



**TÉCNICAS DE CULTIVO *IN VITRO* DE *ARTHROCEREUS GLAZIOVII* (K.Schum.)
N.P.Taylor & Zappi**

ELISANGELA CRISTINA DA SILVA COSTA; ANDRELIZA ROBERTA TERCIOTTI DE
OLIVEIRA; JACIELY GABRIELA MELO DA SILVA; JOSÉ MAURO SANTANA DA
SILVA

RESUMO

Arthrocereus glaziovii é uma espécie da família Cactaceae, sendo endêmico do Cerrado brasileiro, com ocorrências no Estado de Minas Gerais. Possui habitat restrito aos campos rupestres ferruginosos que são ambientes com alta biodiversidade e com alto grau de endemismo para espécies da flora. O *A. glaziovii* encontra-se ameaçado, na classificação “Criticamente em Perigo” (CR) de extinção, de acordo com a lista de espécies ameaçadas de extinção da Flora do Estado de Minas Gerais. Uma das formas de minimizar os impactos negativos sobre as populações dessa Cactaceae é a utilização de métodos de propagação que constituem uma alternativa para sua multiplicação, o que favorece a conservação e a redução predatória desta espécie. O objetivo desse trabalho foi avaliar a germinação de sementes por meio do cultivo *in vitro* utilizando o meio de cultura MS (*Murashige and Skoog*) nas concentrações de 2,21 g e 4,42 g, empregando técnicas da micropropagação vegetativa. Os resultados evidenciaram eficácia no uso do meio de cultivo MS (*Murashige and Skoog*) com a concentração de 2,21g para a germinação das sementes da cactaceae.

Palavras-chave: micropropagação; cactaceae; cerrado; campos rupestres

1 INTRODUÇÃO

Campos rupestres ferruginosos são afloramentos que ocorrem no substrato ferrífero, também chamado de canga. Estes são encontrados em grandes porções concentradas no Quadrilátero Ferrífero, áreas associadas a imensos depósitos de minério de ferro (JACOBI & CARMO, 2008). Tais campos estão entre os litotipos menos conhecidos e mais ameaçados do sudeste do Brasil, em decorrência das atividades minerárias (JACOBI & CARMO, 2010). Os campos rupestres decorrentes dos substratos de canga, são de suma importância ecológica devido seu elevado número de espécies endêmicas (GIULIETTI & PIRANI et al., 1987; 1988). Contudo, em decorrência de ações antrópicas, este ecossistema está sendo consideravelmente impactado, sofrendo grandes ameaças (GIULIETTI & PIRANI 1997; DRUMMOND et al., 2005), tornando-se urgente um plano de desenvolvimento estratégico para conservação deste bioma. Diversas espécies da família Cactaceae ocorrem de forma significativa ao longo dos

campos rupestres. No Brasil, essa família é representada por 160 espécies, dentre as quais 26% ocorrem em campos rupestres, sendo a maioria endêmica e com algum tipo de ameaça (ZAPPI E TAYLOR, 2008; LOPES 2012).

A espécie *Arthrocereus glaziovii* encontra-se neste contexto e em virtude deste cenário, importantes estudos estão sendo direcionados sobre técnicas de germinação e micropropagação de cactáceas, como alternativa essencial para a conservação da espécie (LOPES 2012; LEMARUMINSKA & KULUS 2014). Um dos grandes benefícios desta técnica de cultivo *in vitro* consiste em acelerar o crescimento das plantas, resultante da fixação contínua de CO₂ durante o período diurno e noturno (RESENDE et al., 2010) e proporcionar condições favoráveis livres de agentes biológicos competidores (DIAS et al., 2008). O processo de transição do ambiente *in vitro* para ambiente *ex vitro* é denominado aclimatização ou rustificação (BARBOZA et al., 2006; RESENDE et al., 2010). Essa etapa pode ser considerada um fator limitante para o desenvolvimento das plântulas, visto que o indivíduo ficará suscetível às condições ambientais externas (GRATTAPAGLIA & MACHADO 1998; BOSA et al., 2003).

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a germinação de sementes por meio do cultivo *in vitro* utilizando o meio de cultura MS (*Murashige and Skoog*) nas concentrações de 2,21 g e 4,42 g, empregando técnicas da micropropagação vegetativa.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados frutos maduros de *A. glaziovii* e encaminhados ao laboratório para os devidos procedimentos iniciais. Para o processo de extração de sementes, fez-se necessário cortar os frutos e friccioná-los extraindo a polpa em papel de filtro. Nessas condições, as sementes foram secas a sombra em temperatura ambiente, por 2 dias (CORREIA et al., 2011).

Em seguida, realizou-se a desinfestação das sementes de *A. glaziovii*, que foram imersas em álcool 70% durante 20 minutos sob agitação (KHALAFALLA et al., 2007) e posteriormente lavagem em água destilada. Após essa etapa, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito a 1% (v/v) de cloro ativo, com duas gotas de detergente neutro industrial (Tween® 20), para cada 100 mL de solução, sob agitação constante durante 20 minutos (CORREIA et al., 2011). Em seguida, as sementes foram lavadas com água esterilizada, sob capela de fluxo laminar. Foram utilizadas as concentrações de 2,21 g e 4,42 g, do meio de cultivo MS (*Murashige and Skoog*) para o tratamento de germinação das sementes (tabela 1).

Tabela 1. Concentrações dos meios de cultura para cultivo *in vitro* de *Arthrocereus glaziovii*.

Concentração 1		Concentração 2	
Reagente	Concentração	Reagente	Concentração
Ágar nutriente	4,00 g L ⁻¹	Ágar nutriente	4,00 g L ⁻¹
Sacarose	30,00 g L ⁻¹	Sacarose	30,00 g L ⁻¹
Carvão ativado	0,60 g L ⁻¹	Carvão ativado	0,60 g L ⁻¹
MS	2,21 g L ⁻¹	MS	4,42 g L ⁻¹

Após o preparo e esterilização do meio de cultivo, foram inoculadas de 10 a 20 sementes para o desenvolvimento de propágulos (Figura 1 A; B).

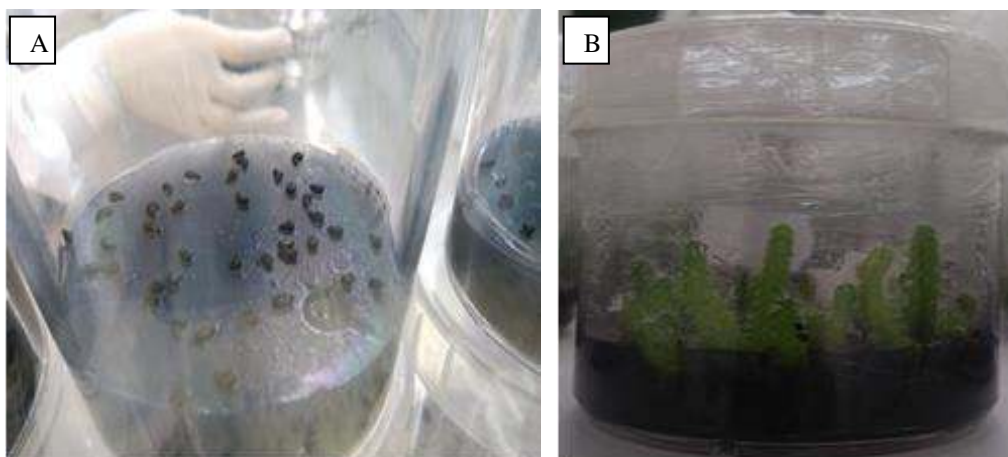


Figura 1- Inoculação de propágulos de *Arthrocerus glaziovii* (A); Desenvolvimento de plântulas de *A.glaziovii* (B).

Os frascos inoculados foram levados para sala de crescimento, sob condições controladas com temperatura máxima de 25° C e fotoperíodo de 16 horas na fase clara e 8 horas na fase escura, por um período de 6 (seis) meses. O experimento de germinação constituiu em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições nas duas concentrações, 2,21 g 4,42 g do meio de cultura analisado (frascos de 250 mL contendo 100 mL de meio). Todo procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar, com os devidos controles de assepsia.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a literatura, observa-se que a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas pelo método do cultivo *in vitro* da espécie *Arthrocerus glaziovii* ainda são escassos e merecem uma atenção especial. Para este estudo, os resultados evidenciaram eficácia no uso do meio de cultivo MS (*Murashige and Skoog*) com a concentração ajustada em 2,21g para a germinação das sementes e desenvolvimento da cactaceae. Demais abordagens como a reintrodução desta espécie no ambiente *ex situ* pós cultivo *in vitro*, demonstram baixas taxas de sobrevivência, necessitando de estudos mais detalhado, a fim de garantir a menor taxa de mortalidade das plântulas. Evidências como esta, corroboram com a classificação de vulnerabilidade da espécie, apontando a necessidade de mais estudos de reprodução e manejo.

4 CONCLUSÃO

Baseado no estudo apresentado, pode-se inferir que novas abordagens com diferentes tratamentos e meios de cultivo, devem ser aplicados a metodologia, objetivando a comparação entre as taxas de germinação, viabilidade e desenvolvimento dos propágulos dessa cactácea. No entanto, considerando as concentrações analisadas, pode-se concluir que, a utilização de 2,21 g do meio de cultivo MS (*Murashige and Skoog*), mostrou-se mais eficaz na germinação de sementes de *Arthrocerus glaziovii* em relação a outra concentração analisada.

REFERÊNCIAS

- BARBOZA, S.B.S.C.; RIBEIRO, D.G.; TEIXEIRA, J.B.; PORTES, T.A.; SOUZA, L.A.C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA**, v.41, n.2, p.185-194, 2006.
- BOSA, N.; CALVETE, E.O.; NIENOW, A.A.; SUZIN, M.; Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. **HORTICULTURA BRASILEIRA**, v. 21, n. 2, p.207-210, 2003.
- CORREIA, D.; NASCIMENTO, E.H. S.; ARAÚJO, J.D.M.; ANSELMO, G.C.; COELHO, P.J.A. Germinação de sementes de cactáceas in vitro. **COMUNICADO TÉCNICO 181 EMBRAPA**, 2011.
- DIAS, M.M.; NIETSCHE, S.; PEREIRA, M.C.T.; MATRANGOLO, C.A.R. Emergência e desenvolvimento da cactácea rabo-de-raposa (*Arrojadoa* spp) em diferentes meios de cultura e recipientes. **REVISTA CERES**, V. 55(2), p.117-123, 2008.
- DRUMMOND, G. M.; MARTINS, C. S.; MACHADO, A. B. M.; SEBAIO, F. A. & ANTONINI, Y. Biodiversidade em Minas Gerais: Um atlas para sua conservação. **FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS**, Belo Horizonte (2 ed.) 222p. 2005.
- GIULIETTI, A. M.; MENEZES, N. L.; PIRANI, J. R.; MEGURO, M. & WANDERLEY, M. G. L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. **BOLETIM DE BOTÂNICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO** 9:1-151. 1987
- GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. **PROCEEDINGS OF A WORKSHOP ON NEOTROPICAL BIODIVERSITY DISTRIBUTION PATTERNS**. Heyer, W. R. & Vanzolini, P. E. (Eds.). Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, Pp. 39-69, 1988.
- GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R.; HARLEY, R.M. 1997. Espinhaço Range region. In: S.D DAVIS; V.H. HEYWOOD; O. HERRERA-MACBRYDE; J. VILLA-LOBOS; A.C. HAMILTON (eds.), **CENTERS OF PLANT DIVERSITY: A GUIDE AND STRATEGY FOR THEIR CONSERVATION**. Cambridge, IUCN Publication Unity, vol. 3, p. 397-404.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. (eds.) *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: **EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq**, p.183-260, 1998.
- JACOBI, C.M.; CARMO, F.F.; VINCENT, R.C.; STEHMANN, J.R. (2010) Plant communities on ironstone outcrops: a diverse and endangered Brazilian ecosystem. **BIODIVERSITY AND CONSERVATION**. 16:2185-2200.2010.
- JACOBI, C.M & CARMO, F.F. Diversidade dos campos rupestres ferruginosos do quadrilátero ferrífero em MG. **REVISTA MEGADIVERSIDADE**, v. 4, nº 1-2, p.25-33, dez, 2008.
- KHALAFALLA, M.M.; ABDELLATEF, E.; MOHAMEED AHMED, M. M. AND OSMAN, M.G. Micropropagation of Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as Strategic Tool to Combat

Desertification in Arid and Semi Arid Regions. **COMMISSION FOR BIOTECHNOLOGY AND GENETIC ENGINEERING, NATIONAL CENTRE FOR RESEARCH**, P.O. Box 2404, Khartoum, Sudan, Int. J. Sustain. Crop Prod. 2(4):1-8 Accepted for publication: September 05, 2007.

LEMA-RUMINSKA, J.; KULUS, D. Micropropagation of Cacti – **A REVIEW. HASELTONIA**, v.17, p.46-63, 2014.

LOPES, LILIANE TEIXEIRA. Fenologia, biologia reprodutiva, germinação e desenvolvimento inicial de *Cipocereus minensis* subsp. *leiocarpus* *N.P. Taylor & Zappi* (Cactaceae) no planalto de Diamantina-MG. Dissertação (**MESTRADO - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina: UFVJM, 2012.

RESENDE, S.V.; LIMA-BRITO, A.; FERREIRA, S.; JOSÉ R. Influência do substrato e do enraizamento na aclimatização de *Melocactus glaucescens* *Buining & Brederoo* propagados in vitro. **REVISTA CERES**, Viçosa, v. 57, n.6, p. 803-809, nov/dez, 2010

ZAPPI, D.C; TAYLOR N. P. Diversidade e endemismo das Cactaceae na Cadeia do Espinhaço. **REVISTA MEGADIVERSIDADE**, v.4, n.1-2, p. 139-144. 2008.