

Foto: Diva Correia



## Germinação de Sementes de Cactáceas In Vitro

Diva Correia<sup>1</sup>  
Evaldo Heber Silva do Nascimento<sup>2</sup>  
José Dionis Matos Araújo<sup>3</sup>  
Geórgia Carvalho Anselmo<sup>4</sup>  
Paulo Jorge de Araújo Coelho<sup>5</sup>

A família Cactaceae é constituída de aproximadamente 124 gêneros e 1.440 espécies, que ocorrem quase exclusivamente no continente americano, com exceção da espécie *Rhipsalis baccifera*, a qual pode ser encontrada, também, na África, em Madagascar, e na Ásia, no Sri Lanka (SILVA et al., 2011). O México e o sul dos Estados Unidos são considerados o maior centro de diversidade genética de cactáceas, seguidos da região dos Andes, que inclui a Bolívia, Argentina e Peru. O Brasil abriga o terceiro centro de diversidade de cactáceas, com cerca de 34 gêneros, 230 espécies, das quais 184 são endêmicas (SILVA et al., 2011).

No Brasil, as cactáceas contribuem substancialmente para a sustentabilidade do bioma Caatinga, principalmente, como fonte de alimentação alternativa para o sertanejo e para a fauna local, já que os cactos,

entre outras espécies, constituem a principal fonte de alimentos para os ruminantes nas épocas de secas prolongadas (CAVALCANTI; RESENDE, 2007).

Além do potencial forrageiro e alimentício, as cactáceas destacam-se pelas características ornamentais em função das variações de formas, tamanhos e flores (NOBEL, 2002). Mais de 300 espécies de cactos são cultivadas mundialmente como ornamentais e comercializadas em lojas, supermercados e viveiros (NASCIMENTO, 2011).

Em decorrência do seu uso, as cactáceas são submetidas à exploração intensiva, e, como resultado, as populações dessas espécies têm sido drasticamente afetadas, de modo que muitas delas passaram a correr risco de extinção. Estudos de métodos de propagação das cactáceas constituem

<sup>1</sup>Bióloga, D.Sc. em Ciências Florestais, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, CE, dcorreia@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, bolsista CNPq na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, e.heber.sn@gmail.com

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, bolsista do CNPq na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, jose.matos@crea.org

<sup>4</sup>Graduanda de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Ceará, Av. Parajana, 1700 – Campus Itaperi, CEP 60740-020, Fortaleza, CE, georgiabiologa@hotmail.com

<sup>5</sup>Engenheiro Agrônomo, M.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, pcoelho@cnpat.embrapa.br

uma alternativa para sua multiplicação, o que favorece a conservação e a redução do extrativismo (ROJAS-ARÉCHIGA; VÁZQUEZ-YANES, 2000).

As cactáceas podem ser multiplicadas por sementes ou propagação vegetativa via estacas ou brotos. A reprodução in vivo ou in vitro, por meio da germinação de sementes, é uma alternativa à multiplicação das cactáceas, proporcionando manutenção da variabilidade genética e aumento da disponibilidade de mudas tanto para os viveiristas e pecuaristas quanto para projetos que visem à conservação (ROJAS-ARÉCHIGA; VÁZQUEZ-YANES, 2000). A reprodução das plântulas in vitro, embora de custo mais elevado, permite rápido desenvolvimento delas em comparação com as obtidas por germinação em viveiros ou nos sistemas naturais, ambos de custos mais reduzidos (DIAS et al., 2008). De acordo com Malda et al. (1999), as cactáceas cultivadas in vitro podem fixar CO<sub>2</sub> de maneira contínua, comportando-se como plantas C<sub>3</sub> facultativas, o que favorece o crescimento. Adicionalmente, o cultivo in vitro permite a produção de um grande número de plantas em área reduzida, independente da época do ano e redução do tempo de cultivo (SOUZA et al., 2006).

O cultivo in vitro, muitas vezes, é limitado devido à ocorrência de contaminantes. Para isso, utilizam-se soluções de agentes desinfestantes no processo de assepsia do material que dará início ao cultivo (MARTINS-CORDER; BORGES JUNIOR, 1999). O álcool etílico e os compostos à base de cloro são as substâncias mais utilizadas com ação germicida nesse processo. O hipoclorito de sódio ou de cálcio têm sido eficientes na desinfestação de sementes, eliminando fungos e bactérias, bem como a utilização de fungicidas e bactericidas, que promove aumento no total de sementes germinadas (COUTO et al., 2004).

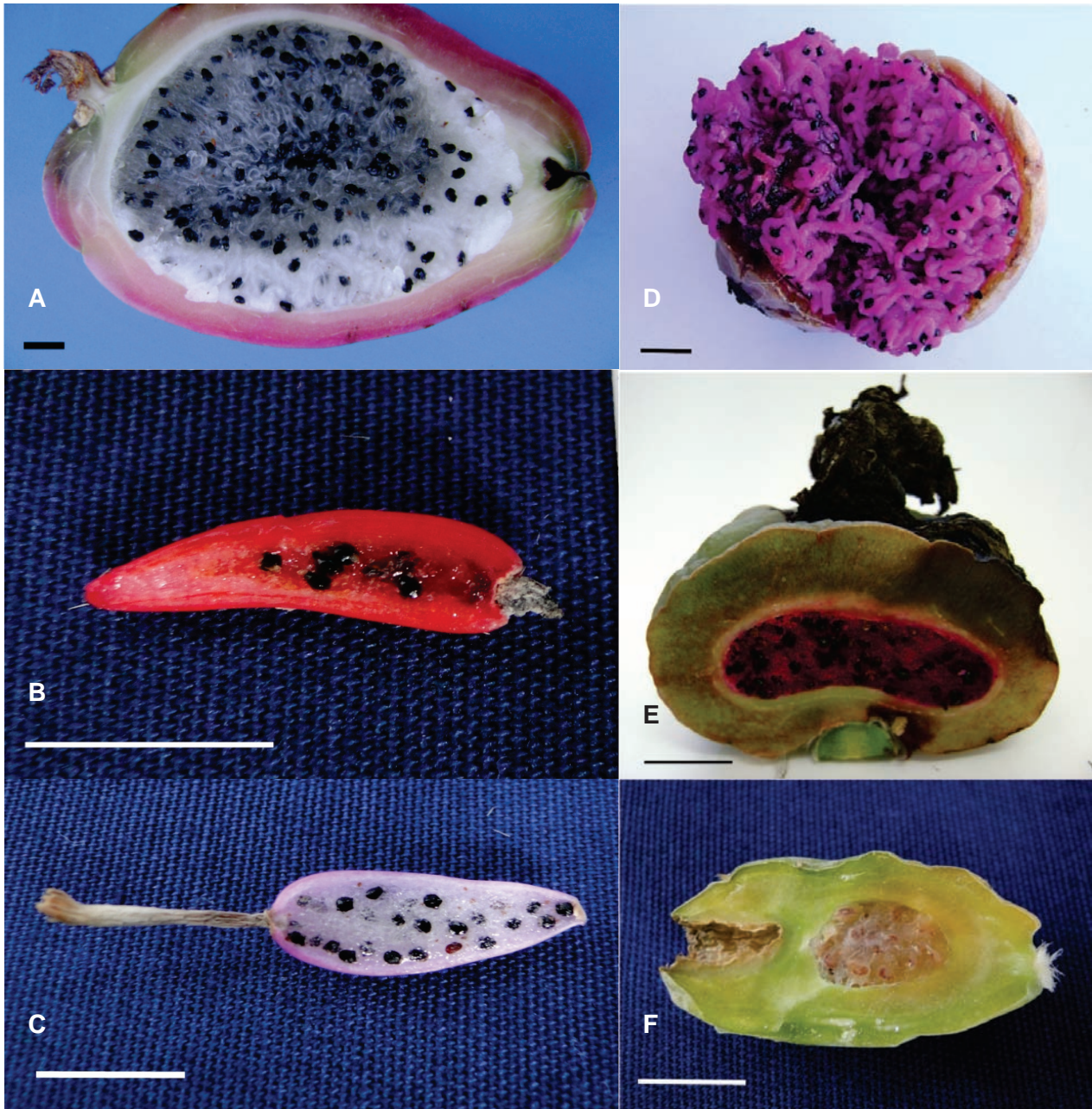
Desde 2006, a Embrapa Agroindústria Tropical vem conduzindo pesquisas com cactáceas objetivando selecionar materiais com potencial ornamental, forrageiro e outros usos, como fibras, nanofibras, pectina, biopolímeros, hidrogéis etc. Outro propósito da Embrapa diz respeito à conservação genética de cactáceas, principalmente as nativas. Nesse sentido, tem sido mantida uma coleção in vivo com mais de 196 acessos de espécies nativas e exóticas.

Dos acessos de sementes coletadas ou obtidas por doações, objetivamos definir uma metodologia para germinação de sementes in vitro no Laboratório

de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, CE. Para isso, utilizaram-se sementes de cactáceas nativas: *Cereus jamacaru*, *Melocactus zehntneri*, *Pilosocereus chrysostele*, *P. gounellei*, *P. pachycladus* e *Tacinga inamoena*, além de exóticas: *Mammillaria fraileana*, *M. plumosa*, *M. prolifera* e *Melocactus curvispinus* (Figura 1).

A extração das sementes dos frutos de *Cereus jamacaru*, *Pilosocereus gounellei*, *P. pachycladus* e *P. chrysostele* deve ser 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. Para extração das sementes de *Mammillaria fraileana*, *M. plumosa*, *M. prolifera*, *Melocactus curvispinus*, *M. zehntneri* e *Tacinga inamoena*, deve-se cortar o fruto e friccionar a polpa com as sementes em papel de filtro. Nessas condições, as sementes devem secar à sombra em temperatura ambiente, durante 2 dias. Em seguida, no laboratório, dispõem-se aproximadamente 50 sementes sobre um pedaço de tecido permeável ( $\pm 10$  cm<sup>2</sup>). As pontas do tecido devem ser amarradas, com o auxílio de um barbante, de forma que se impeça a saída das sementes. Em seguida, essa embalagem contendo as sementes é imersa em 300 mL de solução de hipoclorito de sódio comercial contendo 1% de cloro ativo, com adição de duas gotas de Tween® 20 para cada 100 mL de solução, e deve ficar sob agitação constante durante 20 minutos. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, a embalagem com as sementes é submetida a lavagens sucessivas em água destilada e esterilizada com duração aproximada de 2 minutos cada lavagem. Esse processo de enxágue deve ser repetido mais duas vezes.

Após o último enxágue, a embalagem com as sementes já desinfestadas é disposta em uma placa de Petri e, com auxílio de um bisturi, corta-se o barbante, deixando as sementes livres para serem resgatadas e inoculadas com auxílio de uma pinça. Até oito sementes são inoculadas em cada frasco com capacidade de 250 mL, o qual é vedado com tampa de polipropileno transparente. Cada frasco deve conter 30 mL de meio de cultura JADS (CORREIA et al., 1995; Tabela 1) com solução de Fe reduzida à metade, suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O agente solidificante utilizado é o Gelrite®, Sigma (1,7 g L<sup>-1</sup>). O pH do meio de cultura é ajustado para 5,8 antes da esterilização e da adição do agente solidificante. A esterilização do meio de cultura ocorre em autoclave à temperatura de 121 °C, durante 15 min.



**Figura 1.** Alguns frutos de cactáceas com detalhe das sementes: *Cereus jamacaru* (A), *Mammillaria prolifera* (B), *Melocactus zehntneri* (C), *Pilosocereus gounellei* (D), *Pilosocereus pachycladus* (E) e *Tacinga inamoena* (F). Barras = 1 cm.

**Tabela 1.** Composição do meio de cultura JADS (CORREIA et al., 1995).

Componente	Concentração	
	(mg L <sup>-1</sup> )	(mmol L <sup>-1</sup> )
<b>Macronutrientes</b>		
Nitrato de amônio (NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	324,0	4,0
Nitrato de potássio (KNO <sub>3</sub> )	809,0	8,0
Nitrato de cálcio tetraidratado (CaNO <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O)	1.181,0	5,0
Fosfato monobásico de potássio (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	408,0	3,0
Sulfato de magnésio heptaidratado (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	739,5	3,0
<b>Micronutrientes</b>		
Ferro-EDTA		
(FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	55,60	0,2
(Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O)	74,50	0,2
Sulfato de manganês monoidratado (MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	12,80	0,076
Sulfato de zinco heptaidratado (Zn SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	4,30	0,015
Sulfato de cobre pentaidratado (Cu SO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O)	1,25	0,005
Molibdato de sódio di-hidratado (Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O)	0,15	0,0006
Ácido bórico (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	3,10	0,05
<b>Compostos orgânicos</b>		
Tiamina.HCl (vitamina B <sub>1</sub> )	5,0	0,015
Piridoxina.HCl (vitamina B <sub>6</sub> )	0,5	0,0024
Ácido nicotínico (vitamina PP)	0,5	0,004
Pantotenato de cálcio (vitamina B <sub>5</sub> )	2,4	0,005
Cisteína	2,5	0,02
Arginina	7,0	0,04
Glutamina	146,0	1,0
Inositol	100,0	0,555
Sacarose	30.000,0	11.400,0

A escolha do meio de cultura JADS deve-se ao fato de que o mesmo contém maior concentração de macronutrientes e micronutrientes, quando comparado ao meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), 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<sub>4</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>+</sup> quando comparado às concentrações do meio MS (CORREIA, 2006), fatores importantes tanto no controle da oxidação in vitro (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1990) quanto ao crescimento e desenvolvimento de plantas perenes in vitro (RAMAGE; WILLIAMS, 2002).

Após a inoculação das sementes, os frascos devem ser mantidos em câmara de crescimento com radiação ativa fotossintética de 30 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 12 horas e temperatura a 27 °C ± 2 °C.

Na Tabela 2, encontra-se a avaliação da germinação das sementes das cactáceas estudadas. A porcentagem de sementes contaminadas variou de 0% a 10%, o que sugere uma eficiência do método de assepsia. Variações de tempo para início e fim da germinação das sementes e para porcentagem de sementes germinadas, possivelmente, são decorrentes de variabilidade genética e das interações com as condições ambientais de crescimento. Dessa forma, as condições de cultivo in vitro aplicadas foram favoráveis à germinação de sementes de *Cereus jamacaru* e *Pilosocereus chrysostele* e menos adequadas ao *Melocactus zehntneri* e *Mammillaria prolifera* (Figura 2). Observa-se que, para os gêneros *Mammillaria* e *Pilosocereus*, houve homogeneidade nos períodos de início e fim de germinação, enquanto para o gênero *Melocactus* os resultados foram distintos entre as duas espécies. Esse comportamento

pode estar relacionado às origens, uma vez que o *M. curvispinus* é nativo da Colômbia, Venezuela, e México (TAYLOR, 1991), e o *M. zehntneri* é

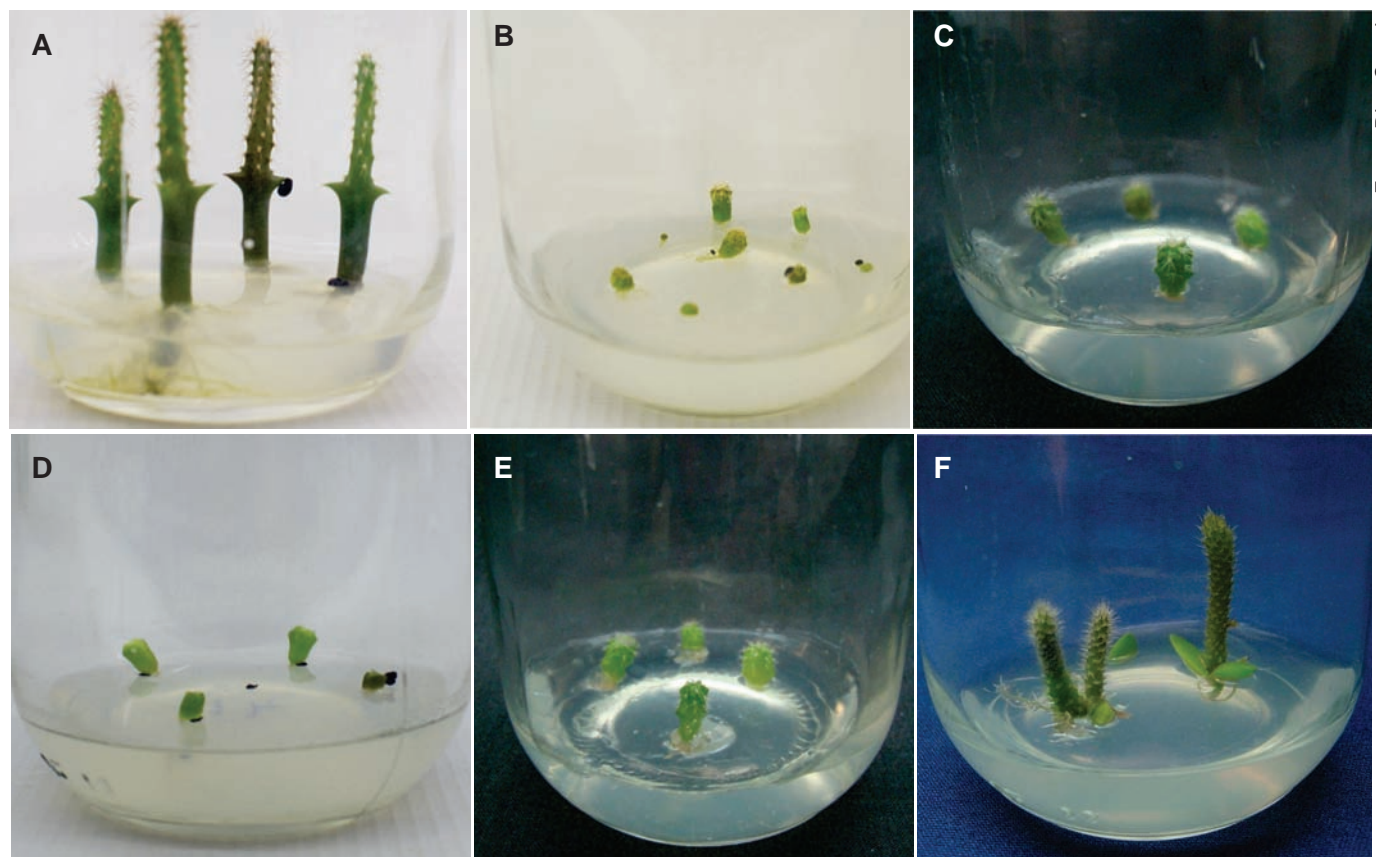
nativo do Nordeste brasileiro, necessitando de temperaturas mais elevadas para germinação das sementes (TAYLOR, 1991).

**Tabela 2.** Avaliação da germinação in vitro de sementes de diferentes espécies de cactáceas. Fortaleza, CE, 2011.

Espécie	Nome vulgar	Semente inoculada (nº)	Semente contaminada (nº)	Início da germinação <sup>1</sup> (dias)	Fim da germinação <sup>2</sup> (dias)	Semente germinada (nº)	Germinação da semente (%)
<i>Cereus jamacaru</i>	mandacaru	407	2	7	30	377	92,6
<i>Mammillaria fraileana</i>	mamilária	64	0	14	50	38	59,3
<i>Mammillaria plumosa</i>	mamilária	70	1	15	58	54	77,6
<i>Mammillaria prolifera</i>	mamilária	120	2	15	61	34	28,3
<i>Melocactus curvispinus</i>	coroa de frade	205	9	9	15	84	40,1
<i>Melocactus zehntneri</i>	coroa de frade	280	3	20	43	39	13,9
<i>Pilosocereus chrysostele</i>	crisostélia	45	0	13	26	43	95,5
<i>Pilosocereus gounellei</i>	xique-xique	408	2	12	34	286	70,3
<i>Pilosocereus pachycladus</i>	facheiro	88	3	13	27	47	53,4
<i>Tacinga inamoena</i>	palminha	78	8	27	132	30	38,4

<sup>(1)</sup>Plântulas que apresentaram altura da parte aérea superior a 2 mm e emissão de raiz primária.

<sup>(2)</sup>Estabilização da contagem de sementes germinadas.



**Figura 2.** Desenvolvimento de plântulas de cactáceas a partir da semente in vitro: *Cereus jamacaru* aos 30 dias (A), *Melocactus zehntneri* aos 90 dias (B), *Pilosocereus chrysostele* aos 45 dias (C), *Pilosocereus gounellei* aos 45 dias (D), *Pilosocereus pachycladus* aos 45 dias (E) e *Tacinga inamoena* aos 60 dias, após a germinação das sementes em meio de cultura JADS (F). Barras =1 cm.

## Agradecimentos

Ao Banco do Nordeste (Fundec) e à Embrapa pelo financiamento; ao CNPq e à Funcap pela concessão de bolsas de fomento tecnológico.

## Referências

- 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. Webber ex K. Schum.) Bly. ex Rowl.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* Britton & Rose). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 1, p. 28-35, jan/mar, 2007.
- CORREIA D.; GONÇALVES, A. N.; COUTO H. Y. Z.; RIBEIRO, M. C. 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**, Piracicaba, n. 48/49, p. 107-116, 1995.
- CORREIA, D. **Macronutrientes, aspectos nutricionais e bioquímicos no crescimento de brotações de *Eucalyptus grandis in vitro***. 2006. 175f. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n.5, p. 633-642, 2004.
- DIAS, M. M.; NIETSCHKE, 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**, Janaúba, v. 55, n. 2, p.117-123, 2008.
- 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, 1990. p. 99-167.
- 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.
- MARTINS-CORDER, M. P.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.
- 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.
- NASCIMENTO, E. H. S. do. **Crescimento inicial de mudas de *Pilosocereus gounellei* subsp. *gounellei* em diferentes substratos**. 2011. 59f. Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Curso de Agronomia, Fortaleza, CE, 2011.
- NOBEL, P. S. **Cacti: biology and uses**. Berkeley, CA: University of California Press; 2002, 290 p.
- RAMAGE, C. M.; WILLIAMS, R. R. Mineral nutrition and plant morphogenesis. **In vitro Cellular and Development Biology**, Oxon, v. 38, p. 115-124, 2002.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M.; VÁZQUEZ-YANES, C. Cactus seed germination: a review. **Journal of Arid Environments**, London, v. 44, n. 1, p. 85-104, 2000.
- 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.
- SILVA, S. R.; ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; MACHADO, M. **Plano de ação nacional para conservação das cactáceas: Série Espécies Ameaçadas nº 24**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2011. 113 p.
- SOUZA, F. V. D.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; COSTA, M. A. P. de C. Micropropagação. In: SOUZA A. da S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa, 2006. cap. 2, p. 38-52.
- TAYLOR, N. P. **The genus *Melocactus* (Cactaceae)**: in Central and South America. Bradley: RBG, v. 9,1991. 80 p.

### Comunicado Técnico, 181

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agroindústria Tropical**  
**Endereço:** Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici,  
CEP 60511-110 Fortaleza, CE  
**Fone:** (0xx85) 3391-7100  
**Fax:** (0xx85) 3391-7109 / 3391-7141  
**E-mail:** vendas@cnpat.embrapa.br

1ª edição (2011): on-line

### Comitê de Publicações

**Presidente:** Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior  
**Secretário-Executivo:** Marcos Antonio Nakayama  
**Membros:** Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura.

### Expediente

**Revisão de texto:** Marcos Antonio Nakayama  
**Editoração eletrônica:** Arião Nobre de Oliveira  
**Normalização bibliográfica:** Rita de Cassia Costa Cid