ SO ₄	-	185	370	370	720	370	400
MgSO ₄ .7H ₂ O	250	-	-	-	19	-	-
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	150	-	-	-	200	-	-
Na ₂ SO ₄	-	720	1650	1650	-	400	-
NH ₄ NO ₃	-	-	-	-	-	-	300
NH ₄ H ₂ PO ₄	-	-	-	-	-	-	-
(Nh ₄) ₂ SO ₄	134	-	-	-	-	-	-
Micronutrientes							
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,025	-	0,025	0,025	-	-	0,1
CuSO ₄	-	-	-	-	-	-	0,2
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025	0,001	0,25	-
Fe(SO ₄) ₃	-	-	-	-	2,5	-	5
H ₃ BO ₃	3	10	6,2	6,2	1,5	6,2	1
KI	0,75	-	0,83	0,83	0,75	-	13,2
MnSO ₄ . 4 H ₂ O	13,2	-	-	22,3	5	22,3	-
H ₂ MoO ₄ .H ₂ O	-	-	-	-	1,25	-	0,1
Na ₂ MoO ₄ .2 H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25	1
ZnSO ₄ .7 H ₂ O	2	10	8,6	8,6	3	8,6	15
Fe(SO ₄) . 7 H ₂ O	27,8**	27,8	27,8	27,8	-	27,8	20
Na ₂ EDTA . 2 H ₂ O	37,2**	37,2	37,2	37,2	-	37,2	-
Orgânicos							
Ácido fólico	-	0,5	-	-	-	-	-
Ácido indol acético	-	0,1	-	-	-	-	-
Ácido nicotínico	1	5	-	0,5	-	-	5
Biotina	-	0,05	-	-	-	-	-
Glicina	-	2	-	# 2,0	-	-	-
Mio-inositol	100***	100	100	100	-	-	1000
Piridoxina.hcl	1,0***	0,5	-	0,5	-	-	0,5
Tiamina.hcl	10,0***	0,5	0,4	0,1	-	1 ^b	5

Os meios de cultura mais utilizados são: White (1951) que foi utilizado durante anos como meio básico para uma grande variedade de espécies; MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) é universalmente usado, especialmente para morfogênese, cultura de meristemas e regeneração de plantas, e caracteriza-se pela elevada concentração de sais minerais; B5 foi desenvolvido por Gamborg et al. (1968) e contém quantidades mais baixas de sais minerais, o que parece ser preferido pelas células de determinadas espécies; SH (SCHENK & HILDEBRANT, 1972) tem concentrações iônicas finais semelhantes às de Gamborg et al. (1968), porém com níveis mais altos de Ca^{+2} , Mg^{+2} e H_2PO_4 e é mais comumente utilizado na cultura de leguminosas; Anderson (1978, 1980) tem sido recomendado para lenhosas e apresenta 1/4 das concentrações de íon de nitrato, amônia e potássio do meio MS e o dobro de níveis de PO^{-3} ; WPM - Wood Plant Medium (LLOYD e MC COWN, 1981) é amplamente utilizado para propagação de arbustos e árvores, em laboratórios comerciais. Apresenta as mesmas concentrações de NO_3 + e NH_4^+ que o meio Anderson, além de mais potássio e alto nível de íons sulfato.

O meio de cultura JADS é o mais utilizado em cactáceas, este contém altas concentrações de macronutrientes e micronutrientes e quando comparado a outros meios de cultura principalmente de íons cálcio e magnésio, importantes na nutrição de cactáceas (RUBLUO et al., 1996). Adicionalmente, o meio de cultura JADS apresenta menor concentração iônica total, menor concentração total de nitrogênio e menor relação NH_4 - / NO_3 fatores importantes no controle da oxidação *in vitro* (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1990)

Atualmente, o meio de cultivo mais utilizado para micropropagação é o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). Entretanto, este meio tem custos elevados por utilizar em sua formulação, reagentes puros para análise (PA). Estudos *in vitro* realizados por Stancato, Bemelmans & Vegro (2001) e Pedroso de Moraes et al. (2009), demonstram que a redução de custos é possível através da simplificação dos meios de cultura atuais, principalmente com o emprego de fertilizantes como base de meios de cultura. Esse tipo de procedimento tem como objetivo, a produção em larga escala.

O uso de meio simplificado no cultivo *in vitro* está se tornando cada vez mais utilizado em diferentes culturas, vários trabalhos estão sendo realizados com o intuito de minimizar os custos e obter resultados satisfatórios na germinação. Alguns trabalhos utilizando meios alternativos obtiveram bons resultados, utilizando meios alternativos como a fécula de aratuta, amido de mandioca, frutas, e alguns outros fertilizantes como o Hyponex®

(NPK 6,5-6-19) e Kristalon laranja® (NPK 6-12-36). Costa et al. (2007), estudando a brotação e estabelecimento de gemas de abacaxizeiro *in vitro*, relataram que a porcentagem de desenvolvimento das gemas da cultivar Rio Branco foi significativamente superior quando estas foram cultivadas em meios suplementados com amido, combinado ou não com ágar.

3.5 Agentes geleificantes

O ágar e o phytagel são os agentes geleificantes mais utilizados na cultura de tecidos pois permitem boa consistência, auxiliando a sustentação das plântulas, por apresentar estabilidade e ser de natureza atóxica (MCLACHLAN, 1988).

Devido aos altos custos dos agentes geleificantes, sendo o ágar um dos produtos mais onerosos para a cultura de tecidos (CALDAS et al., 1998; JUNGHANS et al., 2009), almeja-se resultados que proporcionem a redução de custos na técnica, com a substituição deste por materiais alternativos (FARIA et al., 2006). Na busca de polissacarídeos alternativos e de menor custo, alguns estudos apresentaram bons resultados com o uso de amido de milho ou de mandioca para algumas culturas, incluindo as cactáceas, principalmente na fase de enraizamento (FERRI & NACHTIGALL, 1996; FORTES et al., 1994).

O amido de milho é um elemento presente na fabricação de alimentos, sendo a principal matéria-prima para elaboração de biscoitos, cereais matinais, massas pré-cozidas entre outros. Além disso, é um nutriente rico em vitaminas e minerais, quando aquecido a altas temperaturas se apresenta de forma sólida, o que ressalta a sua importância nos meios de cultura (DIAMANTINO, 2013). Entre as vantagens deste polissacarídeo, pode-se citar a facilidade de obtenção e o seu baixo custo quando comparado ao ágar, fatos que poderiam torná-lo um importante aliado na busca da maior eficiência econômica do processo de propagação de plantas em laboratório (ERIG et al., 2004; FERRI et al., 1998; FORTES et al., 1994; PEREIRA & FORTES, 2003).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Melhoramento de Plantas (Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais) e no Laboratório de Biologia Celular e Culturas de Tecidos Vegetais (Departamento de Ciências Biológicas), do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba – CCA/UFPB, Areia – PB.

Foram utilizados frutos de duas espécies de cactáceas, Mandacaru e Facheiro. Os frutos foram obtidos de plantas adultas, provenientes da Estação Experimental do Instituto Nacional do Semiárido (INSA). A extração das sementes dos frutos foi realizada mediante a abertura dos frutos e a retirada da polpa friccionando-a em uma peneira metálica sob água corrente até a eliminação da polpa. As sementes foram secas à sombra em temperatura ambiente. (Figura 1).

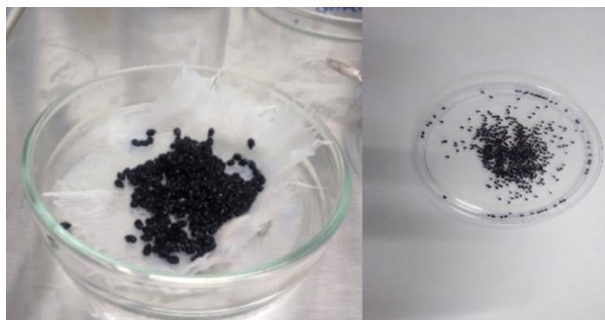


Figura 1. Sementes de mandacaru (A) e facheiro (B). Areia-PB, 2018.

As sementes foram submetidas ao processo de assepsia em câmara de fluxo laminar com álcool 70%, por um minuto, seguido da imersão em hipoclorito de sódio a 2,5%, durante 15 minutos e, por fim três lavagens em água destilada estéril (Figura 2).

Com o auxílio de pinça e bisturi as sementes foram inoculadas em meios de cultura simplificado, $\frac{1}{2}$ CK: Calcinit®: 0,21g/L e Kristalon® - 0,185g/L e CK: Calcinit® - 0,42g/L e Kristalon® - 0,37g/L (Figura 2). Calcinit é um fertilizante nitrogenado que fornece cálcio 100% solúvel em água, estando na forma prontamente assimilável pelas plantas junto ao nitrogênio nítrico, o que favorece a absorção de cátions, o desenvolvimento do sistema radicular e a sanidade das plantas, e Kristalon, que apresenta em sua composição 6% Nitrogênio Total (N) - sendo 4,5% N-Nítrico e 1,5% N-Amoniacal, 12% Fósforo (P_2O_5) 36% Potássio (K_2O), 1,8% Magnésio (Mg), 8% Enxofre (S), 0,07% Ferro (Fe), 0,025% Boro (B), 0,01% Cobre (Cu), 0,04% Manganês (Mn), 0,004% Molibdênio (Mo), 0,025% Zinco (Zn) em substituição aos macro e micronutrientes utilizados comumente.

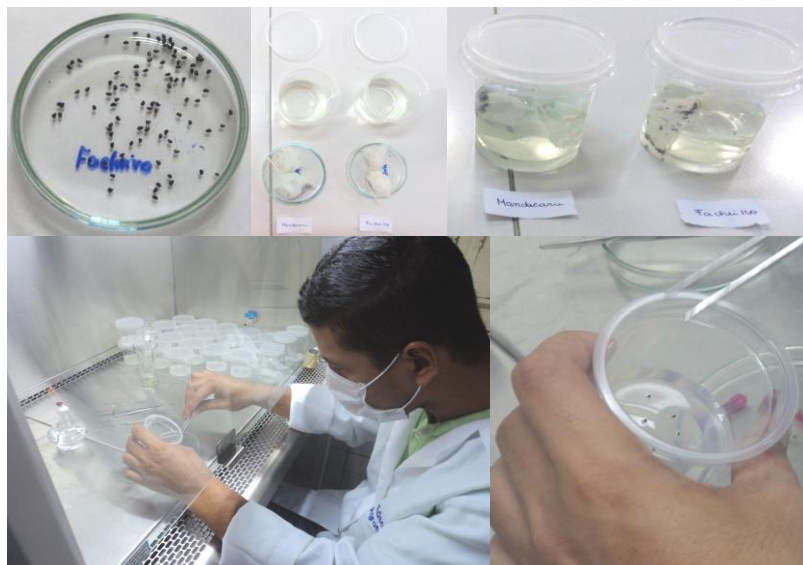


Figura 2. Etapas da assepsia e inoculação de Mandacaru e Facheiro. Areia - PB, 2018

O meio foi suplementado com 3% de sacarose, o pH ajustado para 5,7, e geleificado com $6,5 \text{ g L}^{-1}$ de ágar (AG) e 60 g L^{-1} amido de milho (AM) e esterilizado quimicamente com hipoclorito de cálcio $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ à 0,01%. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16h de luz.

As variáveis analisadas foram: porcentagem de germinação e contaminação, altura da parte aérea e comprimento da maior raiz.

Na germinação das sementes foram utilizados quatro meios de cultivo com cinco repetições por tratamento, com um total de 100 sementes por tratamento. Aos 30 dias foi realizado a avaliação da % de contaminação e germinação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial 2×2 (2 meios de cultivo e 2 agentes geleificantes). Os tratamentos foram:

- 1 – $\frac{1}{2}$ CK (Calcinit e Kristalon) + AG (Ágar)
- 2 – $\frac{1}{2}$ CK+AM (Amido de milho);
- 3 - CK+AG;
- 4 – CK+AM.

Para a análise biométrica realizada aos 60 dias após o subcultivo, foi avaliado a altura da parte aérea e o comprimento da maior raiz, pra tanto utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 15 repetições por tratamento.

Os dados foram submetidos a análise de variância e comparados pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de assepsia utilizado nas sementes de mandacaru e facheiro mostrou-se pouco eficiente, pois o percentual de contaminação foi acima de 71% (Figura 3). Para o mandacaru, os percentuais de contaminação foram de 71% no tratamento CK+AG, 100% no tratamento $\frac{1}{2}$ CK+AG e 96% nos tratamentos CK+AM e $\frac{1}{2}$ CK+AM. Para o facheiro, os percentuais de contaminação foram de 71% no tratamento CK+AG e CK+AM, 96% no tratamento $\frac{1}{2}$ CK+AG e 84% no tratamento CK+AM. As contaminações foram todas de ocorrência fúngica (Figura 4).

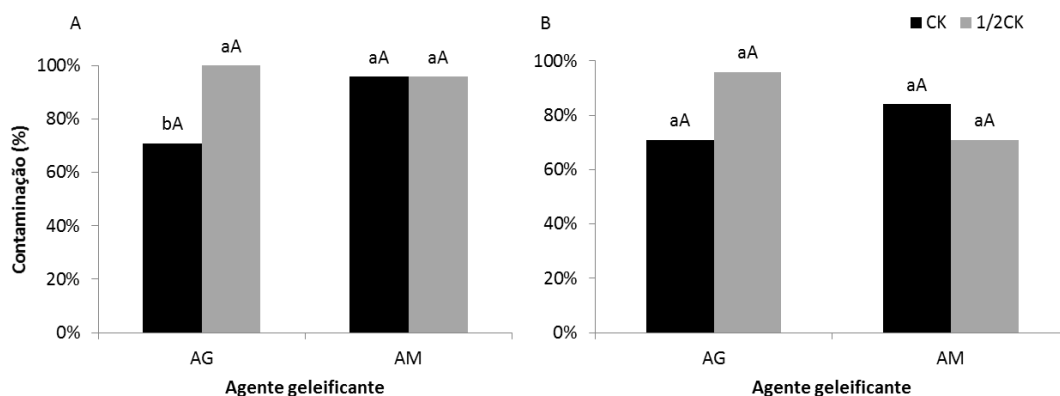


Figura 3. Percentual de contaminação em diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo *in vitro*. (A) Mandacaru; (B) Facheiro. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas para meio de cultura e maiúsculas para agente geleificante diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%). Areia – PB, 2018

Martínez et al. (2016) obtiveram resultados satisfatórios utilizando hipoclorito de sódio na concentração de 2,5%, a mesma concentração utilizada no presente estudo. Isto mostra que a forma de armazenamento, a forma de manipulação das sementes e a origem das sementes podem interferir na inoculação fazendo com que haja eliminação de sementes por conta de contaminação.

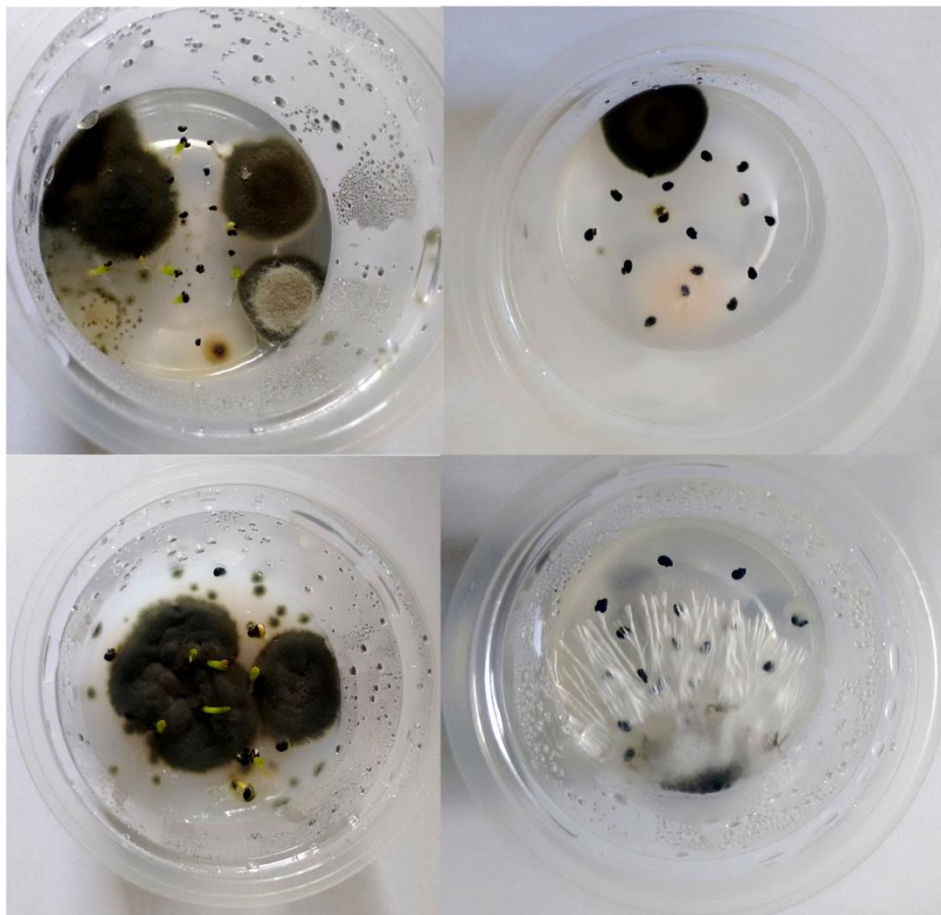


Figura 4. Cultivo de Mandacaru e Facheiro apresentando contaminação fúngica. Areia – PB, 2018.

A germinação do mandacaru iniciou nos primeiros sete dias após a inoculação para todos os tratamentos, o fim da mesma se deu por volta de 30 dias após inoculação. Correia et al. (2011) também observou o mesmo tempo para o início e fim da germinação do mandacaru.

O tratamento que apresentou maior percentual de germinação foi o CK+AG com 100% de germinação, em seguida o tratamento $\frac{1}{2}$ CK+AM e $\frac{1}{2}$ CK+AG, onde ambos apresentaram percentual de germinação 70%, já o tratamento CK+AM apresentou 83% de germinação (Figura 5). Houve interação significativa entre o meio de cultura utilizado e agente geleificante testado, sendo o melhor tratamento CK+AG em ambas espécies.

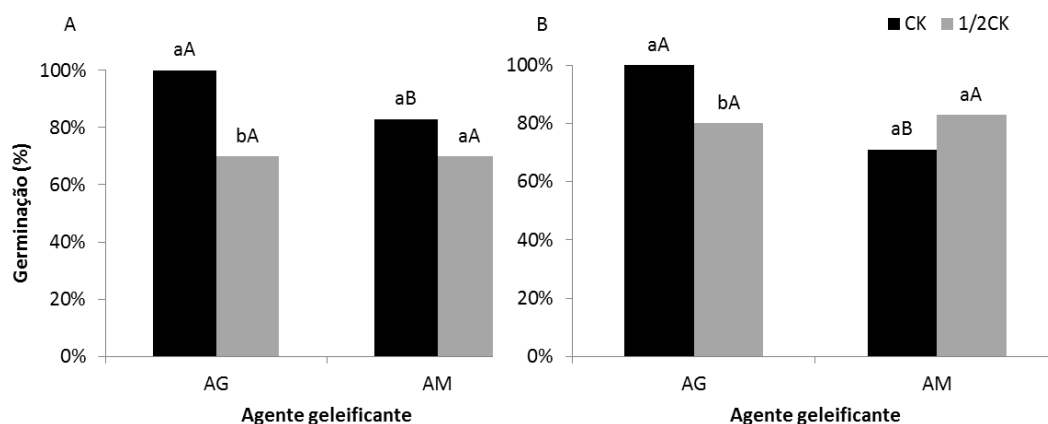


Figura 5. Percentual de germinação em diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo *in vitro*. (A) Mandacaru (B) Facheiro. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas para meio de cultura e maiúsculas para agente geleificante diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%), Areia-PB, 2018.

O resultado supracitado pode ser explicado devido a maior consistência do meio utilizando o ágar. Souza et al. (2003) após avaliar a germinação *in vitro* de embriões de arnica, observaram a necessidade da utilização de meios de cultura menos concentrados para promover o estabelecimento dos embriões dessa espécie. No presente estudo para o meio 1/2CK o uso de ágar ou amido de milho como agente geleificante não interferiu na germinação do mandacaru, portanto para este tipo de meio o amido de milho pode ser uma alternativa de redução dos custos para a produção de mudas. O uso do amido de milho separado ou em combinação com o ágar mostrou-se eficaz para a multiplicação *in vitro* de macieira BORKH cv. Galaxy (ERIG et al., 2004).

Correia et al. (2011) obtiveram 92,6% de germinação em sementes de mandacaru em meio JADS geleificados com ágar, enquanto Rêgo et al. (2009) obteve 60% de germinação utilizando o meio MS. Portanto o uso do meio simplificado CK foi eficiente para a germinação do mandacaru, quando comparado aos percentuais de estudos similares que utilizaram meios convencionais.

Na germinação do facheiro, os percentuais de germinação apresentaram-se semelhantes. O meio CK+AG obteve 100% de germinação, já o tratamento CK+AM obteve 71%, evidenciando que o meio simplificado CK com os dois tipos de geleificantes mostraram-se eficientes na germinação das sementes das duas espécies em estudo. Para o meio 1/2CK+AG e 1/2CK+AM, apresentaram 80% e 83% respectivamente (Figura 5) não diferindo estatisticamente.

As variações no percentual de germinação observadas neste trabalho, devem ser decorrentes das especificidades presentes em cada uma das espécies estudadas e da forma e período de armazenamento das mesmas. Além disso, o alto índice de contaminação pode ter influenciado negativamente a germinação das sementes no meio $\frac{1}{2}$ CK e nos meios com amido de milho.

Estudo com *Melocactus glaucescens* obtiveram maior percentual de germinação *in vitro* utilizando o meio com $\frac{1}{4}$ dos sais do meio MS e redução de sacarose, demonstrando menor exigência para esta espécie, em termos nutricionais (RESENDE et al., 2009). Divergindo dos resultados apresentados neste, para este tipo simplificado de meio de cultura CK, nas duas espécies estudadas o meio com maior concentração de sais apresentou maior número de sementes germinadas.

Para o facheiro, o tratamento $\frac{1}{2}$ CK+AG não teve plântula para avaliação devido ao alto nível de contaminação. O mesmo ocorreu com o mandacaru para os tratamentos $\frac{1}{2}$ CK+AM, $\frac{1}{2}$ CK+AG e CK+AM. As soluções de sais e os açúcares (fontes de carbono) que compõem os meios de cultura não cumprem efeito puramente nutritivo, podendo também influenciar na morfogênese, no crescimento e desenvolvimento celular, através de suas propriedades osmóticas (GEORGE et al., 2008).

As plântulas de facheiro cultivadas nos meios CK+AG e CK+AM para a variável altura da parte aérea não apresentaram diferença estatística (Tabela 2). Para a característica comprimento da maior raiz, o tratamento CK com o ágar foi o que resultou em maiores médias diferindo estatisticamente do meio com amido de milho.

Tabela 2. Efeito do agente geleificante no desenvolvimento de plântulas de Facheiro germinadas *in vitro*, após 60 dias de cultivo. Areia-PB, 2018.

Meio de cultura	APA (cm)		CMR (cm)	
	Agente geleificante			
	AG	AM	AG	AM
CK	0,30 a	0,32 a	0,65 a	0,29 b

APA= altura da parte aérea; CMR= comprimento da maior raiz. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os meios com amido de milho apresentaram diferença, o meio CK obteve maiores médias para as características altura da parte aérea e comprimento da maior raiz. (Tabela 3). O bom desenvolvimento de raiz é interessante na cultura de tecidos devido à fase de enraizamento que pode ser pulada e reduz tempo e custo na produção das mudas, além favorecer a sobrevivência das plântulas na etapa de aclimatização. (LEITZKE et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013).

Tabela 3. Efeito do meio de cultura no desenvolvimento de plântulas de Facheiro germinadas in vitro, após 60 dias de cultivo. Areia-PB, 2018.

Meio de cultura	AM	
	APA (cm)	CMR (cm)
CK	0,32 a	0,29 a
½ CK	0,21 b	0,21 b

APA= altura da parte aérea; CMR= comprimento da maior raiz. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Para as variáveis altura da parte aérea e comprimento da maior raiz, na espécie Mandacaru, não pôde-se realizar nenhuma comparação entre tratamentos devido a ocorrência de contaminações. O único tratamento satisfatório foi o CK+AG, na qual apresentou média de 0,51 cm para altura da parte aérea e 0,61 cm para comprimento da maior raiz (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito do meio de cultura e agente geleificante no desenvolvimento de plântulas de *Cereus jamacaru* germinadas in vitro, após 60 dias de cultivo. APA= altura da parte aérea; CMR= comprimento da maior raiz. Areia-PB, 2018.

Meio de cultura	APA (cm)		CMR (cm)	
	Agente geleificante			
	AG	AM	AG	AM
CK	0,51	*	0,61	*
½ CK	*	*	*	*

* Tratamentos que não apresentaram resultado devido alta contaminação.

6. CONCLUSÃO

A assepsia com hipoclorito de sódio na concentração utilizada apresentou-se mais eficiente para espécie mandacaru em meio de cultivo CK+AG.

Os meios simplificados CK+AG foram os mais eficientes na germinação do mandacaru e facheiro.

Nestes o amido de milho pode ser utilizado como uma ótima alternativa na germinação *in vitro* das espécies estudadas por reduzir os custos do meio de cultura e apresentar um percentual de germinação satisfatório.

Nas características biométricas analisadas o meio CK+AG proporcionou maior desenvolvimento para as espécies estudadas.

7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

AGRA, M.F.; SILVA, K.N.; BASÍLIO, I.J.L.D.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18 (3): p. 472-508, 2002.

ALBUQUERQUE, S. G. Caatinga vegetation dynamics under various grazing intensities bystrereers in the Semi -Arid Northeast, Brazil. **Journal of Range Management**, Denver, v. 48,n.3, p.502-510, 1999.

ALTAFIN, R. L. M.; MENEZES, M. O.; LIMA, R. R. F.; PITOMBO, L. M. **Semeadura in vitro de orquídeas para propagação massal**. Boletim Técnico, Espírito Santo do Pinhal, 2003. 7p

AMADOR-ALFÉREZ, K.A. et al. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). **Polibotánica**, n.35, p.109-131, 2013.

AMO, S.O. et al. In vitro propagation of *Huernia hystrix* : an endangered medicinal and ornamental succulent. **Plant Cell, tissue and organ Culture**, v.96, p.273-278, 2009.

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland: Timber, 1978-2001.

BÁRBARA et al. Germinação e criopreservação de sementes de cactos nativos da Bahia. **Gaia Scientia**, v.9, n.2, p.91-96, 2015.

BARBOSA, H. P. Tabela de composição de alimentos do estado da Paraíba: **setor agropecuário**. 2. ed. João Pessoa: UFPB, 128 p. 1998.

BARBOSA, L. V.; GONZALES-BENITO, M. E.; ASSIS, J. G. A. & PÉREZ-GARCÍA, F. Germination and cryopreservation of several cactus species from NE Brazil. **Seed Science and Technology**, 38:218-224, 2010.

BARRETO, A. F.; BARBOSA, J. K. A. Mecanismos de Resistência à Seca que Possibilitam a Produção em Condições do Semiárido Nordestino. In: Simpósio Brasileiro de Captação de Água de Chuva no Semiárido. Universidade Federal da Paraíba, 3, 2001, Areia: UFPB, 2001.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3. ed. Mossoró: **Escola Superior de Agricultura de Mossoró**, 1976. 510 p.

BUTCHER, W. P. & INGRAN, D. S. 1976. **Organs and embryos**. In: Plant Tissue Culture. [s. l.]: CIDADE: Edward Publishing Limited. p. 3-15.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. L.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: ASCTP/Embrapa-CNPQ, p. 89-164. 1998.

CALHEIROS, C. **Cactos à venda deixam a Caatinga mais pobre**. (2011). Disponível em: [HTTP://www.oeco.org.br/reportagens/25200-cactos-a-venda-deixam-a-caatinga-mais-pobre](http://www.oeco.org.br/reportagens/25200-cactos-a-venda-deixam-a-caatinga-mais-pobre). Acesso em: 30 jun. 2018.

CARVALHO, A.C.P.P. et al. Glossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.7, p.30-60, 2011.

CHEVREAU, E, et al. Effect of gelling agents and antibiotics on adventitious bud regeneration from in vitro leaves of pear. **In Vitro Cell and Developmental Biology of Plants**, v.33, n.3, p.173-179, 1997.

CAVALCANTE, A. **Cactos do semiárido do Brasil: guia ilustrativo**. Campina Grande: INSA, 2013, 102p.

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), facheiro (*Pilosocereus*

pachycladus Ritter), xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Webw. ex K. Schum.) Bly. ex Rowl.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* Britton & Rose). **Revista Caatinga**, Mossoró, v.20, n.1, p.28-35, 2007.

CORREIA D.; et al. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* na multiplicação in vitro. **IPEF**, v. 48/49, p. 107-116, 1995.

CORREIA, D. et al. Germinação de sementes de cactáceas in vitro. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2011.

CORREIA, D. et al. **Produção de mudas de Mandacaru** (Circular técnica 39). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 6p.

COSTA, F. H. S.; PEREIRA, M. A. A.; OLIVEIRA, J. P.; PEREIRA, J. E. S. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo in vitro de abacaxizeiro e bananeira. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, p.41-46, 2007.

DAMACENO, I. V. **Estabelecimento in vitro de *Lactuca Sativa* (cv. Elba) utilizando meios de cultivo alternativos**. Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós- Graduação em Agricultura Tropical, São Mateus, ES, 2016.

DIAMANTINO, V. R. **Efeito da adição de amido de milho ceroso em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura**. 2013. 91 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2013

DIAS, M.M. et al. Reguladores de crescimento na emergência e desenvolvimento in vitro de *Melocactus bahiensis*. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, v.7, n.1, p.7-11, 2013.

DUQUE, J.G. O Nordeste e as lavouras xerófilas, 4ª ed., Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 103 p.2004.

ENCINA, C. L.; PADILLA, I. G. **A propósito de semillas**. (1996). Disponível em: <http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS33/semilla33.htm> l em 06/09/09. Acessado em: 30 jun. 2018.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Estabelecimento in vitro de plantas de marmeleiro (*Cydonia oblonga* mill.) cultivares MC, Adams e Portugal. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 8, n. 2, p. 107-115, 2003.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Enraizamento in vitro de marmeleiro cv. MC como porta-enxerto para a pereira e aclimatização das microestacas enraizadas. *Ciencia Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1443-1449, set./out. 2004.

FARIA RT, DALIO RJD, UNEMOTO LK & SILVA G. Propagação in vitro de *Oncidium baueri* Lindl. (Orchidaceae) sem uso de agar. **Acta Scientiarum Agronomy**, 28:71-74. 2006.

FERREIRA, L. T. et al. Germinação in vitro de gongora (Orchidaceae) em meios nutritivos simplificados. **Plant Cell Cult. Micropropag.**, v.12, n.1, p.20-26, 2016.

FERRI, V. C.; NACHTIGAL, G. R. Influência da sacarose e do ágar na cultura in vitro do clone de pereira Decaisne-6. In: Congresso Latinoamericano de Horticultura, 8., 1996, Montevideo. **Anais...** Montevideo: Associação Latinoamericana de Horticultura, 1996. p.8

FREIRE, H. P. L. Efeito do agrupamento espacial na taxa de crescimento e sobrevivência de *Melocactus conoideus* buining & brederoo (Cactaceae): uma espécie endêmica e ameaçada de extinção do Nordeste do Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Bahia 2008.

FORTES, G. R. de L.; CONCEIÇÃO, A. M.; ZANOL, G. Uso do amido comercial como meio solidificante para enraizamento "in vitro" de morangueiro (*Fragaria x ananassa*). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 13., 1994, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Brasileira de Fruticultura, 1994. p. 1113-1114.

GAMBORG, O.; MILLER, R.; OJIMA, K. Nutrient requirement suspensions cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v. 50, n. 1, p. 151-158, 1968.

GARCÍA, R. D.; GONZÁLEZ, M. E. M. **Cactáceas**. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán, Espécies I, 2010.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 1 The technology. 2. ed. Edington: Exegectis, 1993, 574 p.

GIBSON, A. C. NOBEL, P. S. **The cactus primer**. Cambridge: Haward University Press, 1986.

GODÍNEZ-ALVAREZ, H.; VALVERDE, T.; ORTEGA-BAES, P. Demographic trends in the *Cactaceae*. **Bot Rev**, v.69, p.73–203, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação de genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI: EMBRAPA-CNPq. v. 1, p. 183-260. 1998.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Ed.) **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, . p. 99-167.1990.

GUIMARÃES, D. T. et al. Germinação *in vitro* e desenvolvimento inicial de coroa-de-frade (*Melocactus zehntneri*). In: Congresso Nacional de Pesquisa e ensino em Ciências, 2016 Campina Grande. **Anais...** Campina Grande, 2016.

GUIZZO, J. **Série atlas visual das plantas**. 3.ed. São Paulo: Ed. Ática, 1994. 50p.

HUNT, D. **The new cactus lexicon**. Milborne Port: Remous, 2006.

JOLY, A. B. **Botânica – Introdução à taxonomia vegetal**. 10. ed. São Paulo: Editora Nacional, 1991, 777p.

JUNGHANS, T.G.; SOUZA, A.S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA MFT, v.1, p.351-370. 2009.

LANDRES, P. B. et al. Ecological Uses of Vertebrate Indicator Species: A Critique. **Conservation Biology**, v. 2, n.4, p. xx-xx, 1998.

LEAL SALES, M.S. et al. *Cereus jamacaru* de candolle (cactaceae), o mandacaru do Nordeste brasileiro. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v.20, n.2, p.135-142, 2014.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento in vitro de amoreira-preta e framboeseira. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 582-587, 2009.

LIMA, J. L. S. **Plantas forrageiras das caatingas - usos e potencialidades**. Petrolina - PE: Embrapa CPATSA/PNE/RBG-KEW. 44p. il. 1996.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendro* spp. *HortScience*, v. 15, n. 3, p. 416, 1981 (Abst.321).

LUCENA, C. M. D. et al. Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). *Biotemas*, v.25, n.3, p.281- 291, 2012.

MALDA, G.; BACKHAUS, R. A.; MARTÍN, C. Alterations in growth and crassulacean acid metabolism (CAM) activity of *in vitro* cultured cactus. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v.58, n.1, p.1-9, 1999.

MARTÍNEZ, M. H. P. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mandacaru sem espinho. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA E ENSINO EM CIÊNCIAS, 2016, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande, 2016.

MARTINI, P.C.; WILLADINO, L.; ALVES, G.D.; DONATO, V.M.T.S. Propagação de orquídea *Gongora quinquenervis* por sementeira *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.10. p13- 16. (2001).

MARTINS, C. C.; CAMARA, A. T. R.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Métodos de superação de dormência de sementes de Barbatimão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 381-385, 2008.

MCLACHLAN, R.I. et al. Follicle-stimulating hormone is required for quantitatively normal inhibin secretion in men. **J Clin Endocrinol Metab**, v.67, n.6, p.1305-1308, dec. 1988

MEDEIROS, L. A. et al. *In vitro* propagation of *Notocactus magnificus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.84, p.165-169, 2006.

MENEZES, C. A. S. et al. Germinação e desenvolvimento de *Cattleya violaceae* Rolfe *in vitro* em meios de cultura alternativos. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, n. 21, p. 1140-1148, 20.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A review medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-493, 1962.

NOBEL, P. S. **Cacti: biology and uses**. Berkeley: University of California Press, 2002, 290 p.

OLIVEIRA, L.S.; DIAS, P.C.; BRONDANI, G.E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013

ORTEGA-BAES, P.; GODÍNEZ-ALVAREZ, H. Global diversity and conservation priorities in the *Cactaceae*. **Biodiversity and Conservation**, v.15, p.817-827, 2006.

PAIVA, R.; GOMES, G. A. C.; SANTANA, J. R. F.; PAIVA, P. D. O. DOMBROSKI, J. L. D.; SANTOS, B. R. **Espécies frutíferas com potencial econômico: avanços no processo de propagação**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 23, n 216, p. 78-84, 2012.

PEDROSO DE MORAES, C. et al. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, p. 67-69,2009.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. L. Protocolo para a produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1035-1043, 2003

PEREIRA, M.R. **Fontes alternativas de minerais e sacarose na micropropagação da bananeira cv. Williams**. Dissertação. Campo dos Goytacazes – RJ. 2014.

PIERIK, R. L. M. ***In vitro* culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nyhoff. 1987, 344p.

PIERSON, E. A.; TURNER, R. M. An 85-year study of Saguaro (*Carnegiea gigantea*) demography. **Ecology**, v.79, p.2676–2693, 1998.

PINHEIRO, M.V.M.; MAIA, T.C.R.S.C.; LIMA, B.V.; MOTOIKE, S.Y. Propagação *in vitro* de genótipos de alface via embriogênese somática. *Ciência Rural*, v.42, n.11, nov, 2012.

QUISEN, R.C.; ANGELO, P.C.S. **Manual de procedimentos do laboratório e Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008, 44 p. Documentos 61.

RÊGO ER, RÊGO MM, SILVA DF, SANTOS RMC, SAPUCAY MJLC, SILVA DR & SILVA JÚNIOR SJ. Selection for leaf and plant size and longevity of ornamental peppers

(*Capsicum* spp.) grown under greenhouse condition. *Acta Horticulturae*, 829:371-374, 2009.

ROJAS-ARÉCHIGA, M.; VÁZQUEZ-YANES, C. Cactus seed germination: a review. **Journal of Arid Environments**, London, v.44, n.1, p.85-104, 2000.

ROMBERGER, A.; TABOR, C. A. The *Picea abies* shoot apical meristem in culture. **American Journal of Botany**, v.58, p.131-140, 1971.

RUBLUO, A.; REYES J.; GARAY B.; BARRIOS E.; BRUNNER I. Métodos de propagación biotecnológicos y convencionales en cactáceas para zonas áridas. In: IZQUIERDO, J.; PALOMINO, G. (Eds.). Técnicas convencionales y biotecnológicas para la propagación de plantas de zonas áridas. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Chile, p. 4, 1996

SCHÄFFER, P. C. de S.; FIOR, C. S.; LEONHARDT, C.; KAMPF, A. N. 2004, Estudos com goma carragena na geleificação de meios para micropropagação. In: XVI salão de iniciação científica, xiii feira de iniciação científica, 2004, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFGRS, 2004. 912p.

SCHENK, R. O.; HILDEBRANDT, A. C. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous plant cell cultures. **Canadian Journal of Botany**, v. 50, p. 199-204, 1972.

SASAMORI, M. H.; ENDRES-JÚNIOR D.; DROSTE, A. Asymbiotic culture of *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae): the influence of macronutrient salts and sucrose concentrations on survival and development of plantlets. **Acta bot. bras.** 29(3): 292-298. 2015.

SILVA, J. G. M.; SILVA, D. S.; FERREIRA, M. A.; LIMA, G. F. C.; MELO, A. A. S.; DINIZ, M.C. N. M. Xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A.Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl.) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1408-1417, 2005.

SOUZA, A.V., PINTO, J.E.B.P., BERTOLUCCI, S.K.V., CORRÊA, R.M. & CASTRO, E.M. **Germinação de embriões e multiplicação *in vitro* de *Lychnophora pinaster* Mart.** *Ciência e Agrotecnologia*, 27: 1532-1538.2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 639 p

SOUZA, F. V. D. et al. **Micropropagação**. In: SOUZA A. da S.; JUNGHANS, T. G. Introdução à micropropagação de plantas. Cruz das Almas: Embrapa. cap. 2, p. 38-52. 2006.

SOARES, J.S.; ROSA, Y.B.C.J.; MACEDO, M.C; SORGATO, J.C.; ROSA, D.B.C.J.; ROSA, B.C.J. **Cultivo *in vitro* de *Brassavola tuberculata* (Orchidaceae) em meio de cultura alternativo suplementado com diferentes concentrações de açúcar e carvão ativado** Magistra, Cruz das Almas-BA, v. 24, n. 3, p. 226-233, jul./set. 2012.

SOUZA, R. A. V.; BRAGA, F. T.; AZEVEDO, P. H. de; FERREIRA, J. L.; CANÇADO, G. M. de. A. Efeito da luz na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de genótipos de oliveira. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 3, p. 299-304, 2012.

STANCATO, C. G.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas, v. 17, n. 1, p. 25-33, 2001.

VENTURA, G. M.; DIAS, J. M. M.; TEIXEIRA, L. S.; CARVALHOS, S.V.; MOTOIKE, Y.S.; NOVAIS, F.R; CECON, R. P. Organogênese *in vitro* a partir de gemas apicais e axilares de plantas adultas de orquídeas do grupo *Cattleya*. **Revista Ceres** v.47,p.613-628, 2002.

VERAMENDI, J. et al. Gelrite as an alternative to agar for micropropagation and microtuberization of *Solanum tuberosum* L. cv. Baraka. **In Vitro Cell and Developmental Biology of Plants**, Pamplona, v.33, n.3, p.195-199, 1997

VILLA, F.; PASQUAL, M.; SILVA, E. F. Micropropagação de híbridos de orquídea em meio knudson com adição de vitaminas do meio MS, benzilaminopurina e carvão ativado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 683-694, 2014.

WHITE, P. R. Nutritional requirements of isolated plant tissues and organs. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 2, p. 231-244, 1951.

XAVIER, P. B. **Germinação e aclimatização de *Hamatocactus setispinus* (Cactaceae)**. Dissertação, p. 93 (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro. 2010.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; SANTOS, M. R. **Conservação das Cactaceae no Brasil**. Plano de Ação Nacional para a Conservação das Cactáceas, Série espécies ameaçadas n.24, 2011.

ZAPPI, Daniela. Fitofisionomia da Caatinga associada à Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, vol. 4, n 1-2, p. 34-38, Dez., 2008.