

**Germinação e crescimento de plântulas *in vitro* de *Pilosocereus pachycladus* Ritter
(Facheiro) submetidos em diferentes meios de cultivo**

**Germination and seedling growth *in vitro* of *Pilosocereus pachycladus* Ritter (Facheiro)
submitted to different culture media**

**Germinación *in vitro* y crecimiento de plántulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter
(Facheiro) enviado a diferentes medios de cultivo**

Recebido: 07/08/2020 | Revisado: 16/08/2020 | Aceito: 26/08/2020 | Publicado: 29/08/2020

José Edson Lourenço dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5742-2461>

Universidade Estadual da Paraíba, Brasil

E-mail: edsonlourencosantos17@gmail.com

Lais Tomaz Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3541-8795>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: laistomazpe@hotmail.com

Naysa Flávia Ferreira Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4857-3874>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: naysafn@gmail.com

Resumo

A versatilidade produtiva do facheiro associada a disponibilidade natural da espécie ocasionam uma exploração sem planejamento. Consequentemente, poucos estudos tem sido desenvolvidos sobre a conservação e manutenção da espécie, principalmente na Região Nordeste. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do meio simplificado e do agente gelificante alternativo, amido de milho, na germinação *in vitro* de *Pilosocereus pachycladus*. As sementes foram desinfestadas e inoculadas em meio de cultivo contendo fertilizantes comerciais, suplementados com sacarose, e gelificados com ágar e amido de milho. Os tratamentos: sais completo de Calcinit® e Kristalon® e gelificado com ágar - CKAG; metade dos sais de Calcinit® e Kristalon® e gelificado com ágar - MCKAG; sais completo de Calcinit® e Kristalon® e gelificado com amido de milho - CKAM; metade dos sais de

Calcinit® e Kristalon® e gelificado com amido de milho - MCKAM. O meio CKAG promoveu menor percentual de contaminação 20%. E os meios CKAM e MCKAM obtiveram 67 e 75% para percentual de germinação respectivamente. As maiores médias para altura da parte aérea foi para os meios CKAM e CKAG com 0,32 e 0,30 cm respectivamente. E para o comprimento da raiz o maior valor foi para o meio CKAG com 0,65 cm. Não houve efeito significativo na aclimação das plântulas para os tratamentos. Diante os resultados obtidos sugere-se a utilização do amido de milho em meios de cultura como uma excelente alternativa na germinação *in vitro* de *P. pachycladus*, proporcionando redução nos custos e um percentual de germinação satisfatório.

Palavras-chave: Cactáceas; Fertilizantes; Amido de milho, Produção de facheiro, Conservação biológica.

Abstract

The productive versatility of the facheiro associated with the natural availability of the species causes an exploration without planning. Consequently, few studies have been carried out on the conservation and maintenance of the species, mainly in the Northeast Region. The aim of the present study was to evaluate the effect of the simplified medium and the alternative gelling agent, corn starch, on the *in vitro* germination of *Pilosocereus pachycladus*. The seeds were disinfected and inoculated in a culture medium containing commercial fertilizers, supplemented with sucrose, and gelled with agar and corn starch. The treatments: complete salts of Calcinit® and Kristalon® and gelled with agar - CKAG; half of the Calcinit® and Kristalon® salts and gelled with agar - MCKAG; complete salts of Calcinit® and Kristalon® and gelled with corn starch - CKAM; half of the Calcinit® and Kristalon® salts and gelled with corn starch - MCKAM. The CKAG medium promoted a lower percentage of contamination by 20%. And the CKAM and MCKAM media obtained 67 and 75% for germination percentage, respectively. The highest averages for aerial part height were for the CKAM and CKAG media with 0.32 and 0.30 cm, respectively. And for the length of the root, the highest value was for the CKAG medium with 0.65 cm. There was no significant effect on seedling acclimatization for treatments. In view of the results obtained, it is suggested the use of corn starch in culture media as an excellent alternative for *in vitro* germination of the *P. pachycladus*, providing cost reduction and a satisfactory germination percentage.

Keywords: Cacti; Fertilizers; Corn Starch, Facheiro Production, Biological conservation.

Resumen

La versatilidad productiva del facheiro asociada con la disponibilidad natural de la especie provoca una exploración sin planificación. En consecuencia, se han realizado pocos estudios sobre la conservación y el mantenimiento de la especie, principalmente en la región noreste. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del medio simplificado y el agente gelificante alternativo, el almidón de maíz, sobre la germinación in vitro de *Pilosocereus pachycladus*. Las semillas fueron desinfectadas e inoculadas en un medio de cultivo que contenía fertilizantes comerciales, suplementados con sacarosa y gelificados con agar y almidón de maíz. Los tratamientos: sales completas de Calcinit® y Kristalon® y gelificadas con agar - CKAG; la mitad de las sales de Calcinit® y Kristalon® y gelificadas con agar - MCKAG; sales completas de Calcinit® y Kristalon® y gelificadas con almidón de maíz - CKAM; mitad de las sales de Calcinit® y Kristalon® y gelificado con almidón de maíz - MCKAM. El medio CKAG promovió un menor porcentaje de contaminación del 20%. Y los medios CKAM y MCKAM obtuvieron 67 y 75% para el porcentaje de germinación, respectivamente. Los promedios más altos para la altura de la parte aérea fueron para los medios CKAM y CKAG con 0.32 y 0.30 cm, respectivamente. Y para la longitud de la raíz, el valor más alto fue para el medio CKAG con 0,65 cm. No hubo un efecto significativo en la aclimatación de plántulas para los tratamientos. En vista de los resultados obtenidos, se sugiere el uso de almidón de maíz en medios de cultivo como una excelente alternativa en la germinación in vitro de las *P. pachycladus*, proporcionando una reducción de costos y un porcentaje de germinación satisfactorio.

Palabras clave: Cactus; Fertilizantes; Almidón de maíz, Producción de facheiro, Conservación biológica.

1. Introdução

A região semiárida do nordeste do Brasil é rica em biodiversidade vegetal e é representada principalmente pela vegetação da caatinga (Albuquerque et al., 2009), local caracterizado por altas temperaturas e irregularidades pluviométricas com longos períodos de estiagem. Nessa região, os recursos florestais vêm sofrendo um processo de degradação acelerado devido à exploração não sustentável (Gariglio et al., 2010), com índices de degradação por volta de 50% (IPCC, 2020), ocasionando redução na produção agrícola e consequente escassez de alimentos para subsistência humana e animal (Souza & Pacheco, 2019).

A Caatinga possui uma extensão de 844.453 km², entre as formações vegetais brasileiras é a mais desvalorizada, carente de estudos fitogenéticos e investimentos governamentais (Giulietti et al., 2004; Sousa & Honório, 2020). Sua extensão cobre a maior parte da região semiárida politicamente definida como do Nordeste do Brasil, e uma pequena área localizada no norte de Minas Gerais, definida politicamente como polígono das secas. A vegetação predominante na região é a caducifólia, que abrange uma grande diversidade de espécies endêmicas, Giulietti et al. (2002) lista 18 gêneros e 318 espécies, pertencentes a 42 famílias. Dentre estas, a família Cactaceae possui 41 espécies endêmicas (Taylor & Zappi, 2002).

A família Cactaceae compreende aproximadamente 130 gêneros e 2000 espécies que eram originalmente nativas do Novo Mundo (Abouseadaa et al., 2020), a maior diversidade Brasileira se encontra na região de Caatinga semiárida e no Cerrado sazonal (Medeiros et al., 2017), sendo 44 espécies endêmicas. Dentre estas, destaca-se as o *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber) Byles & G.D. Rowley subsp. *gounellei* e *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter subsp. *pernambucoensis* (F. Ritter) Zappi (Brito Cavalcanti et al., 2007; Silva, 2015).

O facheiro tem grande importância para recurso forrageiro na época de seca (Alves et al., 2014; Nunes et al., 2015), é utilizado como combustível (óleo e lenha) (Alves et al., 2014; Lucena et al., 2013; Nascimento et al., 2011), na construção de cercas (Nascimento et al., 2009; Albuquerque et al., 2009), machados, canoas, porteiras (Lucena et al., 2013) e também é utilizado na culinária em comunidades rurais para fabricação de biscoitos, bolos e doces (Brito-Filho et al., 2017). Além de seu popular uso medicinal, utilizando as raízes para o tratamento de inflamação prostática, a decocção do caule contra infecções urinárias, gripe e furúnculo (Lucena et al., 2013).

A versatilidade produtiva associada à disponibilidade natural da espécie ocasionam uma exploração sem planejamento consequentemente poucos estudos tem sido desenvolvidos sobre a conservação e manutenção da espécie, principalmente na Região Nordeste (Abud et al., 2012; Goettsch et al., 2015). Para estudos dessa natureza uma etapa que não pode ser ignorada é a germinação de sementes sabe-se que a dispersão do facheiro ocorre por meio da avifauna (Abud et al., 2010), entretanto, muitas sementes não germinam, sendo mortas por animais e patógenos ou ainda pelas condições ambientais desfavoráveis (Mascote-Gómez et al., 2020). Os animais frugívoros desempenham um papel importante na manutenção da

diversidade através da dispersão de sementes, nesse sentido, as cactáceas apresentam frutos com características bem atrativas e ainda constituem uma fonte essencial de alimento por ocorrerem em períodos de escassez alimentar, suprimindo as necessidades energéticas de vários grupos de animais (Santos et al., 2019).

Portanto estudos sobre a germinação de sementes auxiliam na conservação desse recurso natural, possibilitando a obtenção de plantas através da propagação diminuindo a necessidade da coleta de material na natureza (Medeiros et al., 2017). Nesse contexto, a técnica de cultivo *in vitro* vem sendo empregada com êxito para propagação em diferentes espécies de cactáceas (Civatti et al., 2017; Torres-Silva et al., 2018). A técnica tem potencial para produzir uma grande quantidade de plantas em um curto espaço de tempo e em espaço reduzido (Hubstenberger et al., 1992). Além disso, a propagação *in vitro* permite o estabelecimento de protocolos que permitem a multiplicação e estabelecimento de bancos de germoplasmas garantindo a conservação da espécie (Pérez-Molphe-Balch et al., 2015).

Apesar das vantagens, a técnica possui alto custo devido à utilização de meios de cultivo tradicionais. Estudos sobre a simplificação desses meios tem o intuito de substituir os componentes essenciais dos meios tradicionais por suprimentos mais baratos que não alterem a qualidade do cultivo *in vitro* e permitam maior lucratividade. Dentre os componentes que vem sendo testado os fertilizantes comerciais demonstraram resultados satisfatórios na produção de mudas (Sasamori et al., 2015). Outro componente que onera o custo do meio de cultura é o agente gelificante, dentre os mais utilizados no cultivo *in vitro* destaca-se o ágar, e é como fonte de substituição a este que os amidos de diferentes espécies vegetais vem sendo estudado (Romy et al., 2006). O amido de milho tem apresentado resultados satisfatórios na germinação, pois além de reduzir os custos, apresenta consistência e turbidez, favorecendo o enraizamento *in vitro* (Souza et al., 2012).

Nosso objetivo foi avaliar o efeito do meio simplificado e do agente gelificante alternativo, amido de milho, na germinação *in vitro* de *Pilosocereus pachycladus*.

2. Metodologia

Este estudo usou pesquisas de laboratório, e a natureza do trabalho é quantitativa (Pereira et al., 2018).

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

Os frutos de *P. pachycladus* foram obtidos de plantas adultas, provenientes da Estação Experimental do Instituto Nacional do Semiárido (INSA), localizado em Campina Grande-PB. As sementes foram obtidas através da extração dos frutos, que foi realizada mediante retirada da polpa friccionando-a em uma peneira metálica sob água corrente até a eliminação total da polpa, posteriormente foram secas à sombra em temperatura ambiente.

As sementes foram desinfestadas em álcool (70%), por um minuto, seguido da imersão em hipoclorito de sódio (2,5%) por 15 minutos e, por fim foi realizado o triplice enxague em água destilada estéril. Após essa etapa, as sementes foram inoculadas em recipientes de plásticos contendo 30 mL de cada tipo de meio de cultivo simplificado: sais dos fertilizantes comerciais Calcinit® e Kristalon® laranja (NPK 6-12-36) ($0,42 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,37 \text{ g.L}^{-1}$) com concentração total e metade dos sais dos fertilizantes comerciais Calcinit® e Kristalon® laranja ($0,21 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,185 \text{ g.L}^{-1}$). Os meios foram suplementados com 30 g.L^{-1} de sacarose, o pH ajustado para $5,7 \pm 2$, e em seguida gelificados com $6,5 \text{ g.L}^{-1}$ de ágar e 60 g.L^{-1} de amido de milho.

Os meios foram esterilizado quimicamente com hipoclorito de cálcio $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ à 0,01%. Posteriormente os recipientes contendo as sementes foram mantidos em sala de crescimento a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16h de luz (Rêgo et al., 2009). O experimento foi mantido sob essas condições por 60 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 5 repetições e 4 tratamentos (Tabela 1). A unidade experimental constou de um recipiente contendo 30 mL de meio de cultivo e 20 sementes.

Tabela 1. Tratamentos testados no cultivo *in vitro* de *Pilosocereus pachycladus*.

Tratamentos	Componentes do meio		
	Sais Minerais (g.L ⁻¹)		Agente gelificante
CKAG	1 Calcinit® (0,42)	1 Kristalon® (0,37)	Ágar ¹
CKAM	1 Calcinit® (0,42)	1 Kristalon® (0,37)	Amido de milho ²
MCKAG	½ Calcinit® (0,21)	½ Kristalon® (0,185)	Ágar ¹
MCKAM	½ Calcinit® (0,21)	½ Kristalon® (0,185)	Amido de milho ²

¹ Ágar - 6,5g.L⁻¹; ² Amido de milho - 60 g.L⁻¹

Fonte: Autores.

As avaliações iniciaram-se aos sete dias após a inoculação de sementes, e foi realizada a contagem, durante sete dias seguidos, do número de sementes que houve a protusão da radícula em cada tratamento para avaliação do percentual de germinação (%G):

$$\%G = \frac{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas}}{N^{\circ} \text{ de sementes inoculadas}} \times 100$$

O percentual de contaminação (%C) foi obtido aos 30 dias após a inoculação, utilizando a fórmula:

$$\%C = \frac{N^{\circ} \text{ de frascos contaminados}}{\text{Total de frascos inoculados}} \times 100$$

As mensurações referentes à altura da planta (cm) e o comprimento da maior raiz (cm) foram obtidos pela medição direta com régua graduada 60 dias após a inoculação.

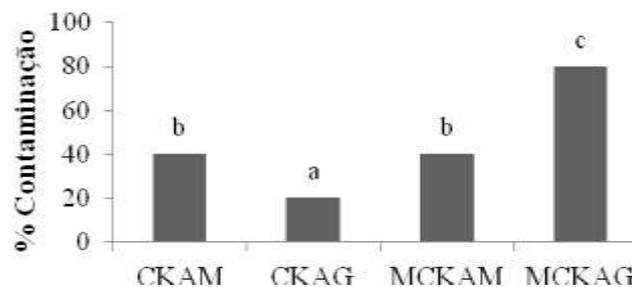
As plantas obtidas da introdução *in vitro* foram aclimatizadas em bandejas de polietileno de 200 células com 4,5 cm de profundidade, nas quais continham 30 % areia grossa lavada, 20% de húmus esterco curtido, 50% de substrato vegetal triturado. Foram mantidas em estufa com filme plástico transparente em temperatura ambiente, e regada manualmente com uma piseta, aproximadamente 10 mL em cada célula, no horário da manhã, a cada dois dias. As avaliações realizadas foram altura da planta (cm) e comprimento da maior raiz (cm).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2014).

3. Resultados e Discussão

O meio MCKAG promoveu maior percentual de contaminação (80%) no estabelecimento *in vitro* de *P. pachycladus* seguido dos meios MCKAM e CKAM (40%) e CKAG (20%) (Figura 1). Estudos feito por Barbosa et al. (2020) e Batista et al. (2017) comprovaram maior percentual de contaminação em meio MS, comparado com meios com fertilizante Kristalon® e B&G - Flores®, os autores relataram que a contaminação por microorganismos é estimulada pela quantidade de sais e açúcar presentes no meio de cultivo (Barbosa et al., 2020). Neste trabalho, não foi observado efeito negativo com a utilização do gelificante amido de milho, este apresentou baixo percentual de contaminação.

Figura 1. Percentual de contaminação em sementes de *P. pachycladus* inoculado em diferentes meios de cultura.

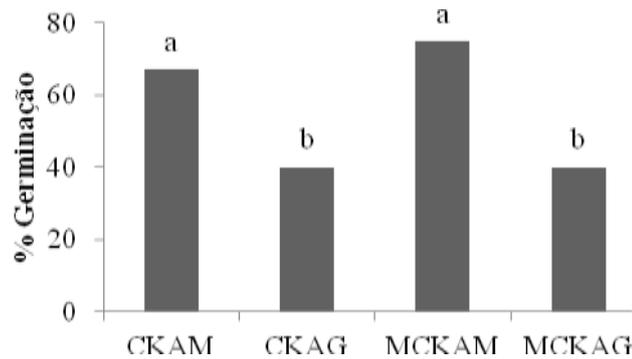


Os meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey $p \leq 0,05$.
Fonte: Autores.

A germinação de *P. pachycladus* iniciou nos primeiros sete dias após a inoculação para todos os tratamentos, o fim da mesma se deu por volta de 15 dias após inoculação. Os maiores percentuais de germinação foram observados nos meios que foram gelificados com amido de milho, com percentual de sais completo (CKAM) e pela metade (MCKAM) (67 e 75% respectivamente), quando comparados com os meios gelificados com ágar CKAG e MCKAG (40%) (Figura 2). Lucyszyn et al. (2007) afirmaram que o amido pode ser facilmente metabolizado pelas α -amilases presentes no meio, resultando em uma diminuição gradual na consistência do meio durante o período de cultura, portanto a disponibilidade de água para estes meios de cultivo deve ter facilitado a germinação das sementes. Resultados obtidos por Martín et al. (2013) comprovaram que a substituição parcial do ágar por fécula de batata promoveu menor capacidade de gelificação do meio de cultura. E Mohamed et al.

(2010) obtiveram resultados satisfatórios na micropropagação de batata com a substituição total e parcial do ágar por amido de milho e amido de batata. Os sais e açúcares dos meios de cultivo *in vitro* exercem efeito nutritivo e osmótico influenciando no crescimento celular e na morfogênese, portanto a concentração dessas substâncias influencia na absorção de água, principalmente na fase de embebição (Fermino & Scherwinski-Pereira, 2012; Pierine et al., 2019). Portanto meios com potencial osmótico maior tendem a reduzir a disponibilidade de água nos meios e dificultam a germinação das sementes (Lemes et al., 2016).

Figura 2. Percentual de germinação em sementes de *P. pachycladus* inoculado em diferentes meios de cultura.



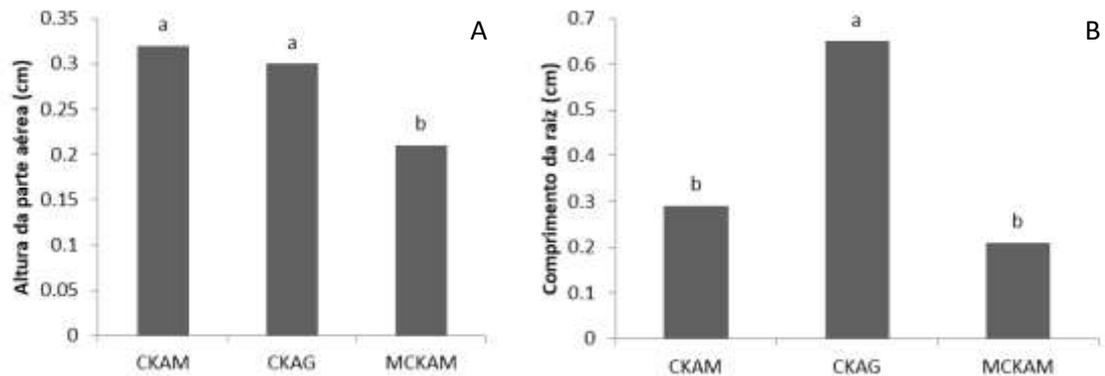
Os meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey $p \leq 0,05$.
Fonte: Autores.

No presente estudo, o percentual de contaminação para todos os tratamentos é considerado alto quando comparado com outros estudos realizados com cactáceas (Correia et al., 2011; Correia et al., 2018; Martínez et al., 2016; Guimarães et al., 2016). Portanto a assepsia química do meio pode não ter sido eficiente para o presente estudo por ter apresentado valores acima de 50% de contaminação, pois os trabalhos com resultados satisfatórios com cactáceas utilizam a esterelização física em autoclave. Com isso o alto percentual de contaminação do tratamento MCKAG ocasionou a perda de muitas plântulas, não restando plântulas suficiente para a continuação deste tratamento nas outras etapas do estudo, ficando apenas os tratamentos CKAM, CKAG e MCKAM.

As maiores médias encontradas para altura da parte aérea foi encontrada para os meios CKAM e CKAG com 0,32 e 0,30 cm respectivamente. E o menor valor foi para o meio MCKAM com 0,21 cm (Figura 3a). E para o comprimento da raiz o maior valor foi para as plântulas cultivadas no meio CKAG com 0,65 cm, seguido dos meios CKAM e MCKAM com 0,29 e 0,21 cm respectivamente (Figura 3b). Demonstrando que o meio com CKAG proporcionou melhor desenvolvimento das plântulas, conseqüentemente o amido de milho não proporcionou bom desenvolvimento da raiz interferindo no desenvolvimento da parte aérea. Sabe-se, que as cactáceas se desenvolvem em solos com elevada concentração de sais (Pizzetti, 1992), sendo assim meios com maior quantidade de sais proporcionam maior desenvolvimento, estudos com outras espécies de cactáceas, como *Astrophytum myriostigma* (Santos et al., 2001) e *Mammillaria candida* fue (Elías-Rocha et al., 1998), comprovam este comportamento. A resposta de crescimento da parte aérea para os meios com sais completos

(CKAM e CKAG) deve ser explicada pela maior concentração de sais nestes, quando comparado com o meio com sais reduzidos. (MCKAM).

Figura 3. Efeito da concentração do fertilizante e do agente gelificante no meio de cultura na altura da parte aérea (A) e no comprimento da raiz (B) de *P. pachycladus* cultivadas *in vitro*.

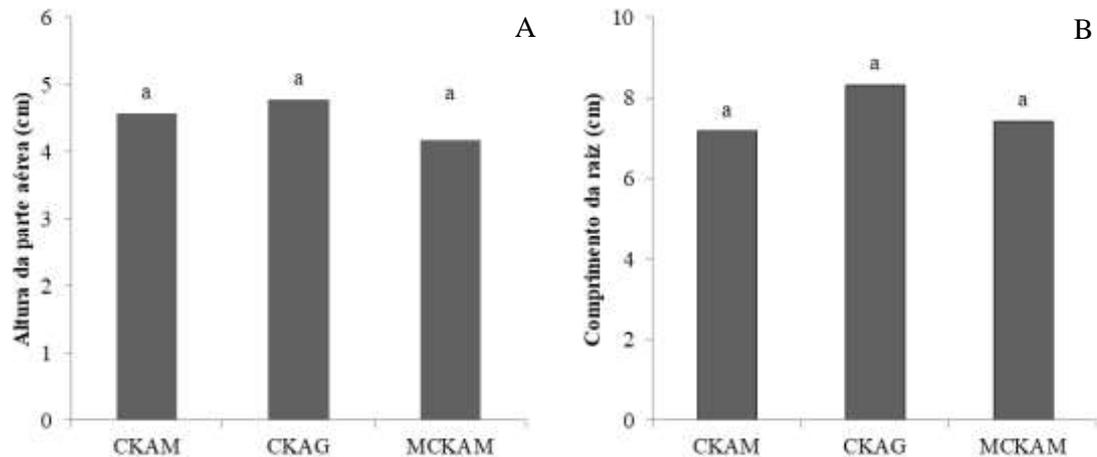


Os meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey $p \leq 0,05$.
Fonte: Autores.

Mohamed et al. (2010) observaram em seu estudo que após quatro semanas de cultivo houve uma acidificação do meio de cultivo nos meios que continha amido de milho, e ressaltou que houve redução no crescimento das plântulas e poderia ser devida à redução do potencial hídrico da planta, abaixo do valor limite para a expansão celular. O que não ocorreu neste trabalho, que pode ser explicado pelo tipo de esterilização química do meio de cultivo, não interferindo na estrutura do meio com amido de milho. O meio de cultura é usado para atender às necessidades nutricionais dos explantes e está diretamente relacionado com o crescimento em comprimento (Cañal et al., 2001) e os elementos mais importantes para a manutenção de crescimento dos explantes são o nitrogênio e o potássio (Jiménez & Agramonte, 2013) por isso a substituição de nutrientes de meio básico por fertilizantes comerciais são eficazes e trazem resultados satisfatórios (Jiménez-Rivera & Montero-Carmona, 2019).

As concentrações dos fertilizantes e os agentes gelificantes não tiveram efeito significativo na aclimatação das plântulas (Figura 4), que foi adaptada com sucesso às condições da casa de vegetação, com uma taxa de sobrevivência de 100%.

Figura 4. Efeito da concentração do fertilizante e do agente gelificante no meio de cultura na altura da parte aérea (A) e no comprimento da raiz (B) de *P. pachycladus* aclimatizada, provenientes do cultivo *in vitro*.



Os meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey $p \leq 0,05$.
Fonte: Autores.

A altura da parte aérea das plântulas variou de 4,17 à 4,77, e o comprimento da raiz variou entre 7,17 à 8,33 (Figura 4). As cactáceas possuem características especializadas para sobreviverem em ambientes áridos, tais como, a presença de espinhos, de cera, de parênquima aquífero, de sistema radicular fasciculado e de Mecanismo Ácido das Crassuláceas (CAM), que reduzem a perda de água (Taiz & Zeiger, 2013; Hernández-Hernández et al., 2014). Portanto essas características podem ter favorecido a independência da etapa de rusticificação apresentando altos valores de sobrevivência e desenvolvimento nas condições *ex vitro*.

4. Considerações Finais

Diante dos resultados obtidos a utilização de fertilizante comercial e amido de milho em meios de cultura proporcionou adequada germinação e desenvolvimento *in vitro* de *P. pachycladus*, além de excelente aclimatização das mesmas, proporcionando redução nos custos na produção de mudas *in vitro*. Sendo assim de grande importância para a conservação da espécie, pois viabiliza a produção em larga escala, e mantém a variabilidade genética.

Para trabalhos futuros sugere-se estudar o uso dos meios de cultivos testados com a esterilização física e ainda a ausência de sacarose, para comprovar a eficácia da esterilização e se a germinação ocorrerá em meio de cultivo sem sacarose.

Referências

- Abouseadaa H et al. (2020). Gene-targeted molecular phylogeny, phytochemical profiling, and antioxidant activity of nine species belonging to family Cactaceae. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(6), 1649-1658.
- Abud H. F et al. (2010). Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. *Revista Ciência Agronômica*, 41(3), 468-474.
- Abud H. F et al. (2012). Armazenamento de sementes de xique-xique. *Revista Brasileira de Sementes*, 34(3), 473-479.
- Albuquerque U. P et al. (2009). How ethnobotany can aid biodiversity conservation: reflections on investigations in the semi-arid region of NE Brazil. *Biodiversity and Conservation*, 18(1), 127-150.
- Alves C. M et al. (2014). Ethnobotanical study of useful vegetal species in two rural communities in the semi-arid region of Paraíba state (Northeastern Brazil). *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*, 34, 75-96.
- Barbosa M. R et al. (2020). Aspects of the in vitro establishment of *Handroanthus chrysotrichus* (bignoniaceae) for the production of seedlings. *Brazilian Journal of Development*, 6(1), 2830-2840.
- Batista B. N, Raposo N. V & Liberato M. A. R. (2017). Determinação do protocolo de assepsia para reprodução in vitro de *Euterpe precatoria* MART. *Revista Fitos*, 11(1), 1-118.
- Brito Cavalcanti N & Resende G. M. (2007). Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mandacaru (*Cereus jamacaru* p. Dc.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus* Ritter), xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Webwr ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* Britton & Rose). *Revista Caatinga*, 20(1), 28-35.

Brito-Filho S. G. D et al. (2017). Phytochemical study of *Pilosocereus pachycladus* and antibiotic-resistance modifying activity of syringaldehyde. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(4), 453-458.

Cañal M. J et al. (2001). Fisiología del cultivo in vitro. *Biotecnología vegetal*, 1(1). 3–9.

Civatti L. M et al. (2017). In vitro multiplication and genetic stability of two species of *Micranthocereus Backeb.*(Cactaceae) endemic to Bahia, Brazil. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 131(3), 537-545.

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

Correia D et al. (2018). Germinação in vitro de sementes de Coroa-de-frade (*Melocactus* sp.). *Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)*.

Elias-Rocha M. A, Santos-Diaz M. D & Arredondo-Gómez A. (1998). Propagation of *Mammillaria candida* (Cactaceae) by tissue culture techniques. *Haseltonia*, (6), 96-101.

Fermino Junior P. C. P & Scherwinski-Pereira JE. (2012). Germinação e propagação in vitro de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) AC Smith-Fabaceae). *Ciência Florestal*, 22(1), 1-9.

Ferreira D. F. (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e agrotecnologia*, 38(2), 109-112.

Gariglio M. A, et al. (2010). *Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga*. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 368p.

Giulietti A. M et al. (2002). Plantas endêmicas da caatinga. p.103-115 In: *Vegetação e flora das caatingas* (Sampaio EVSB et al. ed.). APNE / CNIP, Recife, PE.

Giulietti A. M et al. (2004). Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*.

Goettsch B et al. (2015). High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature plants*, 1(10), 1-7.

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 - CONAPESC, Campina Grande, 2016.

Hubstenberger J. F, Clayton P. W & Phillips G. C. (1992) *Micropropagation of cacti (Cactaceae)*. In: Bajaj Y. P. S. ed. *Biotechnology in agriculture and forestry*. Berlin: Springer-Verlag, (20) 49–68.

Hernández-Hernández T et al. (2014). Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, 202(4), 1382-1397.

IPCC (2020). Relatório especial: relatório especial sobre mudanças climáticas e terras. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/srccl/chapter/chapter-4/>

Jiménez-Terry F & Agramonte D. (2013). Cultivo *in vitro* y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Bioteecnologia vegetal*, 13(1), 3–21.

Jiménez-Rivera A & Montero-Carmona W. (2019). Efecto de la sustitución de insumos en el crecimiento *in vitro* de Raicilla. *Revista Tecnología en Marcha*, 32(4), 28-38.

Lemes C. S. R et al. (2016). Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia flavescens*. *Ciência Rural*, 46(3), 499-505.

Lucena C. M et al. (2013) Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 9(1), 62.

Lucyszyn N et al. (2007). Agar/galactomannan gels applied to shoot regeneration from tobacco leaves. *Biologia plantarum*, 51(1), 173-176.

- Martín D, Cárdenas O & Cárdenas A. (2013). Almidón de papa, agente gelificante alternativo en medios de cultivo para propagación in-vitro de lulo *Solanum quitoense* Lam. *Revista de Ciencias agrícolas*, 30(1), 3-11.
- 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 - CONAPESC, Campina Grande, 2016.
- Mascot-Gómez E et al. (2020). Seed germination of Southern Chihuahuan desert cacti: Effect of mucilage, light and phytohormones. *Flora*, 263, 151-528.
- Medeiros R. L. S et al. (2017). Seed vigor and germination of facheiro plants (*Pilosocereus catingicola* (Gurke) Byles & Rowley Subsp. *Salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) at different temperatures. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(5), 2873-2886.
- Mohamed M. A. H, Alsadon A. A & Mohaidib M. S. (2010). Corn and potato starch as an agar alternative for *Solanum tuberosum* micropropagation. *African Journal of Biotechnology*, 9(1), 012-016.
- Nascimento V. T et al. (2009). Rural fences in agricultural landscapes and their conservation role in an area of caatinga (dryland vegetation) in Northeast Brazil. *Environment, Development and Sustainability*, 11(5), 1005-1029.
- Nascimento V. T et al. (2011). Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Food Research International*, 44(7), 2112-2119.
- Nunes A. T et al. (2015). Local knowledge about fodder plants in the semi-arid region of Northeastern Brazil. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 11(1), 12.
- Pérez-Molphe-Balch E et al. (2015). Tissue culture of ornamental cacti. *Scientia Agricola*, 72(6), 540-561.

Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1

Pierine F. R, Gianini P. F & Pedroso-de-Moraes C. (2019). Germinação e crescimento de plântulas in vitro de *Muntingia calabura* L.(Muntingiaceae) submetida a diferentes meios de cultivo. *Iheringia. Série Botânica*, 74.

Pizzetti M. (1992). *Guía de Cactus*. Grijalbo. México. 36p.

Rego M. M et al. (2009). In vitro seed germination of mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.). *Revista Caatinga*, 22(4), 34-38.

Romay G et al. (2006). Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. *Interciencia*, 31(9), 686-689.

Santos M. S et al. (2001). Efecto del medio de cultivo, cinetina y agentes osmóticos sobre la respuesta morfogénica de *Astrophytum myriostigma* (Cactacea) in vitro. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 24(2), 133-138.

Santos L et al. (2019). Frugivoria por aves em quatro espécies de Cactaceae na Caatinga, uma floresta seca no Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 109.

Sasamori M. H, Endres Júnior D & Droste A. (2015). Asymbiotic culture of *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae): the influence of macronutrient salts and sucrose concentrations on survival and development of plantlets. *Acta Botanica Brasilica*, 29(3), 292-298.

Silva V. A. (2015). Diversidade de uso das cactáceas no nordeste do Brasil: uma revisão. *Gaia scientia*, 9(2), 137-154.

Sousa V. R & Honório M. S. (2020). Da degradação a preservação: o papel da educação ambiental na sustentabilidade da caatinga. *Revista Brasileira de Direito e Gestão Pública*, 8(3), 932-946.

Souza D. D & Pacheco C. S. G. R. (2019). Espécies nativas para alimentação de ruminantes em Ouricuri-PE e seus impactos ambientais. *Agropecuária Científica no Semiárido*, 15(1), 71-78.

Souza R. A. V. D et al. (2012). Efeito da luz na germinação in vitro de embriões zigóticos de genótipos de oliveira. *Revista Ceres*, 59(3), 299-304.

Taiz L & Zeiger E. (2013). *Fisiologia vegetal*. 5a ed. Porto Alegre: Artmed, 719p.

Taylor N. P & Zappi D. (2002). *Distribuição das espécies de Cactaceae na caatinga*. p.123-125 In: Vegetação e flora das caatingas (Sampaio EVSB et al. ed.). APNE / CNIP, Recife, PE.

Torres-Silva G et al. (2018). In vitro shoot production, morphological alterations and genetic instability of *Melocactus glaucescens* (Cactaceae), an endangered species endemic to eastern Brazil. *South African Journal of Botany*, 115, 100-107.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

José Edson Lourenço dos Santos – 45%

Lais Tomaz Ferreira – 30%

Naysa Flávia Ferreira Nascimento – 25%