

## GERMINAÇÃO *IN VITRO* E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE COROA-DE-FRADE (*Melocactus zehntneri*)

Darlyson Tavares Guimarães<sup>1</sup>; Magali Haideé Pereira Martínez<sup>1</sup>; Lais Tomaz Ferreira<sup>2</sup>; Marina Medeiros de Araújo Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Campina Grande, [darlyson\\_lima@hotmail.com](mailto:darlyson_lima@hotmail.com), [magali\\_haidee@hotmail.com](mailto:magali_haidee@hotmail.com)

<sup>2</sup>Instituto Nacional do Semiárido, [marinamedeirosas@yahoo.com.br](mailto:marinamedeirosas@yahoo.com.br), [laistomazpe@hotmail.com](mailto:laistomazpe@hotmail.com)

**RESUMO:** O cultivo *in vitro* constitui uma alternativa à conservação e à propagação convencional de espécies ameaçadas pela ação antrópica e que apresentem relevante potencial de uso, como a coroa-de-frade. Assim, objetivou-se estudar a germinação *in vitro* e o desenvolvimento inicial de plântulas de *Melocactus zehntneri* sob diferentes meios de cultura. Para tanto, as sementes foram desinfestadas e inoculadas *in vitro* em quatro tratamentos que apresentavam concentrações variadas de sais e de sacarose, e mantidas em sala de crescimento por 60 dias. Após este período, verificou-se que o maior percentual de germinação ocorreu no meio com menor quantidade de sais e sacarose ( $\frac{1}{2}$  MS + 1,5%). Tal tratamento também propiciou um bom desenvolvimento das plântulas, sendo recomendado para a germinação da referida espécie, com fins de conservação e/ou de obtenção de material propagativo para o cultivo *in vitro*.

### INTRODUÇÃO

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). O êxito de sua aplicação envolve diferentes fatores, tais como a composição do meio de cultura, o ambiente de cultivo e o genótipo estudado, dentre outros. 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 gênero *Melocactus* inclui cactos globosos, com espinhos longos e duros, e que desenvolvem, na fase adulta, uma estrutura de reprodução chamada cefálio. *Melocactus zehntneri* (Britton & Rose) Luetzelb., popularmente conhecido por coroa-de-frade, é uma espécie nativa do Nordeste brasileiro que apresenta potencial forrageiro e alimentício, destacando-se também por suas características ornamentais (CORREIA et al., 2011). Contudo, em decorrência do extrativismo, as populações desta espécie, assim como de outras cactáceas, têm sido drasticamente afetadas (RESENDE et al., 2009).

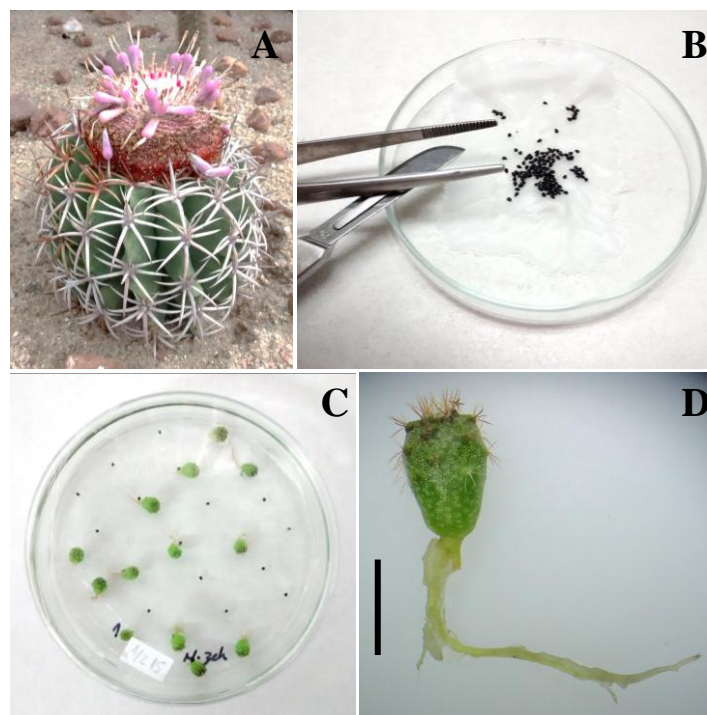
Assim, o objetivo da presente pesquisa foi estudar a germinação *in vitro* e o desenvolvimento inicial de plântulas de *M. zehntneri* sob diferentes concentrações de sais e de sacarose no meio de cultura.

## METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultivo *in vitro* de Plantas (LaCIP), a partir de material vegetal (Figura 1A) coletado do Cactário Guimarães Duque, ambos pertencentes ao Instituto Nacional do Semiárido (INSA, Campina Grande, PB).

Sementes da espécie *M. zehntneri* foram submetidas à desinfestação em laboratório, com lavagem em água corrente e detergente neutro, e, posteriormente, imersas em hipoclorito de sódio comercial (NaOCl 2,5%) contendo 1 mL de Tween 20, durante 15 minutos. Em câmara de fluxo laminar, procedeu-se o triplice enxágue em água destilada estéril e a inoculação das sementes (Figura 1B) em meio de cultura com pH 5,8 e solidificado com 2,5 g L<sup>-1</sup> de phytigel. Foram testadas duas concentrações de sais de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962): completo (MS) ou com metade da força iônica (½ MS) e duas concentrações de sacarose: 1,5 e 3%, obtendo-se assim quatro tratamentos: 1 - ½ MS + 1,5%, 2 - ½ MS + 3%, 3 - MS + 1,5% e 4 - MS + 3%. Utilizaram-se 100 sementes por tratamento, distribuídas em cinco repetições.

Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, sob fotoperíodo de 16 h de luz, intensidade luminosa de 52  $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Após 60 dias de cultivo foi contabilizado o percentual de germinação e realizadas as análises biométricas (altura e diâmetro da parte aérea, número de raízes e comprimento da maior raiz). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (concentração de sais no meio x concentração de sacarose). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Assistat, versão 7.7 beta.

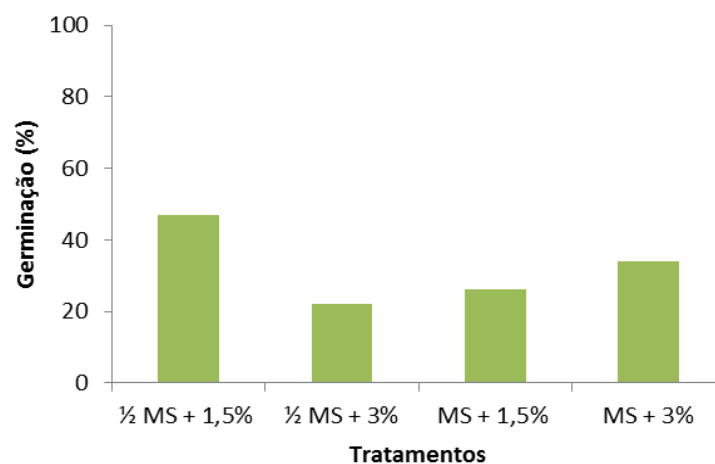


**Figura 1.** Germinação *in vitro* de *Melocactus zehntneri*: (A) coleta de material vegetal, (B) assepsia e inoculação das sementes, (C) germinação em meio com redução de sais e sacarose, e (D) plântula cultivada *in vitro* (barra = 5 mm).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento de assepsia aplicado nas sementes do cacto coroa-de-frade foi considerado satisfatório, não sendo detectada a contaminação por microrganismos, mesmo sem a aplicação de soluções fungicidas que são comumente utilizadas no cultivo *in vitro* de cactáceas (DIAS et al., 2013). A germinação iniciou após três dias da inoculação, com a emissão da radícula. Outros estudos conduzidos *in vitro* apresentaram início da geminação aos cinco dias para *M. bahiensis* (DIAS et al., 2013), aos nove e aos vinte dias para *M. curvispinus* e *M. zehntneri*, respectivamente (CORREIA et al., 2011). Tais variações no período de tempo são, possivelmente, decorrentes das especificidades presentes em cada uma das espécies estudadas e da variabilidade genética apresentada pelas sementes, bem como da forma e período de armazenamento destas.

Dentre os tratamentos utilizados, aquele que resultou em maior percentual de germinação após 60 dias de cultivo foi o  $\frac{1}{2}$  MS + 1,5% de sacarose (47%) (Figura 1C). Tal resultado pode estar relacionado a uma maior disponibilidade de água no meio de cultura, devido a menor concentração de sais e de sacarose utilizada. Segundo Abreu (2008), embora as espécies de *Melocactus* habitem ambientes que possuem baixa disponibilidade hídrica, elas necessitam de maior quantidade de água para germinarem. Em *M. glaucescens*, Resende et al. (2009) obtiveram maior percentual de germinação *in vitro* utilizando o meio com  $\frac{1}{4}$  dos sais de MS e redução de sacarose, o que demonstra também que tais cactáceas são menos exigentes em termos nutricionais.



**Figura 3.** Percentual de germinação de *M. zehntneri* em diferentes meios de cultura, após 60 dias de cultivo *in vitro*.

As soluções de sais e os açúcares (fontes de carbono) que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, podendo também influenciar na morfogênese, no crescimento e desenvolvimento celular, através de suas propriedades osmóticas (GEORGE et al., 2008).

De modo geral, as plântulas (Figura 1D) cultivadas nos meios  $\frac{1}{2}$  MS adicionado de 1,5% e 3% de sacarose, e MS adicionado de 1,5% de sacarose apresentaram maior altura da parte aérea (Tabela 1). Em relação ao diâmetro da parte aérea, melhores resultados foram obtidos com o uso de  $\frac{1}{2}$  MS + 3% e de MS + 1,5%. Um cladódio mais desenvolvido pode favorecer a sobrevivência da planta caso esta venha a ser aclimatizada, bem como possibilitar a extração de um maior número de explantes, caso a planta obtida seja utilizada como matriz para a fase de multiplicação *in vitro*.

**Tabela 1.** Efeito do meio de cultura no desenvolvimento de plântulas de *M. zehntneri* germinadas *in vitro*, após 60 de cultivo. APA= altura da parte aérea; DPA= diâmetro da parte aérea; CMR= comprimento da maior raiz.

Meio de cultura	APA (mm)		DPA (mm)		CMR (mm)		Nº de raízes	
	Sacarose							
	1,5%	3%	1,5%	3%	1,5%	3%	1,5%	3%
½ MS	7,17 aA	7,20 aA	5,17 aB	5,97 aA	12,00 bB	18,32 aA	1,25 ns	1,25 ns
MS	7,40 aA	5,62 bB	5,43 aA	4,37 bB	20,44 aA	13,12 bB	1,25 ns	1,00 ns

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas para meio de cultura e minúsculas para concentração de sacarose, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%). ns = não significativo.

Os fatores estudados também interferiram no desenvolvimento radicular (Tabela 1). Para o comprimento de raiz, maiores valores foram encontrados em plantas cultivadas em ½ MS + 3% e MS + 1,5%; enquanto para o número de raízes não houve diferença significativa entre os tratamentos. No cultivo *in vitro* de *M. bahiensis*, Dias et al. (2013) observaram que o comprimento radicular foi influenciado pela adição de reguladores de crescimento, com destaque para o uso da auxina ANA (ácido naftalenoacético) isolada ou em combinação com o BAP (6-benzilaminopurina). Contudo, se a espécie estudada não apresenta dormência, certos requerimentos, como a adição de reguladores ao meio de cultura, não são necessários. Conforme demonstrado por Amador-Alfárez et al. (2013), o uso de diferentes concentrações de auxinas e ácido giberélico não aumentou a taxa de germinação e tampouco favoreceu o crescimento *in vitro* de *Ferocactus*, sendo as plântulas mais vigorosas obtidas no tratamento controle (sem adição de reguladores de crescimento).

## CONCLUSÕES

O método de assepsia empregado, com uso de hipoclorito de sódio 2,5% + 1 mL de Tween 20, foi eficiente para a desinfestação das sementes. A utilização do meio MS em concentrações reduzidas de sais e de sacarose é sugerida para a germinação *in vitro* de *M. zehntneri*, uma vez que proporciona uma taxa de germinação satisfatória e a obtenção de plântulas com bom desenvolvimento, além da redução dos custos com o material utilizado para o preparo de meio de cultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, D.D.S. **Germinação e morfo-anatomia do desenvolvimento em *Melocactus ernestii* Vaupel e *M. paucispinus* Heimen & R.J. Paul (Cactaceae).** Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. 126p.

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.

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

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

CORREIA, D. et al. **Germinação de sementes de cactáceas *in vitro*** (Comunicado Técnico 181). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 6p.

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.

GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; DE KLERK, G. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Dordrecht: Springer, 2008. 574p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

RESENDE, S.V.; LIMA-BRITO, A.; SANTANA, J.R.F. **Obtenção de explantes de *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo (Cactaceae) por meio da germinação *in vitro***. In: Anais do 60º Congresso Nacional de Botânica, 2009. Feira de Santana, 2009.