



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO CACTO GARRAFA (*STEPHANOCEREUS
LUETZELBURGII*), UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA CHAPADA
DIAMANTINA, BA**

REBECA GONZAGA SANTOS OLIVEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal da Bahia como parte
dos pré-requisitos para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Salvador, BA
2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO CACTO GARRAFA (*STEPHANOCEREUS
LUETZELBURGII*), UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA CHAPADA
DIAMANTINA, BA**

REBECA GONZAGA SANTOS OLIVEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal da Bahia como parte
dos pré-requisitos para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Moema Cortizo Bellintani

Salvador, BA
2024

Data da Defesa:

Banca Examinadora

Dra. Moema Cortizo Bellintani
Universidade Federal da Bahia

Dra. Maria Nazaré Guimarães Marchi
Universidade Federal da Bahia

Me. Gustavo Surlo Nascimento
Universidade Federal da Bahia

RESUMO

A família Cactaceae compreende um grupo diversificado de plantas suculentas, conhecidas por suas adaptações peculiares aos ambientes áridos e semiáridos, amplamente distribuídos pelas Américas. *Stephanocereus luetzelburgii* é uma cactácea endêmica da Chapada Diamantina, encontrada em áreas de caatinga e cerrado desta região cuja conservação e manejo sustentável representam desafios significativos. A cultura de tecidos vegetais é uma ferramenta eficaz para a multiplicação e propagação dessa espécie e pode auxiliar na sua conservação, pois ajuda a reduzir o extrativismo. Deste modo, este estudo teve por objetivo avaliar a influência de reguladores vegetais na multiplicação *in vitro* de *S. luetzelburgii*. Para tanto, explantes caulinares de *S. luetzelburgii* foram inoculados em meio MS/2 (MURASHIGUE E SKOOG, 1974) gelificado com 6g L⁻¹ de ágar, suplementado com 15g L⁻¹ de sacarose e diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-Benzilaminopurina (BAP), totalizando nove tratamentos. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3x3 (concentrações de BAP x concentrações de ANA) com 5 repetições de 5 explantes cada, totalizando 25 amostras por tratamento. O acompanhamento do experimento foi realizado semanalmente ao longo de doze semanas. Os resultados revelaram que a concentração de 17,74 µM de 6-benzilaminopurina (BAP) resultou no maior número de auréolas intumescidas e tanto essa concentração quanto a de 8,87 µM de BAP foram associadas à maior proporção de explantes com calos. Da mesma forma, a brotação foi influenciada pela concentração de BAP, com os tratamentos contendo concentrações mais altas apresentando uma maior taxa de brotação em comparação com os tratamentos de baixa concentração ou ausência de BAP. Além disso, pode-se perceber que houve um decaimento da produção de brotos para o tratamento com 0 µM de ANA e 17,74 µM de BAP, enquanto que no tratamento com 1,34 µM ANA e 17,74 µM de BAP foi possível observar uma tendência significativa de aumento no número de brotos ao longo do tempo. A formação de raízes foi inversamente proporcional à concentração de BAP na ausência de ANA ou quando associada ao uso de 1,34µM de ANA. A presença de ANA também reduziu a formação de raízes quando associada ao uso de BAP. Os resultados obtidos neste estudo contribuem significativamente para o entendimento dos processos de multiplicação *in vitro* de *S. luetzelburgii* e destacam a necessidade de protocolos específicos para a espécie que possam ser adaptados para maximizar a eficiência de cada fase do processo de micropropagação.

Palavras-chave: Reguladores vegetais, Micropropagação, Cultura de tecidos, Cacto garrafa, Calogênese, Organogênese direta.

ABSTRACT

The Cactaceae family comprises a diverse group of succulent plants known for their peculiar adaptations to arid and semiarid environments, widely distributed throughout the Americas. *Stephanocereus luetzelburgii* is a cactus endemic to Chapada Diamantina, found in caatinga and cerrado areas of this region whose conservation and sustainable management represent significant challenges. Plant tissue culture is an effective tool for the multiplication and propagation of this species and can aid in its conservation, as it helps to reduce extractivism. Therefore, this study aimed to evaluate the influence of plant regulators on the in vitro multiplication of *S. luetzelburgii*. For this purpose, stem explants of *S. luetzelburgii* were inoculated in MS/2 medium (MURASHIGUE AND SKOOG, 1974) gelled with 6g L⁻¹ of agar, supplemented with 15g L⁻¹ of sucrose and different concentrations of naphthaleneacetic acid (NAA) and 6-benzylaminopurine (BAP), totaling nine treatments. A completely randomized design was used in a 3x3 factorial arrangement (BAP concentrations x NAA concentrations) with 5 replicates of 5 explants each, totaling 25 samples per treatment. The experiment was monitored weekly over twelve weeks. The results revealed that the concentration of 17.74 µM of 6-benzylaminopurine (BAP) resulted in the highest number of swollen areoles and both this concentration and that of 8.87 µM of BAP were associated with the highest proportion of explants with callus. Likewise, sprouting was influenced by the concentration of BAP, with treatments containing higher concentrations presenting a higher sprouting rate compared to treatments with low concentration or absence of BAP. In addition, it was possible to observe that there was a decline in sprout production for the treatment with 0 µM of NAA and 17.74 µM of BAP, while in the treatment with 1.34 µM NAA and 17.74 µM of BAP it was possible to observe a significant trend of increase in the number of sprouts over time. Root formation was inversely proportional to BAP concentration in the absence of NAA or when associated with the use of 1.34µM NAA. The presence of NAA also reduced root formation when associated with the use of BAP. The results obtained in this study contribute significantly to the understanding of the in vitro multiplication processes of *S. luetzelburgii* and highlight the need for species-specific protocols that can be adapted to maximize the efficiency of each phase of the micropropagation process.

Keywords: Plant regulators, Micropropagation, Tissue culture, Bottle cactus, Callogenesis, Direct organogenesis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço às pessoas com quem convivi ao longo desses anos de curso. Meu filho, meu companheiro, meus pais, meu irmão, minhas tias, meus amigos e minhas companheiras doulas de luta. Vocês foram minha rede de apoio, me incentivaram, acreditaram em mim e não me deixaram desistir. Agradeço também àqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho e a todos que participaram da minha formação e enriqueceram o meu processo de aprendizado. Por fim, honro as minhas lágrimas e celebro a mim mesma pela audácia e pela coragem.

ÍNDICE

RESUMO

ABSTRACT

AGRADECIMENTOS

ÍNDICE	<i>i</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>ii</i>
ÍNDICE DE TABELAS	<i>iii</i>
1 INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2. 1. Família Cactaceae	3
2. 2. <i>Stephanocereus luetzelburgii</i>	6
2. 3. Conservação	7
2. 4. Cultura de tecidos vegetais	8
2. 5. Reguladores de crescimento	9
3. OBJETIVO	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
5. RESULTADOS	13
6. DISCUSSÃO	17
7. CONCLUSÕES	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Principais características morfológicas dos cactos (adaptado de FREITAS <i>et al.</i> , 2020)	4
Figura 2 - Possíveis etapas evolutivas para o surgimento das auréolas a partir da redução dos entrenós (Cavalcante, 2013).....	4
Figura 3 - <i>Stephanocereus luetzelburgii</i> , o cacto garrafa (ANDERSON, 2001).....	7
Figura 4 - Diversidade de Cactaceae no Brasil. Em destaque, estado da Bahia (adaptado de ZAPII <i>et al</i> , 2011).....	7
Figura 5 - Explante de <i>Stephanocereus luetzelburgii</i> com pequenas brotações	12
Figura 6 - Explantes de <i>Stephanocereus luetzelburgii</i> , inoculados em meio de cultura sem adição de reguladores vegetais, apresentando início da brotação.....	14
Figura 7 - Análise de regressão para o número de brotos produzidos ao longo de 12 semanas em cada tratamento	15
Figura 8 - Brotos de <i>Stephanocereus luetzelburgii</i> , apresentando raízes	16

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Diferentes tratamentos estabelecidos para investigar a multiplicação <i>in vitro</i> da espécie <i>S. luetzelburgii</i> , incluindo as concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP) utilizadas em cada tratamento, juntamente com o número de repetições para cada condição experimental.	11
Tabela 2 - Efeito de diferentes concentrações de 6- benzilaminopurina (BAP) sobre a calogênese e o intumescimento das auréolas dos explantes de <i>Stephanocereus luetzelburgii</i>	13
Tabela 3 - Efeito de diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP) sobre o enraizamento dos explantes de <i>Stephanocereus luetzelburgii</i>	16

1. INTRODUÇÃO

A família Cactaceae compreende um grupo diversificado de plantas suculentas, conhecidas por suas adaptações peculiares aos ambientes áridos e semiáridos, amplamente distribuídos pelas Américas (ANDERSON, 2001). O interesse por essas plantas transcende fronteiras geográficas, culturais e acadêmicas, sendo motivado não apenas por sua exótica beleza, mas também por seu valor econômico, ecológico e científico (ANDERSON, 2001).

As características singulares das cactáceas têm despertado interesse em diversos setores da sociedade (ANDERSON, 2001). São plantas de alto valor econômico, utilizadas em diversas indústrias, como a medicinal, ornamental, alimentícia, cosmética e cultural (SIEGLOCH *et al.*, 2020). Sua popularidade é evidenciada pelo fato de que todas as espécies de cactos estão listadas na Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Fauna e Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção (CITES), refletindo seu status como recurso natural de relevância global (SAJEVA; CARIMI; MCGOUGH, 2007).

O Brasil, como um dos maiores centros de diversidade de cactáceas do mundo, desempenha um papel crucial na preservação dessas plantas (ORTEGA-BAES; GODÍNEZ-ALVAREZ, 2006). O país abriga uma grande porcentagem de espécies nativas e endêmicas, principalmente no bioma caatinga (SIEGLOCH *et al.*, 2020), no qual muitas enfrentam sérios riscos de extinção devido à pressão antropogênica e à falta de medidas de conservação adequadas (CARVALHO *et al.*, 2022). Nesse contexto, a região da Chapada Diamantina, na Bahia, destaca-se como um *hotspot* de biodiversidade, abrigando uma variedade impressionante de ecossistemas, incluindo áreas de caatinga e cerrado, onde várias espécies de cactáceas encontram seu habitat natural (CARVALHO *et al.*, 2022).

Dentre as cactáceas nativas do Brasil, destaca-se o gênero *Stephanocereus*, que compreende plantas de grande interesse científico e econômico (ANDERSON, 2001). *S. luetzelburgii*. Trata-se de um cacto solitário e vertical, que pode chegar a alcançar 1,5 metros de altura. Conhecidos popularmente como cactos-garrafa, durante sua fase jovem apresentam um tronco esverdeado de formato globoso. No entanto, ao atingirem a maturidade, o crescimento das hastes se torna mais fino, assumindo assim uma forma semelhante à de uma garrafa. (MARCHI, 2012). É uma espécie endêmica da Chapada Diamantina (GONÇALVES, 2023), encontrada em áreas de caatinga e cerrado desta região

cuja conservação e manejo sustentável representam desafios significativos (TAYLOR; ZAPPI, 2004).

O sucesso comercial das cactáceas tem sido acompanhado por desafios significativos, especialmente no que diz respeito à sua conservação. O extrativismo ilegal, a degradação do habitat e as mudanças climáticas representam ameaças constantes à sobrevivência dessas plantas em seus ambientes naturais (PILLET *et al.*, 2022). Diante desse cenário, torna-se imperativo desenvolver estratégias eficazes para a propagação e multiplicação dessas cactáceas.

A propagação eficiente é crucial para garantir a disponibilidade de mudas para cultivo e para pesquisas científicas. Entre as diversas técnicas de propagação, a micropropagação se destaca como uma ferramenta importante (LEMA-RUMIŃSKA e KULUS, 2014). Com o aumento da demanda por plantas ornamentais, a micropropagação tem se mostrado uma ferramenta valiosa tanto para a proteção de espécies ameaçadas quanto para a produção comercial (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014).

A micropropagação, técnica essencial dentro da cultura de tecidos vegetais, desempenha um papel fundamental na multiplicação eficiente de plantas, permitindo a produção em larga escala de mudas geneticamente idênticas a partir de material vegetal selecionado (GEORGE; HALL; KLERK, 2008). Contudo, não é possível estabelecer um protocolo capaz de ser aplicado a todas as plantas, pois as respostas dos vegetais às condições do ambiente dependem de características inter e intraespecíficas, de tal modo que é imprescindível que sejam feitos estudos para determinar a forma mais eficiente de propagação para cada espécie de interesse (ESTRADA-LUNA *et al.*, 2008).

A cultura de tecidos oferece uma abordagem promissora para a multiplicação rápida e eficiente de plantas, permitindo a produção em larga escala de mudas geneticamente idênticas a partir de material vegetal selecionado (MENEZES *et al.*, 2012). Através da aplicação de técnicas de cultura de tecidos, espera-se não apenas fornecer uma ferramenta eficaz para a multiplicação e propagação de *S. luetzelburgii*, mas também gerar informações relevantes que posteriormente possam ser utilizadas na conservação *in situ* e *ex situ* dessa espécie emblemática da flora brasileira. Neste contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência de reguladores vegetais na multiplicação *in vitro* de *Stephanocereus luetzelburgii*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. 1. Família Cactaceae

A família Cactaceae é composta por um grupo diversificado de plantas suculentas que se adaptam a ambientes áridos e semiáridos (SBRISSA; MELO, 2012). Essas plantas possuem adaptações morfológicas e fisiológicas que lhes permitem sobreviver em condições de baixa disponibilidade hídrica, entre essas adaptações pode-se citar a presença de cladódios, estruturas especializadas para armazenamento de água, e uma espessa cutícula que reduz a perda de água por transpiração (ANDERSON, 2001). Além disso, Devido à fisiologia CAM (Metabolismo Ácido das Crassulaceas), os cactos geralmente crescem lentamente e apresentam baixo rendimento de sementes, germinação e taxas de germinação (HUBSTENBERGER *et al.* 1992; MALDA *et al.* 1999; SRISKANDARAJAH & SEREK, 2004; DÁVILA-FIGUEROA *et al.* 2005; KHALAFALLA *et al.* 2007; ESTRADA-LUNA *et al.* 2008 *apud* MARCHI, 2012).

No entanto, sua principal característica morfológica, conforme apresentado na figura 1, é a presença de auréolas: uma saliência hemisférica rica em tricomas, que normalmente origina espinhos, flores e novos ramos (Cavalcante; Teles; Machado, 2013). Uma revisão bibliográfica desenvolvida por Rowley (2003) indica que auréolas são, na verdade, conglomerados de várias gemas formados a partir da perda dos entrenós dos ramos laterais dessas plantas, o que faz com que todas as suas gemas se encontrem em pontos do caule principal, como pode-se ver na figura 2.

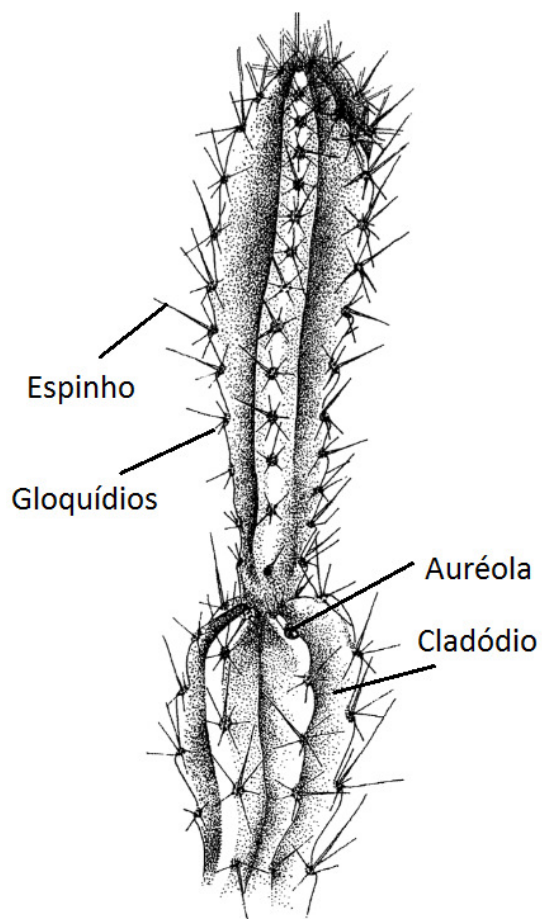


Figura 1 - Principais características morfológicas dos cactos (Adaptado de FREITAS *et al.*, 2020)

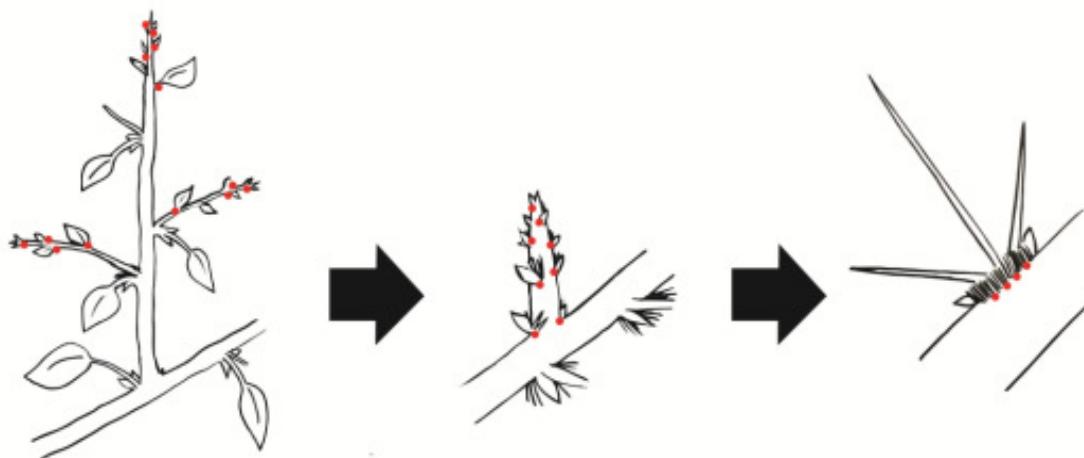


Figura 2 - Possíveis etapas evolutivas para o surgimento das auréolas a partir da redução dos entrenós (Cavalcante, 2013)

Tais características fazem com que os cactos sejam objeto de fascínio para os humanos desde que o primeiro espécime encontrado foi relatado, há cerca de 3.000 anos, no Peru (ANDERSON, 2001), e justificam a extração excessiva de indivíduos e sementes com fins, geralmente, comerciais. Tal fato é preocupante, pois, de acordo com Cavalcante, Teles e Machado (2013), essas angiospermas possuem alta importância ecológica: produzem frutos, néctar e pólen, sendo a base de várias cadeias alimentares do semiárido, especialmente durante a estação seca; fornecem abrigo e água para diversos animais. Como geralmente prosperam em ambientes inóspitos, contribuem para a formação do solo sobre a rocha nua, permitindo o posterior estabelecimento de outras plantas (CAVALCANTE; TELES; MACHADO, 2013).

Além disso, todos os membros da família estão incluídos no Apêndice II da CITES (Hunt, 1999). Gottsch *et al.* (2015), determinaram que os cactos representam 31% das espécies ameaçadas e são o quinto táxon mais ameaçado. Ademais, o extrativismo é danoso porque os cactos apresentam crescimento lento e são altamente vulneráveis às perturbações em seus estágios iniciais, o que torna a recuperação populacional e a restauração ambiental extremamente difíceis, além de gerar destruição e fragmentação de habitats (DAVIS; HEYWOOD, 1997; CAVALCANTE; TELES; MACHADO, 2013).

2. 2. *Stephanocereus luetzelburgii*

Stephanocereus luetzelburgii apresenta uma morfologia peculiar: seu cladódio é colunar, mas sua base é dilatada e seu ápice é estreitado (Cavalcante; Teles; Machado, 2013). A pequena planta resultante do desenvolvimento inicial do embrião geralmente possui um aspecto quase globoso, porém, durante o desenvolvimento, a porção superior fica mais estreita, dando um aspecto de garrafa à planta (Cavalcante; Teles; Machado, 2013), como pode-se notar na figura 3, o que justifica o fato de ser popularmente chamada de cacto garrafa.



Figura 3 - *Stephanocereus luetzelburgii*, o cacto garrafa (ANDERSON, 2001)

2. 3. Conservação

O Brasil ostenta o terceiro lugar no mundo no que diz respeito à diversidade de cactáceas, possuindo mais de 250 espécies já catalogadas, que podem ser encontradas predominantemente na região Nordeste – o que inclui o estado da Bahia (Figura 4) - até os estados de Minas Gerais e o sul do Rio Grande do Sul (ZAPPI et al., 2011). Muitas dessas espécies são endêmicas, como a *Stephanocereus luetzelburgii* (CAVALCANTE et al., 2023) (Figura 3).

Acredita-se que uma unidade biogeográfica com maior tamanho ou riqueza de espécies tem maiores chances de garantir a sobrevivência de uma porção mais representativa da biodiversidade regional do que fragmentos menores ou com poucas espécies (MENEZES et al., 2015). Este é um princípio amplamente incorporado na Biologia da Conservação e justifica o fato de áreas com maior riqueza de espécies, táxons ameaçados de extinção e taxas mais altas de endemismos geralmente serem escolhidas para serem preservadas com prioridade (MENEZES et al., 2015).

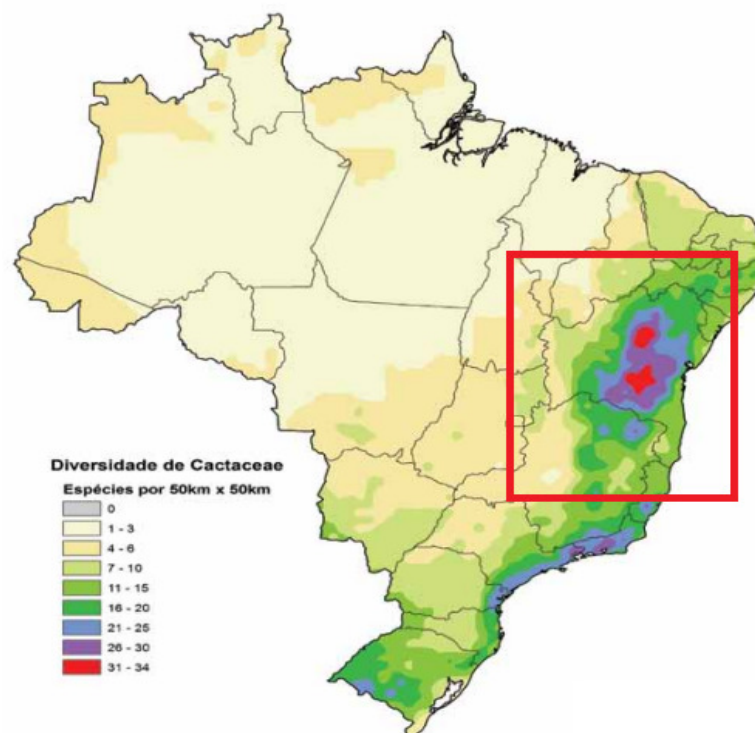


Figura 4 - Diversidade de Cactaceae no Brasil. Em destaque, estado da Bahia (adaptado de ZAPPI et al, 2011)

S. luetzelburgii trata-se de uma espécie endêmica e, felizmente, não se encontra ameaçada de extinção (GONÇALVES; GONÇALVES, 2023). No entanto, sabe-se que as ações humanas são o principal fator de ameaça às cactáceas em geral (CAVALCANTE; TELES; MACHADO, 2013) e que espécies endêmicas são uma fonte de recursos genéticos que devem ser protegidas e utilizadas de forma sustentável (MARCHI *et al.*, 2016).

Os cactos são particularmente sensíveis às mudanças de habitat devido ao seu lento desenvolvimento e baixas taxas de recrutamento (ZAPPI *et al.*, 2011). Apesar destas ameaças e do amplo reconhecimento do valor ornamental destas plantas, poucas espécies nativas são cultivadas para este fim, provavelmente porque existem poucos levantamentos que visam a compreensão da biologia destas plantas (ZAPPI *et al.*, 2011). Rojas-Aréchiga e Vázquez-Yanes (2000) apontam que os estudos de propagação são, portanto, uma alternativa para a conservação de cactáceas, pois, ao possibilitar a obtenção de plantas por métodos artificiais, a incidência de coleta excessiva e ilegal pode ser reduzida.

Estudos de conservação de cactáceas, como os de Marchi (2012;2016) mostraram que a micropropagação tem sido uma alternativa aos métodos convencionais de propagação de cactáceas, de tal modo que um dos resultados encontrados apresentaram alta taxa de sobrevivência logo após a multiplicação de brotos aclimatizados de *Stephanocereus luetzelburgii* (MARCHI, 2012).

Nesse contexto, a conservação de espécies vegetais, particularmente as cactáceas nativas do Brasil, é uma necessidade urgente diante das ameaças ambientais atuais; e a micropropagação surge como uma estratégia promissora para a preservação de espécies, contribuindo para a manutenção da biodiversidade e o desenvolvimento de práticas sustentáveis de manejo (MALDA *et al.*, 1999).

2. 4. Cultura de Tecidos Vegetais

A cultura de tecidos vegetais é uma técnica que permite a propagação de plantas a partir de pequenos segmentos de tecido, conhecidos como explantes, sob condições controladas e ambiente estéril (GEORGE; HALL; KLERK, 2008). Este método tem sido amplamente utilizado para a propagação de espécies vegetais, principalmente aquelas de interesse econômico e científico, bem como para a conservação de espécies ameaçadas

de extinção (KHATTAB *et al.*, 2014). Além de produzir milhões de novas plantas a partir de um único explante, essa alta produção é acompanhada do aumento da qualidade, uma vez que as plântulas são livres de vírus e outros agentes patogênicos (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014). Ou seja, podem ser produzidas em grande quantidade durante todo o ano, suprimindo a demanda e plantas e evitando o extrativismo.

A aplicação dessa técnica pode envolver diferentes fases, incluindo a indução de calos, regeneração de brotos e enraizamento, cada uma delas influenciada por fatores como tipo de explante, composição do meio de cultura, e concentrações de reguladores de crescimento (GEORGE; HALL; KLERK, 2008). De maneira geral, a produção de uma muda micropropagada compreende etapas essenciais a serem seguidas, as quais Murashige (1974) determina:

1. Estabelecimento da cultura *in vitro*: dado que o cultivo em condições assépticas é um dos princípios da cultura de tecidos vegetais.

2. Multiplicação *in vitro*: nesse estágio, os tecidos vegetais passam por transformações que os levam a desenvolver novas plantas.

3. Preparação das microplantas para transferência do ambiente *in vitro* para o *ex vitro*: nessa fase, o objetivo é conferir às mudas tolerância ao estresse hídrico no ambiente externo. Para tal, o enraizamento e o alongamento são estimulados.

Uma vez que uma metodologia específica de micropropagação para uma determinada espécie é desenvolvida, ela pode ser mais eficiente e econômica em comparação com os métodos tradicionais de cultivo, o que tem contribuído para a crescente popularidade dessa técnica na indústria hortícola (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014).

2. 5. Reguladores de Crescimento

No estágio da multiplicação *in vitro*, podem ser adicionados ao meio de cultura reguladores vegetais sintéticos, substâncias que podem ser aplicadas às plantas de modo a modificar processos vitais e estruturais, incrementando a produção e melhorando a qualidade do cultivo (LACA-BUENDIA, 1989).

Os reguladores de crescimento, ou fitormônios, são substâncias químicas que desempenham papel crucial na regulação dos processos de crescimento e

desenvolvimento das plantas. Entre os principais reguladores utilizados na cultura de tecidos estão as auxinas e as citocininas (MAJEROWICZ; PERES; KERBAUY, 2004).

Alguns dos reguladores sintéticos mais utilizados são o ácido a-naftalenoacético (a-ANA) e a benzilaminopurina (BAP), compostos que conferem respostas fisiológicas semelhantes, respectivamente, às auxinas e às citocininas naturais (Majerowicz; Peres; Kerbauy, 2004), sendo classes hormonais que atuam de forma determinante na regulação do crescimento e morfogênese *in vitro* (GEORGE; HALL; KLERK, 2007).

As auxinas, como o ácido naftalenoacético (ANA), são fundamentais para a indução de raízes e para a promoção do crescimento celular. Elas atuam na alongação celular e são essenciais na formação de calos e na regeneração de brotos a partir de explantes (MELO, 2002).

As citocininas, como a 6-benzilaminopurina (BAP), promovem a divisão celular e a formação de brotos. Elas são amplamente utilizadas para induzir a proliferação de brotos e melhorar a eficiência da micropropagação, sendo essenciais na fase de multiplicação de brotos na cultura de tecidos (LUCAS *et al.*, 2007), além de desempenharem importante papel na calogênese (FLORES *et al.*, 2007).

A combinação e a concentração adequadas desses reguladores de crescimento são essenciais para o sucesso da micropropagação, uma vez que as respostas dos explantes variam conforme o genótipo e o tipo de tecido utilizado (MAJEROWICZ; PERES; KERBAUY, 2004).

Estudos, como os de Marchi (2016), Souza *et al.* (2012) e Marchi (2012) mostraram que o uso de reguladores estimulou o potencial organogênico de cactáceas, viabilizando a micropropagação. Em consonância, mudas produzidas em laboratório já foram transferidas com sucesso para o ambiente, o que evidencia que é possível o cultivo e, conseqüentemente, a comercialização em larga escala de espécies de cactos (ZAPPI, *et al.*, 2011).

Portanto, evidencia-se a relevância da cultura de tecidos vegetais e o papel crucial dos reguladores de crescimento na micropropagação de cactáceas nativas da Bahia (ZAPPI, *et al.*, 2011).

3. OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi avaliar a influência de reguladores vegetais na multiplicação *in vitro* de *Stephanocereus luetzelburgii*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado neste experimento foi obtido a partir de plantas já estabelecidas em coleção *in vitro* e disponibilizadas pelo Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal da Bahia (LCTV – UFBA). Essas plantas foram previamente mantidas em condições controladas (25°C±1, fotoperíodo de 16h luz/dia) garantindo sua saúde e vigor antes do início do experimento.

Para avaliar a multiplicação, foi adotado um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 3 concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) x 3 concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP), totalizando nove tratamentos., com cinco repetições de cinco amostras cada conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1- Diferentes tratamentos estabelecidos para investigar a multiplicação *in vitro* da espécie *S. luetzelburgii*, incluindo as concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP) utilizadas em cada tratamento.

Tratamentos	Concentração de ANA	Concentração de BAP
1	0 µM	0 µM
2	0 µM	8,87 µM
3	0 µM	17,74 µM
4	1,34 µM	0 µM
5	1,34 µM	8,87 µM
6	1,34 µM	17,74 µM
7	2,68 µM	0 µM
8	2,68 µM	8,87 µM
9	2,68 µM	17,74 µM

O meio de cultivo utilizado foi o Murashigue e Skoog (MS) com metade das concentrações salinas (MS/2). Além disso, foram adicionados 15g L⁻¹ de sacarose e 6g L⁻¹ de ágar ao meio. Após a preparação, o pH do meio foi ajustado para 5,6 - 5,8, seguido pelo processo de autoclavagem por 15 minutos a 121°C.

Como explantes, foram utilizados segmentos longitudinais do cladódio com aproximadamente 1 cm de comprimento (Figura 5). Esses explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio de cultura.



Figura 5 - Explante de *Stephanocereus luetzelburgii* com pequenas brotações

Durante o período experimental, os tubos de ensaio com os explantes foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 16 horas de luz por dia. O acompanhamento do experimento foi realizado semanalmente ao longo de doze semanas. Durante esse período, foram registradas variáveis como o intumescimento das auréolas, emissão de raízes, quantidade de brotos e presença ou ausência de calos (Figura 7).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparação de médias, utilizando o programa

estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011). Adicionalmente, foi realizada uma análise de regressão para avaliação do número de brotos.

5. RESULTADOS

Os resultados da análise de variância (ANOVA) revelaram que para as variáveis calogênese e auréolas intumescidas não houve interação entre os fatores, apenas o BAP interferiu significativamente nos dados. Embora a concentração de 17,74 μM de 6-benzilaminopurina (BAP) tenha resultado no maior número de auréolas intumescidas, tanto essa concentração quanto a de 8,87 μM de BAP foram associadas à maior proporção de explantes com calos (conforme indicado na Tabela 2). Não foi observada diferença significativa entre essas duas concentrações para a formação de calos.

Tabela 2 - Efeito de diferentes concentrações de 6- benzilaminopurina (BAP) sobre a calogênese e o intumescimento das auréolas dos explantes de *Stephanocereus luetzelburgii*.

BAP	Calo (%)	Explantes que apresentaram auréolas intumescidas (%)
0 μM	83b	63b
8,87 μM	99a	77b
17,74 μM	100a	83a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

Não houve diferença significativa para os tratamentos, de modo que o tratamento controle não diferiu dos demais. A taxa de brotos por explante (Figura 6) foi influenciada pela concentração de BAP, com os tratamentos contendo concentrações mais altas apresentando uma maior taxa de brotação em comparação com os tratamentos de baixa concentração ou ausência de BAP. Esse efeito foi observado ao longo das semanas de avaliação (Figura 7).

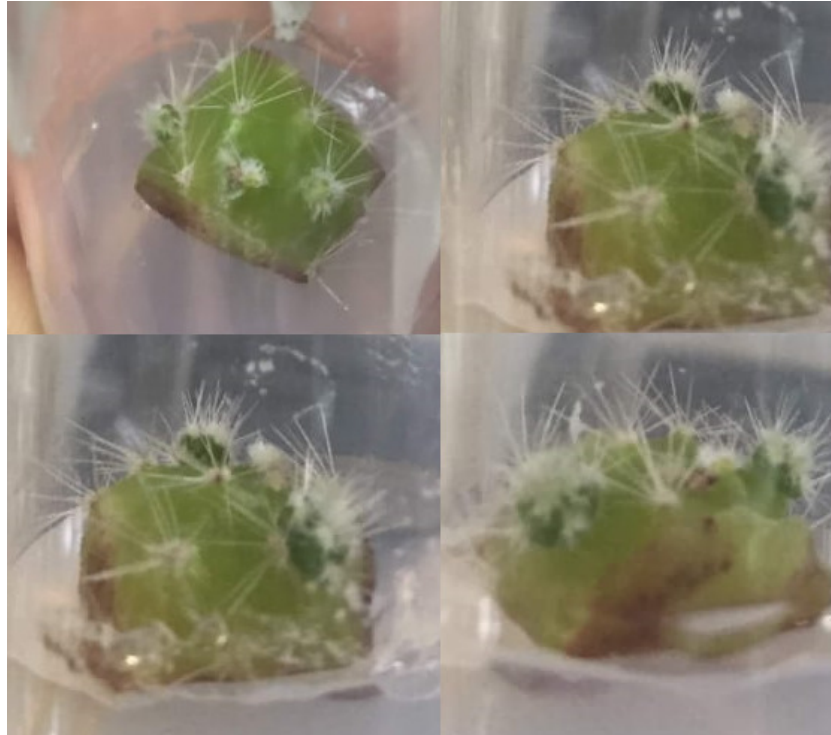


Figura 6 - Explantes de *Stephanocereus luetzelburgii*, inoculados em meio de cultura sem adição de reguladores vegetais, apresentando início da brotação

A equação quadrática representada pelo gráfico C (Figura 7) demonstrou que no tratamento com 0 μM de ácido naftalenoacético (ANA) e 17,74 μM de BAP existiu uma tendência de crescimento do número de brotos a partir semana 4, de modo que produção máxima de brotos se deu na semana 8. Observou-se também que tal tratamento foi capaz de produzir em 5 semanas a quantidade de brotos produzida ao final das 12 semanas na maioria dos tratamentos. Porém, nota-se que, apesar de a brotação ter aumentado rapidamente, após 12 semanas de experimento, há um decaimento da quantidade de brotos.

Já na equação linear representada pelo gráfico F (tratamento com 1,34 μM de ANA e 17,74 μM de BAP), é possível observar uma tendência significativa de aumento no número de brotos ao longo do tempo. Esse tratamento foi capaz de gerar uma quantidade constante e significativamente maior de brotos em comparação com os outros tratamentos, evidenciando sua eficácia na promoção da brotação.

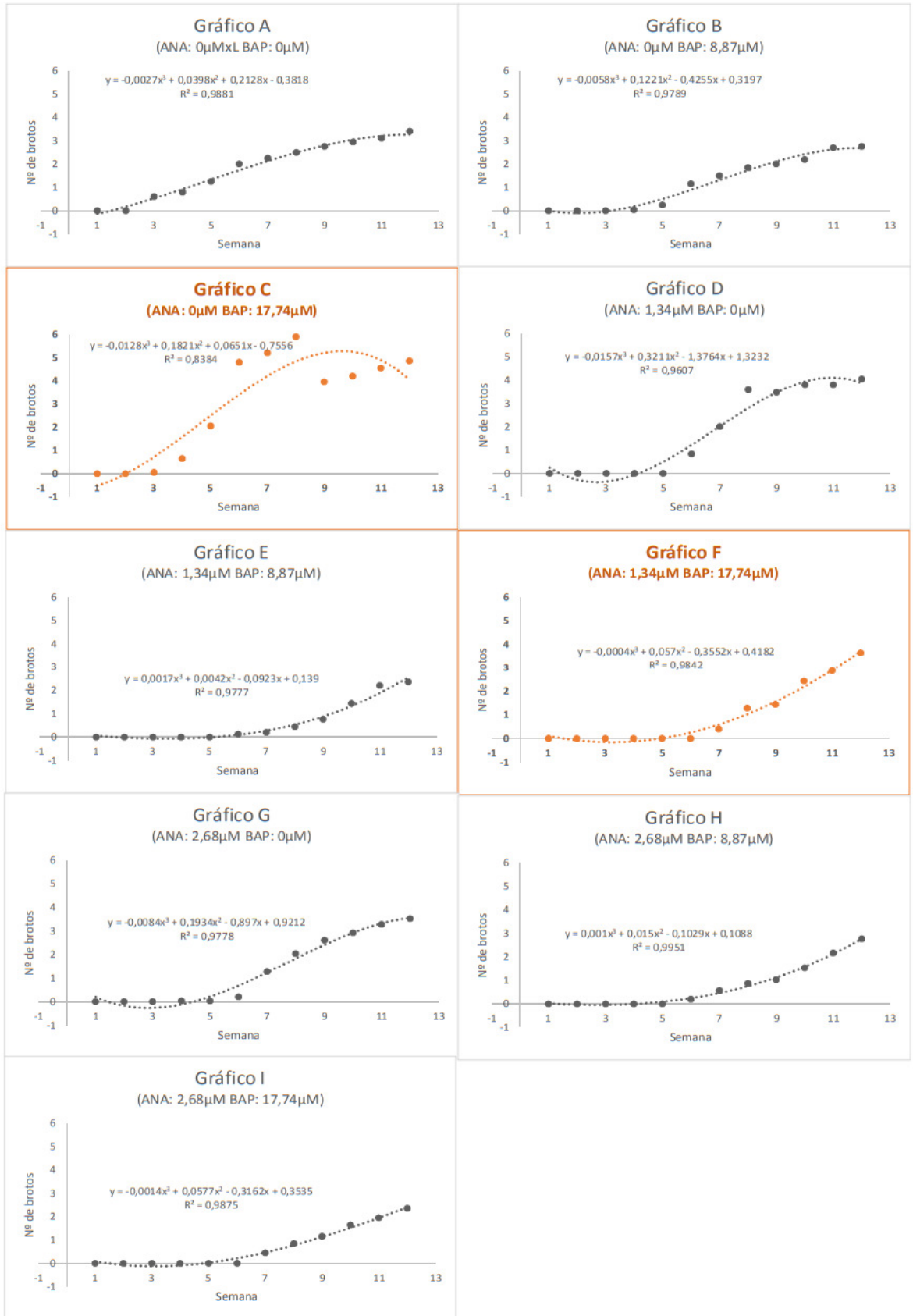


Figura 7 - Análise de regressão para o número de brotos produzidos ao longo de 12 semanas em cada tratamento

Por fim, a combinação de ANA e BAP teve um efeito significativo na emissão de raízes (Figura 8), que tiveram origem tanto dos explantes quanto nos brotos. O tratamento controle apresentou 100% de enraizamento, sendo este o tratamento mais efetivo para o enraizamento. A formação de raízes foi inversamente proporcional à concentração de BAP na ausência de ANA ou quando associada ao uso de 1,34 μ M de ANA; A presença de ANA também reduziu a formação de raízes quando associada ao uso de BAP (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito de diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP) sobre o enraizamento dos explantes de *Stephanocereus luetzelburgii*.

	BAP 0 μM	BAP 8,87 μM	BAP 17,74 μM
	(%)	(%)	(%)
ANA 0 μM	1,00aA	0,75aB	0,45aC
ANA 1,34 μM	1,00aA	0,32bB	0,08bC
ANA 2,68 μM	0,96aA	0,17bB	0,00bB

As médias seguidas pela mesma letra, minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não



Figura 8 - Brotos de *Stephanocereus luetzelburgii* apresentando raízes

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo contribuem significativamente para o entendimento dos processos de multiplicação *in vitro* de *Stephanocereus luetzelburgii*. Ao investigar os efeitos de diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA) na micropropagação de *S. luetzelburgii*, pode-se observar diversas respostas fisiológicas e morfológicas que são cruciais para o sucesso do processo de multiplicação.

Inicialmente, a análise de variância (ANOVA) mostrou que tanto a concentração de 17,74 μM quanto a de 8,87 μM de BAP resultaram em alta proporção de explantes com calos, com a concentração de 17,74 μM promovendo o maior número de auréolas intumescidas. Estes resultados corroboram o que foi encontrado por outros estudos que destacam o BAP como um potente regulador na indução de calogênese em várias espécies de cactáceas (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014). A ausência de uma diferença significativa entre as duas concentrações mais altas sugere que há um limite para a eficácia do BAP na indução de calos e auréolas intumescidas, além do qual o benefício adicional pode ser marginal. O intumescimento das aréolas indica que posteriormente emergirão brotos (CHOREÑO-TAPIA *et al.*, 2002).

No que diz respeito à brotação, em consonância com os resultados encontrados por Marchi (2016), as diferentes concentrações e combinações de reguladores vegetais não foram significativas para a quantidade de brotos de *S. luetzelburgii* dentro das 12 semanas de avaliação. De acordo com Marchi (2016), a semelhança do tratamento sem reguladores vegetais com aqueles suplementados pode ser justificada pela síntese de hormônios endógenos durante o cultivo *in vitro* (Hubstenberger *et al.* 1992).

Em relação ao tempo de cultivo, pode-se notar que o início mais precoce da diferenciação dos brotos se deu a partir da semana 3 – assim como em Marchi (2016) – no tratamento sem reguladores vegetais (Gráfico A, figura 7). Resultados similares foram obtidos para *H. undatus* (Fan *et al.* 2013) e *Opuntia ficus indica* (Angulo-Bejarano e Paredes Lopez, 2011).

Apesar desses achados, Marchi (2016) afirma que existe a possibilidade de o aumento do potencial regenerativo para *S. luetzelburgii* ser alcançado através de um balanço preciso de auxinas e citocininas. Em outros representantes da família Cactaceae, como *Hilocereus costaricensis* (Hua *et al.* 2014) e *Opuntia ficus indica* (El Finiti *et al.* 2013),

o número de brotos por explante aumentou à medida que houve incremento de citocininas, como 6- benzilaminopurina (BAP).

Desse modo, a brotação dos explantes foi influenciada positivamente pelas concentrações mais altas de BAP, como evidenciado pelo aumento significativo na taxa de brotação com o aumento das concentrações. Estes achados também são consistentes com os relatos de que o BAP, quando aplicado em concentrações apropriadas, pode estimular a formação de brotos em espécies de cactáceas, aumentando a eficiência da multiplicação *in vitro* (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014). A combinação específica de 1,34 μM de ANA e 17,74 μM de BAP demonstrou ser eficaz na promoção da brotação *in vitro* de *S. luetzelburgii*, uma vez que nesse tratamento, existiu uma tendência de crescimento do número de brotos mesmo após 12 semanas, como indicado pela tendência do gráfico (figura 7).

Já a tendência de declínio na quantidade de brotos após 12 semanas para o tratamento com 0 μM de ANA e 17,74 μM de BAP pode indicar um excesso de crescimento inicial que não é sustentado ao longo do tempo, uma situação que pode exigir ajustes no protocolo para otimizar a produtividade a longo prazo.

As auxinas e citocininas desempenham papéis fundamentais na indução (HUA *et al.*, 2015) e desenvolvimento de brotos (SRISKANDARAJAH *et al.*, 2006), de tal modo que, em diversas espécies de cactos, a adição de reguladores vegetais ao meio de cultura potencializa a multiplicação. Esse é o caso de *Cereus hildmannianus* (LANGER; MERGENER, 2013) e *Hilocereus costaricensis* (VIÑAS *et al.*, 2012), espécies em que meios nutritivos desprovidos de reguladores vegetais não apresentaram indução de brotos. É importante frisar, porém, que isso varia conforme tipo e concentrações de reguladores e espécie trabalhada (ALVES *et al.*, 2013; ROMÁN *et al.*, 2014). A capacidade de induzir a proliferação de brotos de forma eficiente é crucial para a produção em larga escala de mudas geneticamente idênticas e para a rápida expansão populacional de espécies vegetais de interesse (GONÇALVES *et al.*, 2020).

No entanto, observou-se um efeito inibitório do BAP na formação de raízes nos explantes de *S. luetzelburgii*, conforme demonstrado pela redução na formação de raízes nos tratamentos que incluíram esse regulador de crescimento. Os dados da Tabela 3 mostram que a combinação de ANA e BAP teve um impacto significativo no enraizamento dos explantes. A presença de BAP foi associada a uma redução na formação de raízes,

especialmente nas concentrações mais altas, sugerindo que a quantidade de BAP utilizada pode estar inibindo a formação de raízes. Esta observação é coerente com a literatura existente que indica que o excesso de BAP pode não apenas inibir a formação de raízes, mas também induzir um estado de crescimento não direcionado que prejudica o desenvolvimento radicular (GEORGE; HALL; KLERK, 2008). O efeito redutor do ANA na presença de BAP reforça a necessidade de um balanço cuidadoso entre reguladores para promover tanto a brotação quanto o enraizamento.

Esse efeito é consistente com estudos anteriores que destacam a capacidade do BAP de promover a proliferação celular e a diferenciação de tecidos meristemáticos, inibindo assim a formação de raízes adventícias (HENRIQUE *et al.*, 2021). A formação de raízes é crucial para o sucesso da aclimatização das plantas, portanto, essa observação destaca a necessidade de ajustes nas concentrações e combinações de reguladores para otimizar o desenvolvimento do sistema radicular durante a micropropagação (GONÇALVES *et al.*, 2020).

Estudos anteriores sobre micropropagação de cactáceas têm mostrado que a eficácia dos reguladores vegetais pode variar significativamente entre espécies e até mesmo entre cultivares da mesma espécie (SIEGLOCH *et al.*, 2020). A importância de ajustar as concentrações de BAP e ANA para obter os melhores resultados em cada tipo específico de cacto é uma mensagem consistente com a literatura (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014). Os resultados obtidos aqui destacam a necessidade de protocolos específicos para *Stephanocereus luetzelburgii*, que possam ser adaptados para maximizar a eficiência de cada fase do processo de micropropagação.

7. CONCLUSÕES

A presença de BAP promove calogênese e brotação, mas inibe o enraizamento em explantes de *Stephanocereus luetzelburgii*. O tratamento sem reguladores vegetais permite o início mais precoce da diferenciação dos brotos, bem como resultou em 100% de enraizamento. As diferentes concentrações e combinações de reguladores vegetais não são significativas para a quantidade de brotos de *S. luetzelburgii* até 12 semanas, mas existe a tendência de crescimento do número de brotos após as 12 semanas em explantes expostos a concentrações mais altas de BAP.

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. A. L., SOARES, W. S.; FERNANDES, Y. T. D., RÊGO, M. M. Efeito de benziladenina na regeneração de duas variedades de palma forrageira (*Opuntia spp.*). **Scientia Plena**. v.9, n.6, p. 1–8, 2013.
- ANDERSON, Edward F. **The cactus family**. [S.l.]: Timber Press, 2001. p. 776. Acesso em: 19 maio 2024.
- ÂNGULO-BEJARANO, P. I. e Paredes-López, O. Development of a regeneration protocol through indirect organogenesis in prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill). **Scientia Horticulturae**. v.128, n.3, p. 283–288, 2011.
- CARVALHO, Carlos E. *et al.* High endemism of cacti remains unprotected in the Caatinga. **Biodiversity and Conservation**, v. 31, n. 4, p. 1217–1228, 1 mar. 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10531-022-02384-y>>. Acesso em: 19 maio 2024.
- CAVALCANTE, Arnóbio; TELES, Marcelo; MACHADO, Marlon. **Cactos do semiárido do Brasil: Guia ilustrado**. Campina Grande: INSA, 2013. v. 1. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/271519077_Cactos_do_semiarido_do_Brasil_Guia_ilustrado>. Acesso em: 19 maio 2024.
- CHOREÑO-TAPIA, J. M. GONZÁLEZ-ROSAS, H., TERRAZAS-SALGADO, T. HERNÁNDEZ-LIVERA, A. Propagación *in vitro* de *Cephalocereus senilis haworth pfeiffer* a partir de aréolas. **Revista Chapingo Serie Horticultura**. v.8, n.2, p. 183–196, 2002.
- EL FINIT, A., El Boullani, R., Aabd, A. N., Msanda, F., Serghini, M. A. El Mousadik, A. In Vitro Propagation of Three Moroccan Prickly Pear Cactus *Opuntia* and Plant Establishment in Soil. **Notulae Scientia Biologicae**. v.5, n.1, p.39-44, 2013.
- ESTRADA-LUNA, Andrés A. *et al.* *In vitro* micropropagation of the ornamental prickly pear cactus *Opuntia lanigera* Salm–Dyck and effects of sprayed GA3 after transplantation to ex

vitro conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 117, n. 4, p. 378–385, 18 ago. 2008. Acesso em: 19 maio 2024.

FAN, Q., Zheng, S., Yan, F., Zhang, B., Qiao, G., Wen, X. Efficient regeneration of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) and an assessment of the genetic fidelity of in vitro-derived plants using ISSR markers. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** v.88, n. 5, p.631–637, 2013.

FLORES, R.; NICOLOSO, F. T. **Efeito do ANA e BAP na calogênese e organogênese de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 9, n. 4, p. 92-96, 2007.

FREITAS, M. DE F.; CALVENTE, A.; GONZAGA, D. R. **Flora do Rio de Janeiro: Cactaceae**. Rodriguésia, v. 71, 2020.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G.-J. D. **Plant propagation by tissue culture: Volume 1 - The Background**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2007.

GEORGE, Edwin F.; HALL, Michael A.; KLERK, Geert Jan De. **Plant propagation by tissue culture**. [S.l.]: Springer Netherlands, 2008. v. 3. Acesso em: 19 maio 2024.

GONÇALVES, Cezar Neubert; DE AZEVEDO GONÇALVES, Cristiane Freitas. **A Lista Preliminar de Plantas Vasculares Endêmicas da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, com Comentários sobre seus Status de Ameaça de Extinção**. Biodiversidade Brasileira, v. 13, n. 4, 2023.

GONÇALVES, Mayra Juline *et al.* Rápida produção de mudas de pitaita (*Hylocereus undatus*, Cactaceae) por meio da técnica da micropropagação. **Acta Biológica Catarinense**, v. 7, n. 1, p. 75–81, 31 mar. 2020. Disponível em: <<https://periodicos.univille.br/ABC/article/view/162>>. Acesso em: 19 maio 2024.

HENRIQUE, Carlos *et al.* Atuação do BAP no enraizamento *in vitro* de explantes de pitaiá vermelha (*Hylocereus undatus*). **Revista Científica Rural**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.30945/rcr-v23i1.3982>>. Acesso em: 19 maio 2024.

HUA, Q., CHEN, P., LIU, W., MA, Y., LIANG, R., WANG, L., WANG, Z., HU, G., QIN, Y. A protocol for rapid *in vitro* propagation of genetically diverse pitaya. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 120, 741-745. 2015.

HUBSTENBERGER, J. F., Clayton, P. W., Phillips, G. C. Micropropagation of Cacti. 1992. In: Bayay, Y. P. S. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, v. 20. Berlin: Springer, Cap. 4, p.49- 68.

KHATTAB, Salah *et al.* Genetic and phytochemical analysis of the *in vitro* regenerated *Pilosocereus robinii* by ISSR, SDS-PAGE and HPLC. **Gene**, v. 533, n. 1, p. 313–321, 1 jan. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24045133/>>. Acesso em: 19 maio 2024.

LACA-BUENDIA, J. P. Efeito de doses de reguladores de crescimento no algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 1, p. 109–113, 1989.

LANGER, D. F. E MERGENER, R.A. Cultivo *in vitro* de *Cereus hildmannianus* K. Shum. **Unoesc & Ciência – ACBS**. v.4, n.1, p. 7–14, 2013.

LEMA-RUMIŃSKA, Justyna; KULUS, Dariusz. **Micropropagation of Cacti—a Review**. *Haseltonia*, v. 19, p. 46-63, 2014. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/43723228>. Acesso em: 25 jul. 2024.

LUCAS, M. A. K. *et al.* Micropropagação de violeta-africana (*Saintpaulia ionantha wendl.*): efeito da benzilaminopurina na multiplicação. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, p. 1.380–1.385, 2007

MAJEROWICZ, N.; PERES, L.; KERBAUY, G. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

MALDA, Guadalupe; SUZÁN, Humberto; BACKHAUS, Ralph. *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. **Scientia Horticulturae**, v. 81, n. 1, p. 71-87, 29 abr. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423898002507>. Acesso em: 7 jun. 2024.

MARCHI, M. N. G. *et al.* **Aspectos fisiológicos, anatômicos e moleculares da propagação e conservação *in vitro* de espécies de cactos endêmicos da Bahia.** Universidade Estadual de Feira de Santana, 2016. 180 f. Tese (Doutorado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2016.

MARCHI, M. N. G. **Micropropagação e conservação de *Discocactus Zehntneri*, *Pilosocereus Gounellei* e *Stephanocereus Luetzelburgii*, cactos nativos da Chapada Diamantina, Bahia.** 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2012.

MELO, N. de. Introdução aos hormônios e reguladores de crescimento vegetal. **Seminário Coda de Nutrição Vegetal**, v.1., p. 37–54, 2002.

MENEZES, M. O. T. e Ribeiro-Silva, S. (2015). Cactáceas do Ceará, Brasil: prioridades para a conservação. **Gaia Scientia 9 (2)**: 67-76.

MENEZES, T. P. DE, GOMES, W. A., PIO, L. A. S., PASQUAL, M. & RAMOS, J. D. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha, *Hylocereus undatus* haw. **Bioscience Journal**. 2012; 28(6): 868-876.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual misc of plant physiology**, v. 25, p. 135–166, 1974.

ORTEGA-BAES, Pablo; GODÍNEZ-ALVAREZ, Héctor. Global diversity and conservation priorities in the cactaceae. **Biodiversity and Conservation**, v. 15, n. 3, p. 817–827, 13 mar.

2006. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10531-004-1461-x>>. Acesso em: 19 maio 2024.

PADILHA DE MENEZES, Thatiane *et al.* Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 868–876, 21 dez. 2012. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13986>>. Acesso em: 19 maio 2024.

PILLET, Michiel *et al.* Elevated extinction risk of cacti under climate change. **Nature Plants** **2022** **8:4**, v. 8, n. 4, p. 366–372, 14 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41477-022-01130-0>>. Acesso em: 19 maio 2024.

ROJAS-ARÉCHIGA, M. & VAZQUEZ-YANES, C. 2000. Cactus seed germination: a review. **J Arid Environ.**, 44: 85–104.

ROMÁN, R. S. S., CAETANO, C. M., RAMÍREZ, H. OSORIO, J. G. M. Multiplicación de *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) e *Hylocereus polyrhizus* (pitahaya roja) vía organogénesis somática. **Acta Agronómica**. v.63, n.2, p. 272-281, 2014.

SAJEVA, Maurizio; CARIMI, Francesco; MCGOUGH, Noel. The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) and its Role in Conservation of Cacti and Other Succulent Plants. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 1, n. 2, p. 80–85, 2007. Disponível em: <www.cites.org>. Acesso em: 19 maio 2024.

SBRISSA, F. C.; MELO. A. G. C. de. **Caracterização morfológica e conservação de *Arthrocereus odoratus* F. Ritter**. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal Re.C.E.F, v.20, n.1, p. 19-28 ago, 2012.

SEEMAN, P.; RODRÍGUEZ, C.; JARA, G. CULTIVO *in vitro* DE CACTÁCEAS CON FINES DE CONSERVACIÓN ex situ. **Agro sur**, v. 35, n. 2, p. 24–26, 31 dez. 2007. Disponível em: <<http://revistas.uach.cl/index.php/agrosur/article/view/3926>>. Acesso em: 19 maio 2024.

SIEGLOCH, Amanda *et al.* POTENCIAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA CACTACEAE NO BRASIL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. **Biodiversidade**, v. 19, n. 4, p. 2020, 17 out. 2020. Disponível em: <<https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/11314>>. Acesso em: 19 maio 2024.

SOUZA, AV de *et al.* **Produção in vitro de mudas de coroa-de-frade (Melocactus oreas Miq.-Cactaceae): uma espécie nativa da Caatinga de potencial ornamental.** Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, v. 94, 2012.

SRISKANDARAJAH, S., PRINSEN, E., MOTYKA, V. DOBREV, P. I., SEREK, M. Schlumbergera and Rhipsalidopsis in Relation to Endogenous Phytohormones, Cytokinin Oxidase/ Dehydrogenase, and Peroxidase Activities. **Journal of Plant Growth Regulation**. v.25, n.1, p. 79–88, 2006.

TAYLOR, Nigel P.; ZAPPI, Daniela C. **Cacti of eastern Brazil.** [S.l.]: Royal Botanic Gardens, Kew, 2004. v. 1. Disponível em: <<https://www.nhbs.com/cacti-of-eastern-brazil-book>>. Acesso em: 19 maio 2024.

VIÑAS, C. M., FERNÁNDEZ-BRENES, M., AZOFEIFA, A., JIMÉNEZ, V. M. *In vitro* propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F.A.C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**. v.48, n.5, p. 469–477, 2012.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; SILVA, S.R.; MACHADO, M.; MORAES, E. M.; CALVENTE, A.; CRUZ, A.; CAROCCA, J.; ASSIS, J. G.; AONA, L.; MENEZES, M. O. T.; MEIADO, M.; MARCHI, M. N.; SANTOS, M. R.; BELLINTANI, M.; COELHO, P.; NAHOUM, P. I.; RESENDE, S. **Plano de ação para a conservação das cactáceas.** Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBIO, 112 p Série Espécies Ameaçadas, n.24, 112 p.,2011.