



JÚLIA QUARESMA SIQUEIRA FARIA

**MICROPROPAGAÇÃO DE *Arthroceres glaziovii* (K. Schum.) N.
P. Taylor & Zappi: UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO
E ENDÊMICA DA FITOFISIONOMIA CAMPO RUPESTRE
FERRUGINOSO**

**LAVRAS - MG
2023**

JÚLIA QUARESMA SIQUEIRA FARIA

**MICROPROPAGAÇÃO DE *Arthrocerus glaziovii* (K. Schum.) N. P. Taylor & Zappi:
UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO E ENDÊMICA DA FITOFISIONOMIA
CAMPO RUPESTRE FERRUGINOSO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia Florestal para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Gilvano Ebling Brondani
Orientador

M.Sc. Douglas Machado Leite
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

JÚLIA QUARESMA SIQUEIRA FARIA

**MICROPROPAGAÇÃO DE *Arthrocerus glaziovii* (K. Schum.) N. P. Taylor & Zappi:
UMA ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO E ENDÊMICA DA FITOFISIONOMIA
CAMPO RUPESTRE FERRUGINOSO**

**MICROPROPAGATION OF *Arthrocerus glaziovii* (K. Schum.) N. P. Taylor &
Zappi: AN ENDANGERED AND ENDEMIC SPECIES OF CAMPO RUPESTRE
FERRUGINOSO PHYTOPHYSIONOMY**

Monografia apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Curso de
Engenharia Florestal para a obtenção do título de
Bacharel.

Aprovada em: 25 de novembro de 2023.
Dr. Gilvano Ebling Brondani – UFLA
M.Sc. Douglas Machado Leite – UFLA
M.Sc. Fabíola Magalhães Mendes – UFLA

Prof. Dr. Gilvano Ebling Brondani
Orientador

M.Sc. Douglas Machado Leite
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

Em especial, dedico minha pesquisa e formação acadêmica à minha família, por todo incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por estar sempre ao meu lado, me iluminando e guiando meus passos;

Aos meus pais, Cássia e Sebastião, por serem meus maiores incentivadores durante minha vida acadêmica e por toda minha vida. Obrigada por não medirem esforços para realizar os meus sonhos;

Aos colegas de curso e amigos pela companhia e acolhimento e, agradeço à torcida, carinho e apoio ao longo dos anos;

Ao meu orientador Dr. Gilvano Ebling Brondani, pelas conversas e direcionamentos ao longo do percurso, pelas correções e principalmente por todo apoio;

Ao meu coorientador M.Sc. Douglas Machado Leite, por se manter presente, mesmo com a distância, sempre estar disponível para prestar apoio, com muita compreensão;

Ao meu namorado Gabriel, pela paciência, amor e compreensão, mesmo nos piores momentos. Obrigada pelo apoio e por sempre acreditar no meu potencial;

À M.Sc Fabíola Magalhães Mendes, pela disponibilidade de tempo e por contribuir para a melhora deste trabalho com suas opiniões e conhecimento;

À todo corpo docente do Departamento de Ciências Florestais – DCF, por todo conhecimento compartilhado, pelas lições aplicadas e principalmente por todo tempo dedicado dentro e fora da sala de aula;

A CNPq, CAPES, FAPEMIG e a Unidade de Pesquisa e Inovação em Campos Rupestres Ferruginosos da GERDAU, pela oportunidade do projeto;

E por fim, à Universidade Federal de Lavras pelo investimento, estrutura e profissionais excelentes.

“Quando a inteligência, a bondade e o afeto são usados em conjunto, todos os atos humanos passam a ser construtivos.” (Dalai Lama)

RESUMO

Arthrocerus glaziovii é uma Cactaceae nativa do estado de Minas Gerais, com ocorrência exclusiva em vegetação sobre afloramentos hematíticos (canga), considerada uma espécie ameaçada de extinção e que apresenta alto potencial para recuperação de campos rupestres ferruginosos. No intuito de facilitar a obtenção da espécie, usando das vantagens da micropropagação, como: maior sucesso na propagação vegetativa, a sazonalidade não influenciar nos resultados e a conservação de recursos genéticos. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultivo *in vitro* de Espécies Florestais da Universidade Federal de Lavras, com o objetivo de definir o protocolo para micropropagação e avaliar a influência do meio de cultivo usando-se MS (30 g L⁻¹ de sacarose) e WPM (20 g L⁻¹ de sacarose), duas concentrações de regulador (BAP), fonte de carboidrato (glicose e sacarose), presença e ausência de luz, posição de seccionamento (explante) para produção de brotações e, avaliados através das variáveis sobrevivência, número de gemas (NGE), número de raízes (NR) e comprimento da parte aérea (CPA). Nos resultados obtidos, identificamos que para números de raízes (NR), o melhor meio de cultura foi o MS junto a concentração de BAP a 0,5 mg L⁻¹. Quanto a fonte de carboidratos, a sacarose quem apresentou melhor influência para comprimento da parte aérea (CPA). Ademais, as posições do explante mediana e superiores favoreceram o surgimento de raízes e brotos, enquanto que a posição inferior favoreceu apenas para formação de brotos, e presença de luz foi indispensável, sendo um traço característico da espécie.

Palavras-chave: Micropropagação, Cultivo *in vitro*, Cacto, Espécie em extinção.

ABSTRACT

Arthrocreus glaziovii is a Cactaceae native to the state of Minas Gerais, occurring exclusively in vegetation on hematite outcrops (canga). It is considered an endangered species and has high potential for recovering ferruginous rupestrian fields. In order to facilitate obtaining the species, using the advantages of micropropagation, such as: greater success in vegetative propagation, seasonality not influencing the results and the conservation of genetic resources. The experiments were carried out at the Laboratory of *In Vitro* Cultivation of Forest Species at the Federal University of Lavras, with the aim of defining the protocol for micropropagation and evaluating the influence of the culture medium using MS (30 g L⁻¹ sucrose) and WPM (20 g L⁻¹ sucrose), two concentrations of regulator (BAP), carbohydrate source (glucose and sucrose), presence and absence of light, sectioning position (explant) for the production of sprouts and, evaluated through the variables survival, number of sprouts (NBR), number of roots (NR) and aerial part length (CPA). In the results obtained, we identified that for number of roots (NR), the best culture medium was MS with a BAP concentration of 0.5 mg L⁻¹. As for the source of carbohydrates, sucrose had the best influence on the length of the aerial part (CPA). In addition, the middle and upper explant positions favored the emergence of roots and shoots, while the lower position only favored the formation of shoots, and the presence of light was indispensable, being a characteristic trait of the species.

Keywords: Micropropagation, In vitro cultivation, Cactus, Endangered species.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Plântula segmentada.	18
Figura 2 - Explante basal.	18
Figura 3 - Explante mediana.	18
Figura 4 - Explante superior.	19
Figura 5 - Material depois de multiplicado.	19
Figura 6 - Plântulas repicadas para o recipiente plástico.	20
Figura 7 - Número de raízes de explantes de <i>Arthrocereus glaziovii</i> , em relação ao meio de cultura e concentrações de BAP aos 85 dias.	22
Figura 8 - Comprimento da parte aérea de explantes de <i>Arthrocereus glaziovii</i> , em relação a fonte de carboidrato aos 54 dias.	23
Figura 9 - Comprimento da raiz, número de raízes e número de gemas de explantes de <i>Arthrocereus glaziovii</i> . em relação a presença de luz, fonte de carboidrato e seccionamento do explante aos 85 dias.	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Objetivo geral.....	11
1.2	Objetivos específicos.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	A mineração de ferro no país.....	12
2.2	Ecofisiologia em Campo Rupestre Ferruginoso	12
2.3	Família Cactaceae.....	13
2.4	Aspectos botânicos e fisiológicos de <i>Arthrocereus glaziovii</i>	14
2.5	Micropropagação.....	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1	Material vegetal	16
3.2	Germinação e estabelecimento <i>in vitro</i>	16
3.3	Multiplicação.....	17
3.4	Aclimatização	19
3.5	Análise de dados.....	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5	CONCLUSÃO.....	26
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1 INTRODUÇÃO

Arthrocerus glaziovii (K. Schum.) N. P. Taylor & Zappi é uma espécie de cactus brasileira, endêmica do estado de Minas Gerais, de ocorrência exclusivamente em vegetação sobre afloramentos hematíticos (canga), ambientes que possuem diferentes micro-habitats, dentro de fitofisionomias distintas, que vão desde formações campestres até formações florestais e que figuram na lista de espécies ameaçadas de extinção do Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFLORA, 2022).

Os recursos que fazem parte da estratégia reprodutiva de *A. glaziovii*, como néctar, pólen e frutos, são consumidos por vários animais, como abelhas, mariposas, besouros, vespas, formigas, gafanhotos, beija-flores, morcegos, pássaros, mamíferos terrestres e lagartos, que auxiliam na dispersão dos propágulos da espécie (LÓPEZ; VALDIVIA, 2007).

Apesar de altamente adaptada às condições locais, alta transpiração, solo pobre em nutrientes, pH baixo, baixa retenção hídrica, alto teor de metais pesados e alumínio, alta concentração de ferro oxidado, amplitudes térmicas diárias acentuadas e incidência frequente de fogo, a espécie sofre constante pressão dos processos antrópicos, principalmente da mineração de ferro, sendo as subpopulações restantes normalmente muito pequenas, com tendência de decréscimo populacional (CNCFLORA, 2022). Além disso, por ocorrer próxima a cidades, ainda há pressão da expansão urbana, com efeito sobre seus polinizadores e dispersores, o que dificulta ainda mais a perpetuação da espécie.

Em complemento a importância ecológica, *A. glaziovii* também é considerada uma espécie com potencial para ser usada na recuperação dos campos rupestres ferruginosos (REZENDE, 2010), logo, o processo de produção de mudas se torna importante na utilização e recuperação de áreas com o uso da espécie.

Devido às condições extremas de ocorrência, as sementes dessa espécie também se adaptaram. Estas são fotoblásticas positivas, com temperatura ótima de germinação entre 20 e 30 °C, e sementes muito pequenas, leves, de germinação lenta e irregular, o que dificulta o processo de produção de mudas seminal (CHEIB, 2009). Dessa forma, o processo de produção clonal se apresenta como uma boa alternativa para se obter maior uniformidade e controle sobre as populações produzidas.

A micropropagação é uma alternativa viável para a multiplicação visando a conservação de recursos genéticos de plantas quando a utilização de sementes é dificultada. Por ser uma técnica de cultura de tecidos, permite obter maior sucesso da propagação vegetativa, com uma

menor incidência de doenças, independentemente do clima e da época do ano, desde que seja realizada com protocolo adequado (JUNGHANS; SOUZA, 2009).

Todavia, o sucesso da micropropagação depende de uma série de fatores, dos quais os componentes nutricionais do meio, fitorreguladores empregados, fatores genéticos, contaminação por microrganismos e período de cultivo *in vitro* são alguns dos mais importantes.

1.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi de estabelecer um protocolo para a micropropagação de *Arthrocerus glaziovii*.

1.2 Objetivos específicos

Avaliar a influência do meio de cultivo, concentração de regulador, fonte de carboidrato, presença e ausência de luz, posição de seccionamento para produção de brotações e aclimatização.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A mineração de ferro no país

O Anuário Mineral Brasileiro 2022, que retrata as principais substâncias metálicas em produção bruta beneficiada e comercializada no país, mostra que o Brasil produziu, somente no ano de 2021, 567.770.006 toneladas de minério de ferro bruto (ROM), sendo que dessa produção, 363.345.759 toneladas, ou seja, 64%, foi obtida somente no estado de Minas Gerais. Para se ter uma ideia do impacto desse setor, o mesmo anuário mostra que a produção comercializada de minério de ferro foi na casa dos 250 bilhões de reais neste ano.

O Anuário Mineral Estadual de Minas Gerais de ano base 2015, o mais recente durante a escrita deste trabalho, mostra que o estado de Minas Gerais ainda possui uma enorme quantidade de ferro lavrável, ou seja, “reserva técnica e economicamente aproveitável levando-se em consideração a recuperação da lavra, a relação estéril/minério e a diluição decorrentes do método de lavra” (AMEMG, 2019).

De toda essa produção e potencial de Minas Gerais quanto ao minério de ferro, observa-se que as minas de grande porte estão concentradas em somente uma região localizada no centro-sul do estado, chamada de Quadrilátero Ferrífero (AMEMG, 2019). A extração de minério nesta região gera uma brusca alteração da paisagem, com enormes impactos nas diversidades local e regional.

Assim, os programas de recuperação de áreas degradadas devem ser harmônicos com todas as etapas de mineração, não se restringindo ao término da exploração.

2.2 Ecofisiologia em Campo Rupestre Ferruginoso

Os ambientes de campos rupestres ferruginosos onde a espécie ocorre, também chamados de canga, apresentam condições ambientais particulares, o que propicia um alto grau de endemismo para espécies. Organismos que vivem nesses ambientes estão adaptados a altas temperaturas, exposição ultravioleta, ventos e baixa cobertura do solo (JACOBI *et al.*, 2007). Ainda, a alta transpiração, baixa retenção de água no solo, escassez de nutrientes e baixo pH do solo, alto teor de metais pesados e ferro oxidado e amplitudes térmicas diárias acentuadas, aumentam a pressão de seleção desses ambientes, fazendo com que somente espécies extremamente adaptadas possam se estabelecer (SILVA, 2013).

2.3 Família Cactaceae

A família Cactaceae possui cerca de 100 gêneros e 1850 espécies (NYFFELER; EGGLI, 2010). No Brasil, as espécies são localizadas, principalmente, ao leste do país, nos estados de Minas Gerais e Bahia (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Além disso, o Brasil é o terceiro maior centro de diversidade da família Cactaceae, com 37 gêneros e 275 espécies, dos quais 14 gêneros e 188 espécies são endêmicas, com grande porcentagem de espécies ameaçadas de extinção (GOETTSCHE *et al.*, 2015).

O gênero *Arthrocereus* A. Berger, ao qual a espécie desse trabalho é incluída, pertence à subfamília *Cactoideae*, tribo *Trichocereae*, e atualmente compreende seis táxons aceitos: *A. glaziovii* (K. Schum.) N.P. Taylor & Zappi, *A. melanurus* (K. Schum.) Diers, P.J. Braun & Esteves subsp. *melanurus*, *A. melanurus* subsp. *magnus* N.P. Taylor & Zappi, *A. melanurus* subsp. *odorus* (F. Ritter) N.P. Taylor & Zappi, *A. rondonianus* Backeb. & Voll e *A. spinosissimus* (Buining & Brederoo) Ritter. Está distribuído principalmente em Minas Gerais, com populações pontuais em São Paulo e no Mato Grosso.

As espécies de *Arthrocereus* ocupam habitats terrestres, rupícolas ou arenitos, onde crescem em arbustos ramificados na base ou solitárias e, frequentemente, têm um sistema subterrâneo desenvolvido, raízes tuberosas e com numerosas nervuras. As flores são brancas ou rosa, geralmente com antese noturna, estames em duas séries, formando uma coroa em torno do estigma. Os frutos são bagas, com pericarpelo espinescente, indeiscente ou com deiscência irregular e polpa funicular alva. Nativo e endêmico do Brasil, esse gênero pode ser encontrado em regiões de campo rupestre, carrasco, cerrado (*lato sensu*) e vegetação sobre afloramentos rochosos, com três espécies em Minas Gerais (TAYLOR; ZAPPI, 2004; HUNT, 2006; ZAPPI; TAYLOR, 2022).

Dentre as espécies deste gênero, a *Arthrocereus glaziovii* (K. Schum.) N. P. Taylor & Zappi ocorre nos campos rupestres ferruginosos do Quadrilátero Ferrífero e é considerada uma espécie com potencial para ser usada na recuperação desses ambientes, que está na lista de espécies ameaçadas de Minas Gerais (SKIRYCH *et al.*, 2014). Suas populações estão distribuídas nas áreas leste e sul de Belo Horizonte, região centro-sul de Minas Gerais (Brasil), em altitudes entre 1300 e 1750 m, com uma extensão aproximada de ocorrência de 1.000 km² (TAYLOR; ZAPPI, 2004).

2.4 Aspectos botânicos e fisiológicos de *Arthrocerus glaziovii*

Taylor e Zappi (2004) descrevem os aspectos botânicos e fisiológicos da espécie como:

Arthrocerus glaziovii (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi é uma espécie da família Cactaceae, endêmica ao Estado de Minas Gerais, e possui habitat restrito a Campo Rupestre ferruginoso do bioma Cerrado. Procumbente ou ereto, arbustivo, 20-30 cm de altura, caules raramente a 60 cm ou mais. Ramos de 3-4(-4,5) cm de diâmetro, eretos ou decumbentes, geralmente segmentados, às vezes perdendo o ponto de crescimento e os segmentos tornando-se muito curtos ou quase esféricos; epiderme verde escuro; costelas 10-16, 2-3 × 4-6 mm. Aréolas de 440 μm de diâmetro, 4 mm de distância, sentidas acinzentadas. Espinhos amarelo a marrom avermelhado escuro, espinhos centrais 4-8, robustos, o maior porrete, até 4 cm, radiais numerosos, finos a cerdosos e flexíveis, até 8 mm. Flores noturnas, 8-15 × 5-8,5 cm, docemente perfumadas; pericarpelo e tubo com poucas escamas triangulares com aréolas pilosas e poucos pelos claros; tubo 60-75 × 6-8 mm em seu ponto mais estreito, sulcado; segmentos externos do perianto até 30 × 6 mm, lineares, acuminados, carnosos, rosa acastanhado pálido ou esverdeados, fortemente refletidos; segmentos internos até 18 × 5 mm, lineares, agudos, delgados, delicados, creme ou esbranquiçados, eretos; estames em duas séries pouco distintas, a mais interna inserida a 2,5-3,5 cm acima do pericarpelo, com filamentos longos, a série mais externa no ápice do tubo, filamentos de 5 a 10 mm, anteras a 1,5 mm; lóculo do ovário 8-9 mm de diâmetro; estilo 5-9 cm, estigma-lóbulos 7-12, exsertido, 6 mm, delgado. Fruto globoso deprimido a obpiriforme, 2-3 cm de diâmetro; pericarpo marrom avermelhado, nu ou quase. Sementes c. 1,5-1,8(-2,2) mm, testa-células convexas, com pregas cuticulares.

2.5 Micropropagação

As plantas podem ser propagadas de forma sexuada ou assexuada. De forma sexuada as novas plantas surgem após a fusão de gametas que se desenvolvem a partir de embriões zigóticos contidos em sementes. Por sua vez, na propagação vegetativa (assexuada), utiliza-se partes da planta para se obter descendentes com as mesmas características da planta-mãe, chamados de clones (GEORGE *et al.*, 2008).

É uma técnica importante que pode ser utilizada para a produção de espécies nativas com risco de extinção, já que possibilita a rápida multiplicação a partir de um único indivíduo, em qualquer época do ano, com maior controle sobre possíveis contaminações do material propagado (THAKUR; KARNOSKY, 2007).

Por conseguinte, as principais vantagens da micropropagação são: utiliza-se partes muito pequenas das plantas, logo, é necessário menos espaço, maior controle sobre doenças, inclusive com métodos de controle de sanidade, controle dos fatores que influenciam a

propagação vegetativa, como nutrientes, reguladores de crescimento, luz e temperatura, o que permite produzir clones de plantas que são lentas e difíceis de se propagar. Ademais, a produção pode ocorrer durante todo o ano e o material armazenado por longos períodos (GEORGE *et al.*, 2008).

No entanto, as principais desvantagens englobam a exigência de uma instalação especializada para a micropropagação, geralmente associada a custos elevados. Além disso, são necessários métodos bastante específicos, uma vez que as plantas, inicialmente, dependem de uma fonte de carbono, comumente a sacarose, visto que ainda não sintetizam produtos suficiente por meio da fotossíntese (GEORGE *et al.*, 2008)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

O material vegetal utilizado foi sementes de plantas adultas de *Arthrocereus glaziovii* coletadas no Campo Rupestre Ferruginoso em 2021, na Unidade de Pesquisa e Inovação pertencente à Gerdau (GERDAU Açominas S.A.), localizada em Ouro Branco, Minas Gerais, Brasil, inoculadas *in vitro*, Laboratório de cultivo *in vitro* de espécies florestais, do departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras MG.

3.2 Germinação e estabelecimento *in vitro*

As sementes foram lavadas em água corrente por, aproximadamente, 5 minutos. Em seguida, as sementes foram imersas em solução de NaOCl à 2,0-2,5% (v/v) Clarix[®] diluída 50% em água deionizada, durante 5, 10 e 15 minutos, dentro da câmara de fluxo laminar horizontal. Finalmente, foram lavadas em água deionizada e autoclavada, por cinco vezes, sendo inoculadas sob condições assépticas, em tubos de ensaio (25 × 150 mm), contendo 10 mL do meio de cultura.

O meio de cultura básico utilizado no experimento foi MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) adicionados de 30 g L⁻¹ de sacarose (Synth Ltda), 6 g L⁻¹ de ágar (Merck S.A.) e 50 mg L⁻¹ de carvão ativado. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,05 previamente a adição do ágar. A autoclavagem do meio de cultura foi realizada à temperatura de 121°C e pressão de 1,0 kgf cm⁻², durante 20 minutos.

As sementes foram cultivadas em sala de crescimento a uma temperatura de 24 ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 40 μmol m⁻² s⁻¹ (quantificada por radiômetro, LI-COR[®], LI-250A Light Meter) em lâmpada fluorescente branca fria. Os subcultivos para a renovação do meio de cultura foram realizadas a cada 30 dias, sendo avaliado a porcentagem de germinação, oxidação e contaminação fúngica e bacteriana.

3.3 Multiplicação

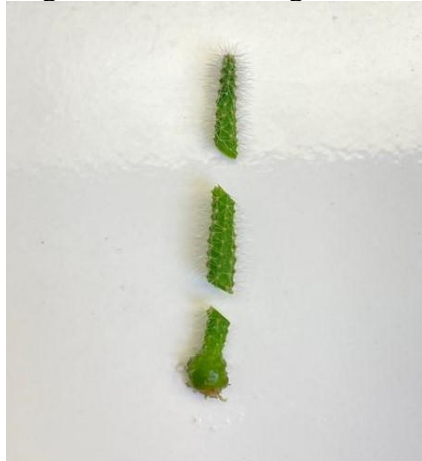
Após a germinação das sementes e estabelecimento *in vitro* aos 90 dias de cultivo, as plântulas foram padronizadas em 0,5 cm de comprimento (Figura 1) e inoculadas em tubos de ensaio (25 × 150 mm), contendo 10 mL do meio de cultura MS, suplementado com 6 g L⁻¹ de ágar, e 0,05 mg L⁻¹ de ácido α -naftalenoacético (ANA – Sigma®). Os demais suplementos foram de acordo com cada experimento, como descritos em seguida.

Foram realizados três experimentos durante o processo de multiplicação *in vitro*, sendo o primeiro feito em sistema fatorial duplo 2x2, avaliando dois meios de cultivo MS e WPM (suplementado com 20 g L⁻¹ de sacarose) e duas concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP – Sigma®), 0,5 e 1,0 mg L⁻¹, totalizando quatro tratamentos com 15 repetições. Foi realizado um subcultivo após 40 dias de instalação do experimento, sendo avaliado aos 85 dias, foram avaliadas sobrevivência, número de gemas (NGE), número de raízes (NR) e comprimento da parte aérea (CPA).

O segundo experimento avaliou diferentes carboidratos, sendo sacarose 15 g L⁻¹ e glicose 15 g L⁻¹, suplementado com 6 g L⁻¹ de ágar, 0,5 mg L⁻¹ de BAP e 0,05 mg L⁻¹ de ácido α -naftalenoacético (ANA – Sigma®), sendo avaliadas as seguintes características: sobrevivência, número de gemas (NGE), número de raízes (NR) e comprimento da parte aérea (CPA). Após 54 dias de instalado o experimento, cada tratamento foi composto de 38 repetições.

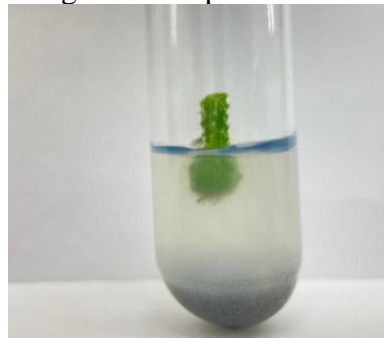
Já o terceiro experimento foi desenhado em sistema fatorial triplo 2x2x3, sendo duas fontes de carboidrato sacarose 15 g L⁻¹ e glicose 15 g L⁻¹, presença e ausência de luminosidade nos primeiros 15 dias e três posições de seccionamento do explante basal (Figura 2), mediana (Figura 3) e superior (Figura 4), totalizando 12 tratamentos com 5 repetições de cada tratamento. Foram avaliadas as seguintes características, após 54 dias de instalado (Figura 5) o experimento: sobrevivência, número de gemas (NGE), número de raízes (NR) e comprimento da maior raiz (CMR).

Figura 1 - Plântula segmentada.



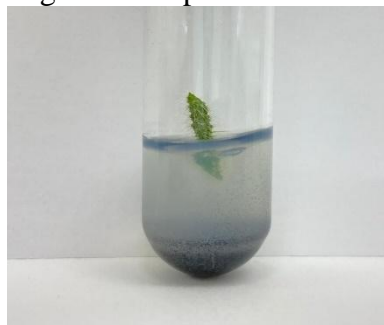
Fonte: Do autor (2023).

Figura 2 - Explante basal.



Fonte: Do autor (2023).

Figura 3 - Explante mediana.



Fonte: Do autor (2023).

Figura 4 - Explante superior.



Fonte: Do autor (2023).

Figura 5 - Material depois de multiplicado.



Fonte: Do autor (2023).

3.4 Aclimatização

As plântulas enraizadas *in vitro* foram repicadas para recipientes de plástico (Figura 6), contendo substrato comercial a base de casca de pinus de composta e vermiculita, os quais foram vedados com plástico filme. Aos sete dias, o plástico foi removido totalmente. Foi avaliado a sobrevivência aos 28 dias de aclimatização.

Figura 6 - Plântulas repicadas para o recipiente plástico.



Fonte: Do autor (2023).

3.5 Análise de dados

Em todos os experimentos mencionados, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) para verificação de normalidade e ao teste de Bartlett ($p > 0,05$) para homogeneidade de verificação de variância e, além destes, ao teste Box-Cox para transformação de dados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$) e os valores médios foram submetidos à análise de comparação de testes de Tukey ($p < 0,05$), sendo a variável sobrevivência feita análise descritiva.

Foi utilizado os *softwares* R (CORE TEAM, 2022) e RStudio (STUDIO TEAM, 2022), com auxílio dos pacotes *easyanova* (ARNHOLD, 2013), *nortest* (GROSS; LIGGES, 2015), *lawstat* (GASTWIRTH *et al.*, 2020) e *ggplot2* (WICKHAM, 2016).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies vegetais possuem diversas estratégias de sobrevivência e propagação de sementes, sendo que, conforme Levitt (1980), as estratégias variam de acordo com a umidade relativa do ar, fotoperíodo, temperatura e precipitação pluviométrica, além do bioma em que se encontra. Enquanto umas investem em quantidade, em alguns casos com baixa viabilidade, outras produzem pequena quantidade de sementes, contudo, com alta viabilidade.

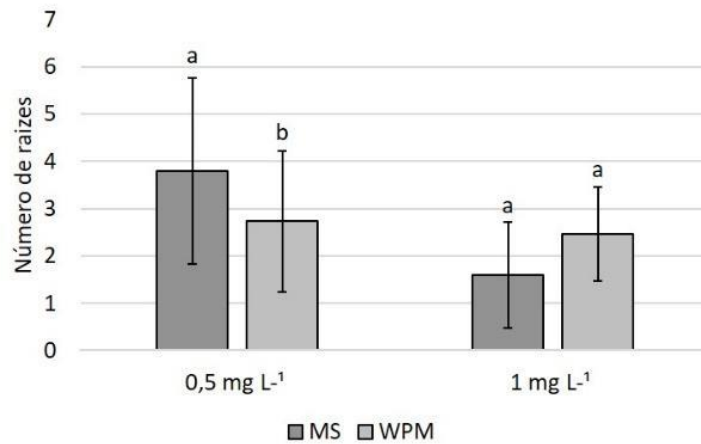
Em alguns cenários, a presença de microrganismos endógenos à semente e de difícil eliminação nos processos de assepsia acarreta o aparecimento de fungos e, em algumas circunstâncias, bactérias no meio de cultura. De maneira geral, esses organismos, podem afetar o potencial germinativo das sementes e promoverem a formação de plântulas anormais (BORGES JUNIOR *et al.*, 2004), além de consumir os nutrientes do meio de cultura, também consomem os tecidos das sementes no decorrer do tempo, prejudicando o estabelecimento *in vitro* da espécie.

No estabelecimento *in vitro* não houve diferença entre os tratamentos (tempo de imersão em NaOCl à 2,0-2,5% (v/v) Clarix®). Porém, o tratamento de cinco minutos, apresentou contaminação fúngica, resultando na morte de uma das sementes inoculadas.

Para os experimentos de multiplicação realizados com a espécie algumas variáveis, não apresentaram distribuição normal nem homogeneidade das variâncias e, devido a isso, nestas não foram aplicados testes de média ou feitas representações gráficas.

No primeiro experimento de multiplicação, foram testados o efeito dos meios de cultura WPM e MS em duas concentrações de BAP (0,5 e 1,0 mg L⁻¹) a fim de obter diferentes respostas morfogênicas. Das variáveis avaliadas, apenas o número de raízes (NR) foi significativo, sendo que os maiores valores foram observados para 0,5 mg L⁻¹ de BAP, além disso, nessa mesma concentração, o meio de cultura MS diferiu do meio WPM, mostrando maior média no número de raízes (Figura 7).

Figura 7 - Número de raízes de explantes de *Arthocereus glaziovii*, em relação ao meio de cultura e concentrações de BAP aos 85 dias.



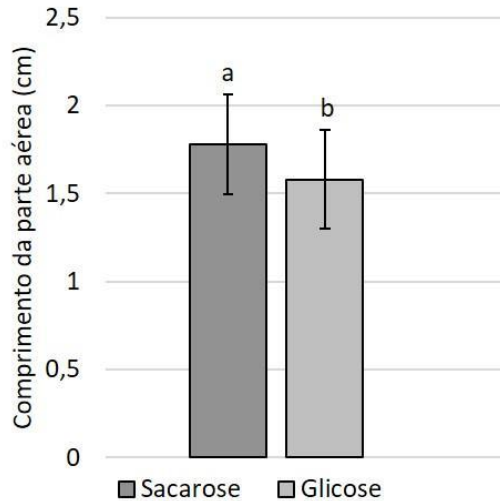
Fonte: Do autor (2023).

O meio de cultura MS em várias bibliografias se destaca pela maior quantidade de nitrogênio oferecido para o material cultivado e, de forma geral, apresenta bons resultados para a propagação de espécies vegetais (PORFÍRIO *et al.*, 2019). Em trabalhos com *Liquidambar styraciflua*, o cultivo em meio MS proporcionou maior comprimento das brotações emitidas, assim como aumento na massa fresca das brotações produzidas comparado ao meio WPM (BRONDANI *et al.*, 2010), em consonância com os resultados observados na multiplicação.

O número de raízes foi favorecido na concentração mais baixa de BAP, uma vez que menores concentrações do regulador não inibe a formação e alongamento das raízes, de forma que valores superiores a 0,5 favorecem, por exemplo, o aumento no comprimento e número de folhas como no cultivo de *Dimorphandra mollis* (MOLINARI *et al.* 2021).

No segundo experimento de multiplicação, foram testadas duas fontes de carboidrato, sacarose e glicose, no meio de cultura. Dentre as variáveis estudadas, somente o comprimento da parte aérea (CPA) apresentou diferença entre os tratamentos, sendo o meio de cultura enriquecido com sacarose o que apresentou os maiores valores (Figura 8).

Figura 8 - Comprimento da parte aérea de explantes de *Arthocereus glaziovii*, em relação a fonte de carboidrato aos 54 dias.

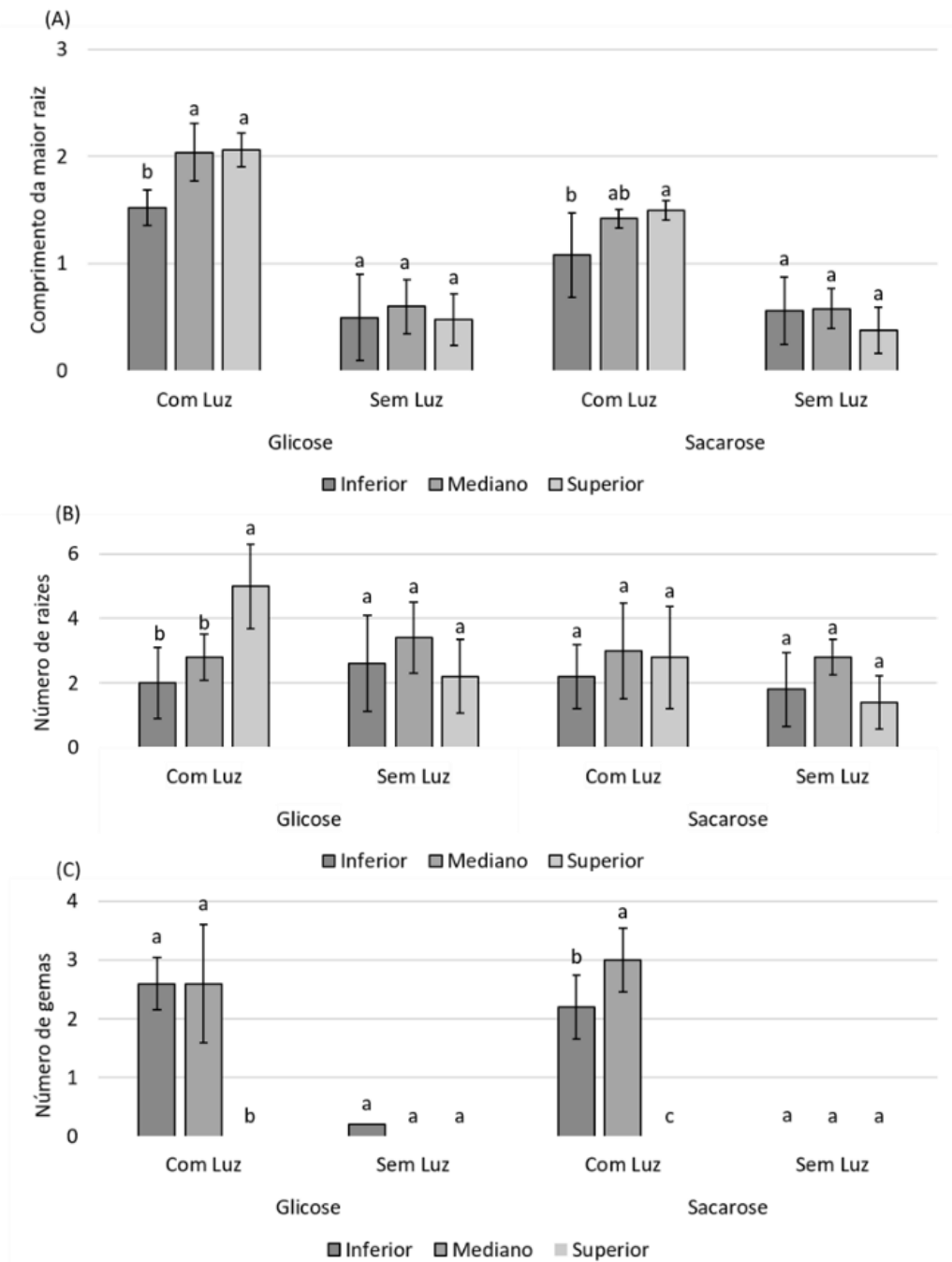


Fonte: Do autor (2023).

A sacarose é um carboidrato que auxilia nos processos morfogênicos, visto que fornece carbono para o crescimento celular. Assim, a adição de sacarose ao cultivo *in vitro* pode estimular o incremento de massa na parte aérea, favorecendo o crescimento, assim como visto para *Ocimum selloi* (MONFORT *et al.*, 2015), ou até mesmo maximizar a germinação, como elucidado em trabalhos com *Cannabis sativa* (HESAMI *et al.*, 2021). Já a glicose pode retardar alguns processos como ilustrado em plantas de trigo onde o florescimento foi atrasado (YAO *et al.*, 2017).

No terceiro experimento de multiplicação, foram testadas duas fontes de carboidrato (sacarose e glicose), presença e ausência de luminosidade e três posições de seccionamento do explante (basal, mediana e superior). Dentre as variáveis avaliadas, três apresentaram resultados significativos entre os tratamentos, sendo elas o comprimento da maior raiz (mm)(CMR), o número de raízes (NR) e o número de gemas (NGE) (Figura 9).

Figura 9 - Comprimento da raiz, número de raízes e número de gemas de explantes de *Arthrocerus glaziovii*. em relação a presença de luz, fonte de carboidrato e seccionamento do explante aos 85 dias.



Fonte: Do autor (2023).

Para a variável CMR, os maiores valores foram observados para explantes da porção média e superior nos tratamentos com uso de glicose e na presença de luz. Para a variável NR, também nos tratamentos com uso de glicose e na presença de luz, foi possível obter maior número de raízes, sendo o explante da porção superior com a maior média de número de raízes observadas enquanto, para o número de gemas (NGE), a luminosidade novamente favoreceu

positivamente, porém, nestes as porções inferior e mediana produziram maior número de gemas, com a porção mediana se destacando na presença de sacarose.

Dentro da planta, a variação de reguladores e as respostas morfológicas podem variar de espécie conforme a idade ontogenética do material. A porção mediana e superior apresentou as melhores respostas, onde podemos destacar que os fatores intrínsecos ao material favoreceram o crescimento de raízes e brotos.

A presença de luz se mostrou indispensável para a micropropagação da espécie por se tratar de uma planta que germina e cresce com maior luminosidade, assim como nos trabalhos com *Cereus jamacaru*, (CASSIMIRO *et al.*, 2022), a ausência de luz não favoreceu a germinação e crescimento da espécie.

Para a aclimatização o sistema de aclimatização apresentou-se eficiente na aclimatização das mudas produzidas *in vitro*, da espécie, *Arthocereus glaziovii*, resultando em 93,5% de sobrevivência.

5 CONCLUSÃO

As sementes germinadas não diferiram quanto aos tratamentos testados, podendo ser utilizados o menor tempo de exposição a fim de otimizar a introdução *in vitro*.

As posições do explante mediana e superiores favoreceram o surgimento de raízes e brotos, enquanto a posição inferior favoreceu apenas para formação de brotos. Em relação ao comprimento de parte aérea, as posições medianas e superiores foram as de melhor resultado sendo essas as mais indicadas para multiplicar as brotações da espécie. Quanto a fonte de carboidrato, a presença de sacarose favoreceu o crescimento da parte aérea das plantas. A presença de luz foi indispensável, sendo uma característica da espécie.

Quanto a obtenção de maior número de raízes ao meio de cultivo MS, juntamente a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, apresentaram os melhores resultados.

O sistema de aclimatização mostrou-se bastante eficiente, apresentando uma sobrevivência de 95,5% do material.

Consequentemente, podemos dizer que o protocolo de micropropagação da espécie pode ser desenvolvido e obteve resultados satisfatórios e, portanto, a multiplicação da espécie por cultivo *in vitro* apresenta ótimos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNHOLD, E. *et al.* Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 6, p. 488-492, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v50i6p488-492>. Acesso em: 25 jul 2022.
- Arthrocereus glaziovii* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi. **Centro Nacional de Conservação da Flora**, 2013. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Arthrocereus%20glaziovii>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- BRASIL. Agência Nacional de Mineração. **Anuário Mineral Estadual - Minas Gerais (AMEMG)** / Coord. Técnica de Marina Dalla Costa *et al.*; Equipe Técnica por Carlos Antônio Gonçalves de Jesus *et al.* – Brasília: ANM, 2019. 48 p.
- BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Departamento Nacional da Produção Mineral. **Anuário Mineral Brasileiro**. v. 2022, ano base 2021.
- BORGES JÚNIOR, N.; SOBROSA, RECORDER, N. P. M. Multiplicação in vitro de gemas axilares de acácia-negra (*Acacia mearnsii* de Willd.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 004, p. 493-497, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622004000400004>. Acesso em: 10 out 2023.
- BRONDANI, G. E. Mini-cuttings technique: a new ex vitro method for clonal propagation of sweetgum. **New Forests**, v. 39, p. 343-353, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11056-009-9175-2>. Acesso: 10 ago 2023.
- CASSIMIRO, C. A. L. *et al.* **Aclimação de *Cereus jamacaru* dc. em diferentes substratos e níveis de irrigação propagado sexualmente por cultivo in vitro**. Dissertação (Mestre em Ciências Agrárias) - Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras, 2022.
- CHEIB, A. L. **Ecologia da germinação e potencial para formação de banco de sementes de espécies de *Arthrocereus* A. Berger (Cactaceae) endêmicas dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil**. 2009. 32f. Dissertação (Mestre em Biologia Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- GASTWIRTH, J. L. *et al.* **Lawstat**: tools for biostatistics, public policy, and law. R package, 2023.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. de. Micropropagation: uses and methods. In: GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. 3. ed. Dordrecht: Springer, 2008. p. 29-64.
- GOETTSCHE, B. *et al.* High proportion of cactus species threatened with extinction. **Nature plants**, v. 1, n. 10, p. 1-7, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nplants2015142>. Acesso em: 27 jul 2022.

- GROSS, J.; LIGGES, U. **Nortest**: Tests for Normality. R package version 1.0-4. 2015. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/nortest/index.html>. Acesso em: 22 jul 2022.
- HESAME, M. *et al.* Modeling and optimizing *in vitro* seed germination of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 110, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113753>. Acesso em: 02 set 2023.
- HUNT, D. **The new cactus lexicon**: descriptions & illustrations of the cactus family. Compiles and edited by members of the International Cactaceae Systematic Group. England. 1. ed. *E-book* (373p.). 2006. ISBN: 9780953813445.
- JACOBI, C. M. *et al.* Plant communities on ironstone outcrops: a diverse and endangered Brazilian ecosystem. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, n. 7, p. 2185-2200, 2007. DOI: 10.1007/s10531-007-9156-8.
- JESUS, C. A. G. Ferro/Aço. **Economia mineral do Brasil-2009**. Brasília, DF: Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), 2009.
- JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. da. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. 385p.
- LÓPEZ, R. P.; VALDIVIA, S. The importance of shrub cover for four cactus species differing in growth form in an Andean semi-desert. **Journal of Vegetation Science**, v. 18, n. 2, p. 263-270, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2007.tb02537.x>. Acesso em: 25 jul 2022.
- MOLINARI, L. V. *et al.* Óleos essenciais e benzilaminopurina (BAP) para o cultivo *in vitro* de *Dimorphandra mollis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 41, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4336/2021.pfb.41e201901926>. Acesso em: 20 set 2023.
- MONFORT, L. E. F. *et al.* Micropropagação e germinação de sementes *in vitro* de atoveran. **Revista Ceres**, v. 62, n. 2, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201562020012>. Acesso em: 20 set 2023.
- NYFFELER, R.; EGGLI, U. A farewell to dated ideas and concepts: molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. **Schumannia**, v. 6, p. 109-149, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.5167/uzh-43285>.
- PORFÍRIO, K. de P. *et al.* Multiplicação *in vitro* de *Xylopiya aromatica* em diferentes meios de cultura e concentrações de BAP. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 39, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.4336/2019.pfb.39e201901895>.
- R. CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2022. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 15 ago 2022.
- REZENDE, L. A. L. de. **Reabilitação de campos ferruginosos degradados pela atividade minerária no Quadrilátero Ferrífero**. 2010. 63 f. Dissertação (Mestre em Fertilidade do

solo e nutrição de plantas; Gênese, Morfologia, e Classificação, Mineralogia, Química) – Universidade de Viçosa, Viçosa, 2010.

SILVA, W. A. **Gradiente vegetacional e pedológico em complexo rupestre de quartzito no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brasil**. 2013. 90 f. Dissertação (Título de Magister Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SKIRYCZ, A, *et al.* Canga biodiversity, a matter of mining. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 653, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00653>. Acesso em: 25 jul 2023.

STUDIO TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Boston, MA, 2022. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 15 ago 2022.

TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. Cacti of eastern Brazil. Royal Botanic Gardens, Kew. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 61, n. 2-3, p. 198-201, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/S0960428605280277>. Acesso em: 28 jul 2022.

THAKUR, R. C.; KARNOSKY, D. F. Micropropagation and germplasm conservation of Central Park Splendor Chinese elm (*Ulmus parvifolia* Jacq. ‘A/Ross Central Park’) trees. **Plant Cell Reports**, v. 26, n. 8, p. 1171-1177, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0334-7>. Acesso em: 22 jul 2022.

WICKHAM, H. **ggplot2: elegant graphics for data analysis** New York: Springer-Verlag, 2016.

YAO, Y. *et al.* A fully in vitro protocol towards large scale production of recombinant inbred lines in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 128, p. 655-661, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1145-8>. Acesso em: 10 ago 2023.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.P. *Cactaceae* Juss. **REFLORA**, [s.d.]. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB70>. Acesso em: 28 jul. 2022.