



PROD. TEC. ITV DS – N011/2023  
DOI 10.29223/PROD.TEC.ITV.DS.2023.11.Gomes

RELATÓRIO TÉCNICO ITV DS

**PROPAGAÇÃO DE *Arthrocereus glaziovii* (CACTACEAE),  
ESPÉCIE ENDÊMICA E AMEAÇADA DE EXTINÇÃO DO  
QUADRILÁTERO FERRÍFERO/MG**

Relatório do Projeto Plantas do QF

Leilane Bárbara Gomes

Giselly Mota da Silva

Genilton Santos

José Edimar Marangon

Cecílio Frois Caldeira

Belem / PA

Julho / 2023

<b>Título:</b> Propagação de <i>Arthrocerus glaziovii</i> (Cactaceae), espécie endêmica e ameaçada de extinção do Quadrilátero Ferrífero/MG	
<b>PROD. TEC. ITV DS N011/2023</b>	<b>Revisão</b>
<b>Classificação:</b> ( ) Confidencial ( ) Restrita ( ) Uso Interno ( X ) Pública	<b>00</b>

**Informações Confidenciais** - Informações estratégicas para o Instituto e sua Mantenedora. Seu manuseio é restrito a usuários previamente autorizados pelo Gestor da Informação.

**Informações Restritas** - Informação cujo conhecimento, manuseio e controle de acesso devem estar limitados a um grupo restrito de empregados que necessitam utilizá-la para exercer suas atividades profissionais.

**Informações de Uso Interno** - São informações destinadas à utilização interna por empregados e prestadores de serviço

**Informações Públicas** - Informações que podem ser distribuídas ao público externo, o que, usualmente, é feito através dos canais corporativos apropriados

**Nota de capa** (para os casos onde há participação de equipe técnica e membro de fora do ITV)

**Citar como**

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

G633 Gomes, Leilane Bárbara.  
 Propagação de *Arthrocerus glaziovii* (Cactaceae), espécie endêmica e ameaçada de extinção do Quadrilátero Ferrífero/MG. / Leilane Bárbara Gomes, Giselly Mota da Silva, Genilton Santos, José Edimar Marangon, Cecílio Frois Caldeira - Belém: 2023.

25 p. : il.

Relatório Técnico (Instituto Tecnológico Vale) – 2023  
 PROD.TEC.ITV.DS – N011/2023  
 DOI 10.29223/PROD.TEC.ITV.DS.2023.11.Gomes

1. Cultivo *in vitro*. 2. Cactaceae. 3. Aclimatização. 4. Reintrodução. I. Silva, Giselly Mota de. II. Santos, Genilson. III. Marangon, José Edimar. IV. Caldeira Júnior, Cecílio Frois. V. Título.

Bibliotecário responsável: Eddie Saraiva / CRB 2 – 058P

## RESUMO EXECUTIVO

As cangas são ecossistemas que ocorrem sobre afloramentos de rochas ferruginosas as quais recobrem grandes reservas de minério de ferro. Devido as características peculiares destes ecossistemas (solos e clima), a vegetação de canga é composta por elevado grau de endemismo e raridade. Espécies como *Arthrocerus glaziovii* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi, Cactaceae endêmica dos campos rupestres ferruginosos do Quadrilátero Ferrífero/MG, possuem distribuição reduzida e encontra-se ameaçada de extinção devido alteração em seu habitat natural por as ações antrópicas. As atividades de mineração, juntamente com a urbanização na região, são as principais causas desta deterioração de habitat. Portanto, o desenvolvimento de estratégias que permitam a coexistência da atividade econômica da região com a conservação da biodiversidade é fundamental, sobretudo para evitar a perda líquida de espécies e assegurar a manutenção de ecossistemas como as cangas. Atualmente, as atividades de exploração da mina Abóboras estão associadas a condicionante 14 (certificado LP + LI + LO n° 064/2018, na Área Diretamente Afetada do projeto de Ampliação da Mina Abóboras – Fase Itabiritos, PA COPAM 00237/1994/095/2011 / SUPRAM) que determina a necessidade de prospecção de populações de *A. glaziovii*. Todavia, devido a escassez de informações acerca desta espécie e da importância do conhecimento de formas de propagação para projetos de conservação de uma espécie ameaçada, foi também proposto de forma voluntária elaborar um protocolo visando a obtenção de mudas viáveis. Neste estudo desenvolvemos um protocolo de propagação *in vitro* e aclimação de mudas para a espécie *A. glaziovii* com o objetivo de estabelecer uma das primeiras etapas do processo de conservação. Foi utilizada a técnica de cultivo *in vitro* pode ser uma alternativa para otimizar a produção de mudas em maior escala, usando reduzido espaço físico e num curto intervalo de tempo para obtenção de mudas de qualidade. Assim, as etapas da propagação consistiram de i) resgate de matrizes em campo e cultivo em viveiro; ii) coleta e assepsia de sementes; iii) germinação e desenvolvimento *in vitro*; iv) aclimação em viveiro visando o plantio definitivo em campo. As matrizes doadoras de sementes foram obtidas das áreas de supressão da mina de Abóboras, as quais foram transferidas para o viveiro de mudas do Miguelão no Centro de Tecnologia de Ferrosos (CTF) em Nova Lima/MG. A obtenção do material propagativo foi feita por meio da coleta e extração da polpa dos frutos maduros de *A. glaziovii*, e retirada completa da mucilagem do entorno das sementes. Após esse processo, as sementes foram desinfestadas com álcool etílico 70% e solução de NaClO a 0,3%, e inoculadas em fracos contendo meio de cultivo composto por sacarose (15 g L<sup>-1</sup>), carvão (1,5 g L<sup>-1</sup>) e fertilizante B&G® (3mL L<sup>-1</sup>), suplementado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. O material foi levado para ambiente controlado com fotoperíodo de 12 horas e temperatura em torno de 25 °C, respectivamente, onde permaneceram por 19 meses. Estas condições levaram a obtenção de 82% de germinação e desenvolvimento das plântulas *in vitro*, não sendo necessários subcultivos, assim como não foram observadas perdas por contaminação de materiais. 100% das plântulas desenvolveram sistema radicular e foram transferidas para aclimação em casa de vegetação coberta por sombrite com atenuação de 80% da radiação. Os substratos usados para aclimação foram: topsoil de *canga*; substrato hortícola comercial (Bioplant®); substrato preparado para rustificação de mudas no viveiro do CTF (terra, areia, bioplant, adubo 6:30:6, agrossilício e gesso); mistura de Bioplant® + substrato viveiro na proporção 50:50. Após nove meses, observou-se uma média de sobrevivência de 90% e as mudas no topsoil de *canga* obtiveram maior sucesso, com 100% de sobrevivência. O maior número de perfilhos foi obtido em plantas no *topsoil* de *canga* e substrato Bioplant, sendo aproximadamente 3x mais que das plantas cultivadas no substrato do viveiro. Importante destacar que a mistura do substrato Bioplant ao substrato do viveiro na proporção de 1:1 (mix) promoveu o aumento do número de perfilhos por planta. Para esta etapa, recomenda-se o uso de *topsoil* de *canga* ou substrato hortícola Bioplant, ambos pela elevada sobrevivência e crescimento das plantas. Os resultados promissores deste estudo têm o potencial de contribuir significativamente para a conservação de *A. glaziovii*, pois fornece informações básicas para a produção em larga escala de mudas geneticamente diversas que poderão ser usadas para estudos de reintrodução em ambiente natural com objetivo de enriquecimento de populações ou introdução em áreas degradadas.

## RESUMO

Os campos rupestres ferruginosos, conhecidos como cangas, abrigam ecossistemas únicos com alta raridade e endemismo devido à sua ocorrência sobre depósitos de minério de ferro. Entretanto, a vegetação desses campos enfrenta crescentes desafios devido a atividades humanas, como mineração e urbanização. Uma das espécies ameaçadas nesse cenário é *Arthrocerus glaziovii* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi, uma Cactaceae endêmica do Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brasil. Com o objetivo de contribuir para a conservação dessa espécie e evitar a perda de biodiversidade nas cangas, foi desenvolvido um protocolo completo de propagação *in vitro* e aclimação para *A. glaziovii*. Esse estudo foi motivado pela obrigatoriedade de prospectar populações desta espécie nas atividades de mineração na mina de Abóboras. Todavia, devido falta de informações sobre a espécie e a importância das técnicas de propagação na conservação de espécies ameaçadas, optou-se por desenvolver estes estudos complementares. O protocolo abrangeu várias etapas, incluindo o resgate das matrizes em campo e o cultivo em viveiro, a coleta e o tratamento asséptico das sementes, a germinação e o desenvolvimento *in vitro* das mudas, e sua aclimação em estufa para posterior plantio em campo. As sementes foram obtidas pela extração da polpa madura dos frutos de *A. glaziovii*, seguida de remoção da mucilagem. A desinfestação foi realizada com soluções de álcool etílico e NaClO, e as sementes foram inoculadas em meio de cultura com agar. Os resultados mostraram que 82% das sementes germinaram com sucesso, e as mudas *in vitro* desenvolveram-se sem necessidade de subcultivos ou perdas por contaminação. Para a aclimação, diferentes substratos foram testados, sendo o *topsoil* de canga e o substrato comercial Bioplant® os mais eficientes, com sobrevivência acima de 90% e maior número de perfilhos. Além disso, a mistura de Bioplant® com substrato do viveiro apresentou maior formação de perfilhos por planta. Esses resultados têm potencial de contribuir para a conservação de *A. glaziovii*. O protocolo permitirá a produção em larga escala de mudas geneticamente diversas, adequadas para reintrodução em habitats naturais, enriquecimento populacional e restauração de áreas degradadas. O estudo ressalta a importância das técnicas de propagação na preservação de espécies ameaçadas e na busca pelo equilíbrio entre atividades econômicas e a proteção da biodiversidade nos campos rupestres ferruginosos.

**Palavras-chave:** Cultivo *in vitro*; Cactaceae; canga; aclimação; reintrodução.

## ABSTRACT

The ferruginous rocky fields, known as cangas, harbor unique ecosystems with high rarity and endemism due to their occurrence over iron ore deposits. However, the vegetation in these fields faces increasing challenges due to human activities, such as mining and urbanization. One of the endangered species in this scenario is *Arthrocerus glaziovii* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi, an endemic Cactaceae found in the Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil. In an effort to contribute to the conservation of this species and prevent biodiversity loss in cangas, a comprehensive protocol of in vitro propagation and acclimatization for *A. glaziovii* was developed. This study was motivated by the requirement to prospect populations of this species in mining activities at Abóboras mine. However, due to the lack of information about the species and the importance of propagation techniques in conserving endangered species, these complementary studies were undertaken. The protocol involved several steps, including the rescue of matrices in the field and their cultivation in nurseries, collection and aseptic treatment of seeds, in vitro germination and development of seedlings, and their subsequent acclimatization in a greenhouse for field planting. The seeds were obtained by extracting mature fruit pulp from *A. glaziovii*, followed by the removal of mucilage. Disinfestation was carried out using ethanol and NaClO solutions, and the seeds were inoculated into agar-containing culture medium. The results showed that 82% of the seeds successfully germinated, and the in vitro seedlings developed without the need for subcultures or losses due to contamination. For acclimatization, different substrates were tested, with canga topsoil and the commercial substrate Bioplant® being the most efficient, showing a survival rate above 90% and increased shoot formation per plant. Additionally, the mixture of Bioplant® with the nursery substrate resulted in a higher number of shoots per plant. These results have the potential to contribute to the conservation of *A. glaziovii*. The protocol will enable large-scale production of genetically diverse seedlings, suitable for reintroduction into natural habitats, population enrichment, and restoration of degraded areas. The study emphasizes the importance of propagation techniques in conserving endangered species and strives for a balance between economic activities and the protection of biodiversity in ferruginous rocky fields.

**Keywords:** in vitro culture, canga, acclimatization, rewilding

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Indivíduos de *Arthrocerus glaziovii* (A) em ambiente natural no quadrilátero ferrífero; (B) em floração; (C) em frutificação. Fonte: Bioma; Vale, 2018 ..... 2
- Figura 2** - Processo de obtenção de sementes de *Arthrocerus glaziovii* para estabelecimento de protocolo de micropropagação. Fontes: Bioma; Vale, 2018 ..... 5
- Figura 3** - Plântulas de *Arthrocerus glaziovii* cultivadas in vitro com x dias de idade. 8
- Figura 4** - Mudanças de *Arthrocerus glaziovii* A - Plântulas retiradas do cultivo in vitro; B – etapa de aclimatização em diferentes substratos..... 9
- Figura 5** - Plântulas de *Arthrocerus glaziovii* ao serem retiradas do meio de cultivo *in vitro*. (a) Plântulas após lavagem para remoção de meio de cultivo; histogramas com valores de (b) comprimento de caule e (c) raiz, (d) diâmetro de caule e (e) número de brotações por plântula. Histogramas com os valores das 82 plântulas obtidas nesta fase. .... 9
- Figura 6** - *Arthrocerus glaziovii* durante período de aclimação em casa de vegetação. (a) Plantas nos diferentes substratos de cultivo; (b) Taxa de sobrevivência, (c) Número de perfilhos e (d) Comprimento e (e) Diâmetro do caule. Barras seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade. .... 10

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
2.1	MATERIAL VEGETAL: COLETA E ASSEPSIA DAS SEMENTES .....	12
2.2	ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> .....	13
2.3	ACLIMATIZAÇÃO E RUSTIFICAÇÃO .....	13
2.3.1	Análises físicas e químicas dos substratos .....	14
<b>3</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>15</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>21</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>22</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

O Quadrilátero Ferrífero está localizado no estado de Minas Gerais e é caracterizado por solos ricos em metais de importância econômica, como minério de ferro e manganês, os quais apresentam formando os afloramentos de canga. As cangas são ambientes ameaçados pela atividade mineradora e urbanização, o que torna o Quadrilátero Ferrífero uma área de grande importância para conservação da biodiversidade, por preservar características distintas de qualquer outra ecorregião e com grande riqueza de biodiversidade (LIMA, 2016). Estes locais apresentam condições ambientais adversas ao desenvolvimento de várias espécies vegetais, tais como alta exposição de radiação, altos gradientes de amplitude térmicas diárias e sazonais, ventos fortes e baixo desenvolvimento do substrato. Estes ambientes são também marcados por alta demanda por transpiração, a baixa retenção de água pelo solo, o baixo PH, o alto teor de metais e alumínio e incidência recorrente de fogo, os quais desafiam as plantas desse ambiente mesmo nos períodos chuvosos (JACOBI et al., 2007; VINCENT & MEGURO, 2008; SILVA, 2013). Desta forma, as espécies que prosperam nestes ambientes apresentam adaptações e são usualmente confinadas a altitudes e substratos específicos, com reduzida distribuição espacial, portanto raras e as vezes classificadas como ameaçadas de extinção (JACOBI et al., 2007).

A Cactaceae *Arthrocerus glaziovii* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi é uma destas espécies endêmicas e restritas do Quadrilátero Ferrífero. Esta espécie é uma erva rupícola ou saxícola, com cerca de até 30 cm de comprimento, apresenta o caule articulado prostrado, sem folhas, com espinhos e flores brancas vistosas, noturnas e efêmeras (Fig. 1) (LIMA et al, 2016; BIOMA; VALE, 2018). A espécie vem sofrendo com as ações antrópicas devido sua associação a substratos muito específicos e sua aproximação à região metropolitana, o que tem provocado fragmentação e perda de área e redução da qualidade de seu hábitat natural. *Arthrocerus glaziovii* é uma espécie considerada rara, suas subpopulações são acentuadamente fragmentadas, apresentando baixa densidade populacional (0,23 ind/m<sup>2</sup>) e que possivelmente estão em declínio (MARTINELLI; MORAES, 2013). Devido à constante redução de sua área de ocorrência, *A. glaziovii* está em perigo de extinção (EN) segundo a lista do MMA (2022) e da IUCN (Taylor & Braun, 2013). Por outro lado, há registros de sua ocorrência em diversas localidades na região do Quadrilátero Ferrífero, incluindo áreas de conservação. Pode ser encontrada nas áreas de cangas da Serra da Calçada, Itabirito, Serra do Rola Moça, Serra da Piedade, próximo ao Viveiro de mudas do Miguelão em Nova Lima, Mina do Capão Xavier, Mina do Capitão do Mato e RPPN Cata Branca. *Arthrocerus glaziovii* é considerada uma espécie com potencial para ser usada na recuperação dos campos rupestres ferruginosos, pois apresenta metabolismo de fixação de carbono tipo CAM (Metabolismo Acido das Crassulaceas), o que lhe permite obter um elevado aproveitamento da água em troca por moléculas de CO<sub>2</sub> do ambiente, grande tolerância a seca, tornando-a apta para colonizar e prosperar em ambientes áridos (LIMA et al, 2016).



**Figura 1.** Indivíduos de *Arthroocereus glaziovii* em ambiente natural no Quadrilátero Ferrífero;MG (A); em floração (B); em frutificação (C). Fonte: Bioma; Vale, 2018; Oliveira, 2018.

Por ter ocorrência restrita às cangas do QF e serem estas áreas grandes reservas de minério de ferro, a mineração e atividades correlatas na região tem afetado o habitat natural de *A. glaziovii*. Muitos dos locais onde há registros de sua ocorrência natural já foram eliminados devido à mineração (Taylor; Zappi, 2004). Desta forma, processos de licenciamento ambiental nestas áreas podem apresentar condicionantes que buscam o reparo das populações afetadas e a conservação desta espécie. Atualmente, a espécie está associada a condicionante 14 da Licença Ambiental, Certificado LP + LI + LO nº 064/2018, na Área Diretamente Afetada do projeto de Ampliação da Mina Abóboras – Fase Itabirito, PA COPAM 00237/1994/095/2011 / SUPRAM. Em linhas gerais, a condicionante requer a prospecção de populações de *A. glaziovii* nas áreas de potencial ocorrência. No entanto, a Vale é signatária dos princípios de conservação/compensação que visam não ter perda líquida de espécies advindos de suas atividades. Assim, na existência de impactos, busca-se “medidas para os prevenir e minimizar de forma

a implementar a reabilitação/restauração e compensação” ([Biodiversity - ESG - Vale](#), disponível em 08 de dezembro de 2022). Sendo assim, para além do requerido na condicionante, a Vale propôs, de forma voluntária e como ação positiva, desenvolver protocolos de propagação com o objetivo de obtenção de mudas viáveis para uso projetos de conservação de espécies ameaçadas.

Devido à escassez de informações acerca da biologia desta espécie e sendo uma etapa inicial do processo de conservação, estudos buscando compreender os processos de propagação de *A. glaziovii* são fundamentais. Contudo, os métodos de propagação convencionais são inadequados para a multiplicação de inúmeras espécies de cactos que apresentam crescimento lento e baixos índices de produção de sementes, germinação e brotação (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). A propagação vegetativa, apesar de mais utilizada, pode requer grandes espaços e produzirem uma baixa taxa de multiplicação (MABROUK et al., 2021), além de apresentar dificuldades para manutenção da diversidade genética, fundamental para projetos com objetivo de conservação (DIAS et al., 2012). Desta forma, apesar das dificuldades com a propagação seminífera, esta é desejável para espécies como *A. glaziovii* por fornecer material com potencial de carregar maior diversidade genética para a produção de mudas (OLIVEIRA et al., 2016).

Estudos sobre o comportamento germinativo de sementes de quatro táxons de *Arthrocereus* revelaram uma elevada taxa de germinação, mas com baixa velocidade de germinação, dependência de luz e temperatura ótima entre 20 e 30 °C (CHEIB; GARCIA, 2011). Estes estudos também mostraram que as sementes toleram dessecação e quando armazenadas se mantem viáveis; portanto, é sugerida a presença de dormência nas sementes ao se dispersarem, o que pode ser estratégia essa adaptativa importante para formação de banco de sementes e também para evitar que sementes germinem em períodos desfavoráveis (como durante estação seca) para o estabelecimento. Tal estratégia pode ser fundamental para ambientes inóspitos, como campos rupestres, onde os solos têm capacidades limitadas para retenção de água (BENITES et al., 2007). Desta forma, espera-se que sementes de *A. glaziovii* possam também apresentar elevada viabilidade e que, fornecendo condições ideais de germinação seja possível proceder com a propagação sexuada.

Devido ao decréscimo populacional das populações do *A. glaziovii* em ambiente natural, é crucial a busca de métodos de propagação que proporcionem a produção de mudas em larga escala, sua aclimatação e reintrodução em ambiente natural para assegurar sua permanência na natureza. A propagação *in vitro* é uma ferramenta útil para manter a biodiversidade vegetal, principalmente para espécies de difícil reprodução e para aquelas raras ou ameaçadas de extinção (ENGELMANN, 2011). Por meio desta técnica é possível produzir um grande número de plantas em curto período de tempo e espaço reduzido, sendo seu sucesso demonstrado em várias espécies de cactos ameaçadas de extinção (PÉREZ-MOLPHE-BALCH; DÁVILA-FIGUEROA, 2002).

Estudos sobre micropropagação de cactáceas a partir da germinação de sementes *in vitro* foram realizados por Perez-Molphe-Balch (2003), Santos-Díaz et al. (2003) e Dávila-Figueroa et al. (2005) com diferentes resultados segundo as espécies trabalhadas em cada estudo. Os resultados de protocolos de micropropagação são significativamente diferentes entre as espécies e muitas vezes requer ajustes específicos. Ainda assim, a produção de mudas *in vitro* de espécies de *Melocactus* sp. via germinação de sementes *in vitro*, pode ser consideravelmente vantajosa quando comparada à propagação convencional *in vivo*. Isso ocorre principalmente devido ao lento desenvolvimento das plantas em condições naturais. Além disso, em estudos de germinação *in vivo* realizados com a espécie *Melocactus bahiensis*, a taxa de germinação de sementes foi inferior a 50% (LONE et al., 2007).

Além das vantagens de propagação, a conservação *in vitro* pode ser também utilizada como uma técnica complementar na conservação *ex situ* de germoplasma e apresenta como vantagens a manutenção dos genótipos em condições assépticas, a redução nos custos e mão-de-obra, a otimização do espaço físico, além da facilidade de intercâmbio do material vegetal (ENGELMANN, 2011). A conservação *in vitro* é também uma alternativa para propagação de espécies ameaçadas e de difícil propagação por métodos convencionais. Isso ocorre usualmente para casos em que a taxa de germinação de sementes na natureza é muito baixa, como por exemplo devido a sementes de algumas espécies não possuírem reserva nutricional suficiente, o que as leva a dependerem de condições ambientais favoráveis para se desenvolverem, tais como um balanço adequado entre umidade, luminosidade e nutrientes.

Neste estudo objetivamos desenvolver um protocolo de micropropagação para *A. glaziovii*. Para visando o estabelecimento de uma técnica que possa permitir a obtenção de plantas saudáveis a aclimatadas para plantio em ambiente natural.

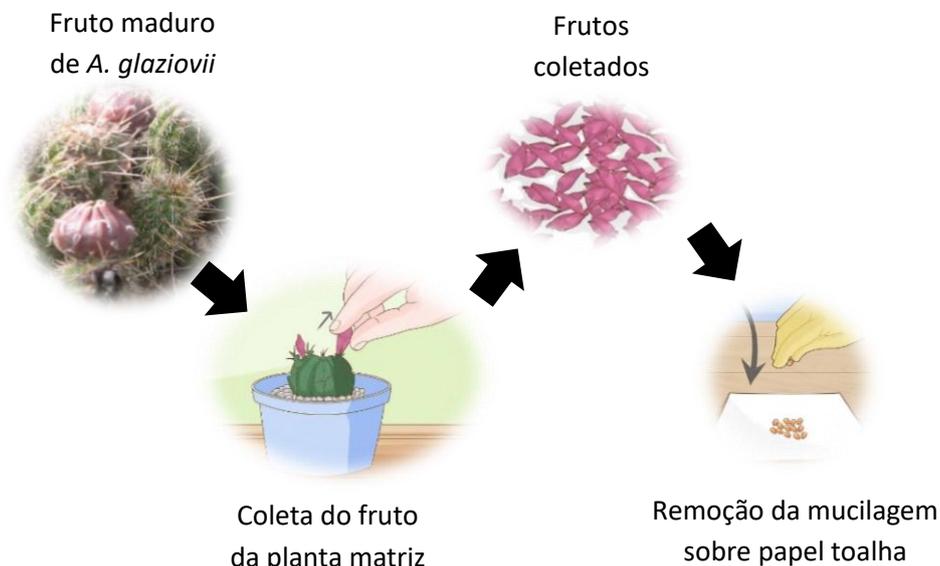
## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As etapas para o estabelecimento do protocolo de micropropagação de *A. glaziovii* foram desenvolvidas na Biofábrica do Centro de Tecnologia de Ferrosos (CTF) localizada na cidade de Nova Lima/MG.

### 2.1 Material vegetal: coleta e assepsia das sementes

As matrizes fornecedoras do material propagativo foram coletadas em resgates de flora realizados nas Minas de Capão Xavier, Abóboras e Pico, e acondicionadas no Centro de Biodiversidade da Vale. Os frutos maduros (aspecto rosa / avermelhado) foram coletados e a polpa extraída, friccionando os frutos sobre o papel toalha afim de retirar toda mucilagem da semente. Após esse processo, as sementes foram deixadas sobre a bancada por um período de dois dias para secagem, sem necessidade de levar ao sol. Após esse período, com auxílio de uma peneira, as sementes foram lavadas em água corrente para

retirada dos resíduos de mucilagem, e depois deixadas para secar novamente sobre papel toalha, o processo se repetiu até retirada total da mucilagem (Fig. 2).



**Figura 2.** Processo de obtenção de sementes de *Arthrocreus glaziovii* para estabelecimento de protocolo de micropropagação. Fontes: Bioma; Vale, 2018; Andrew Carberry (site WikiHow).

Após beneficiamento, as sementes foram levadas para câmara de fluxo laminar e colocadas em um Becker de vidro contendo solução de álcool etílico 70 % num volume que as cobrissem por completo. O material foi levado para agitador magnético por um período de cinco minutos, e depois lavados em água destilada e autoclavada, e transferidos para solução de NaClO a 0,3% por doze minutos, também em agitador, sem lavagem posterior em água.

## 2.2 Estabelecimento *in vitro*

Posteriormente a assepsia, ainda na câmara de fluxo laminar, as sementes foram inoculadas em frascos contendo 22 mL do meio de cultivo composto por sacarose ( $15 \text{ g L}^{-1}$ ), carvão ( $1.5 \text{ g L}^{-1}$ ) e fertilizante B&G® ( $3 \text{ mL L}^{-1}$ ), suplementado com ( $6 \text{ g L}^{-1}$ ) de ágar, como agente solidificante. Na Biofábrica do CTF este meio de cultura é identificado como \$\$03. Foram inoculados 10 frascos com 10 sementes em cada, os quais foram vedados com filme plástico e transferidos para sala de germinação e crescimento sob condições controladas, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura em torno de  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . O laboratório possui lâmpadas com diferentes espectros (comprimentos de onda), as quais são usadas durante as diferentes etapas de cultivo para estimular a germinação e o desenvolvimento da planta. Inicialmente, os potes são direcionados para a estante sob luz branca para germinação e início da fase crescimento. As sementes de *A. glaziovii* foram inoculadas em set/2020, permanecendo na fase de cultivo *in vitro* em

laboratório por 19 meses. Nesse período os potes passaram pelas fontes de radiação nas cores branca, azul e vermelha (nesta ordem) antes de serem remanejadas para ambiente externo. Os potes permaneceram na cor branca por 9 meses, cor azul 8 meses e na cor vermelha por 1 mês. As mudas foram remanejadas para o ambiente externo (casa de vegetação) em maio/2022. Ao serem retiradas do cultivo *in vitro*, foi realizada contagem do número de plântulas em cada frasco.

### 2.3 Aclimatização e rustificação

Após o período de crescimento *in vitro*, as plântulas foram retiradas do meio de cultura, triadas para seleção daquelas com sistema radicular desenvolvido, lavadas em água corrente para retirada total do meio de cultura a fim de evitar proliferação de fungos. Uma vez retirado o meio de cultura, foi avaliado o comprimento radicular e caulinar das plântulas. Em seguida foram transplantadas em sacos plásticos para produção de mudas com volume de 1 dm<sup>3</sup>. Para esta etapa de aclimação em ambiente externo, foram usados diferentes tipos de substratos com o objetivo de identificar o que permite maior sobrevivência e melhor crescimento. Foram usados: i) substrato comercial Bioplant; ii) *topsoil* de canga; iii) substrato do viveiro usado para produção de mudas de espécies nativas (composto de solo (350 dm<sup>3</sup>), areia (70 dm<sup>3</sup>), bioplant (200 dm<sup>3</sup>), fertilizante NPK 6:30:6 (5 kg), agrossilício (2.5 kg) e gesso (2.5 kg); mistura de Bioplant + substrato viveiro na proporção 1:1. O ensaio foi composto por 10 repetições em cada substrato, sendo cada repetição uma planta. Para uniformidade do ensaio, foram selecionadas mudas com tamanhos similares, apresentando aproximadamente 2 cm de comprimento de caule e 2 cm de raiz principal, sem brotações laterais. As mudas foram levadas para casa de vegetação coberta com sombrite que efetua retenção de 60% da radiação. Foram realizadas irrigações periódicas (intervalos 2 dias) e as plantas cultivadas por um período de 9 meses. Após este período, foram avaliadas sobrevivência, número de brotações, comprimento das brotações e comprimento da raiz mais longa.

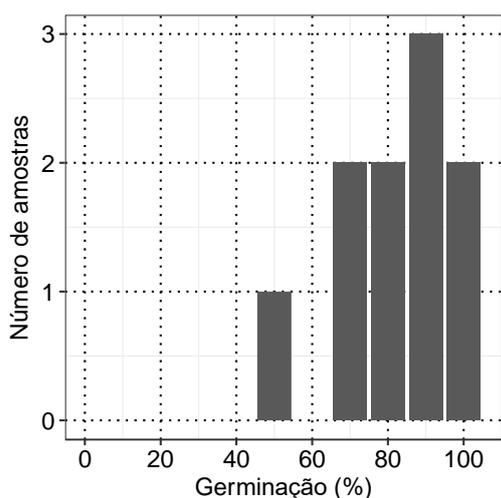
#### 2.3.1 Análises físicas e químicas dos substratos

A caracterização química do solo ocorreu nas amostras de TFSA, sendo determinados os valores de pH em água com potenciômetro, utilizando a relação solo: água de 1:2,5 (TEIXEIRA et al., 2017a). A acidez potencial (H+Al) foi determinada por extração com acetato de cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup> tamponado a pH 7,0, seguida por titulometria (CAMPOS et al., 2017). Os teores trocáveis de Al<sup>3+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> e o teores disponíveis de P e K foram determinados conforme TEIXEIRA et al. (2017b). Para a determinação da acidez trocável (Al<sup>3+</sup>) foi realizada a extração com solução KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, seguida da titulometria. Os cátions Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> também foram extraídos com solução KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e os teores foram determinados por espectroscopia de absorção atômica. A extração de P e K foi realizada com solução Mehlich-1, seguida da determinação do teor por espectrofotometria de chama. O teor de fósforo disponível (P) foi determinado por espectrofotometria UV-Vis (TEIXEIRA et al., 2017c). O teor de fósforo remanescente (P-rem) foi obtido utilizando-se a relação 1:10 de TFSA com solução de CaCl<sub>2</sub> a 0,010 mol L<sup>-1</sup> contendo 60 mg L<sup>-1</sup> de P (ALVAREZ V et al., 2017). A partir desses resultados, relações matemáticas foram

estabelecidas para obtenção da soma de bases (SB), da capacidade de troca catiônica efetiva (CTCe) e a pH 7,0 (CTCt) (TEIXEIRA et al., 2017d), saturação por bases (V) e saturação por alumínio (m) (CAMPOS et al., 2017b). A matéria orgânica (MO) foi obtida por meio da oxidação via úmida, conforme método Walkley-Black. Também foi obtido os teores disponíveis de Cu, Mn, Fe e Zn, Mn e Cu extraídos por solução Mehlich-1 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0125 mol L<sup>-1</sup> + HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>). Os resultados das análises dos substratos são apresentados no Anexo 1.

### 3 RESULTADOS

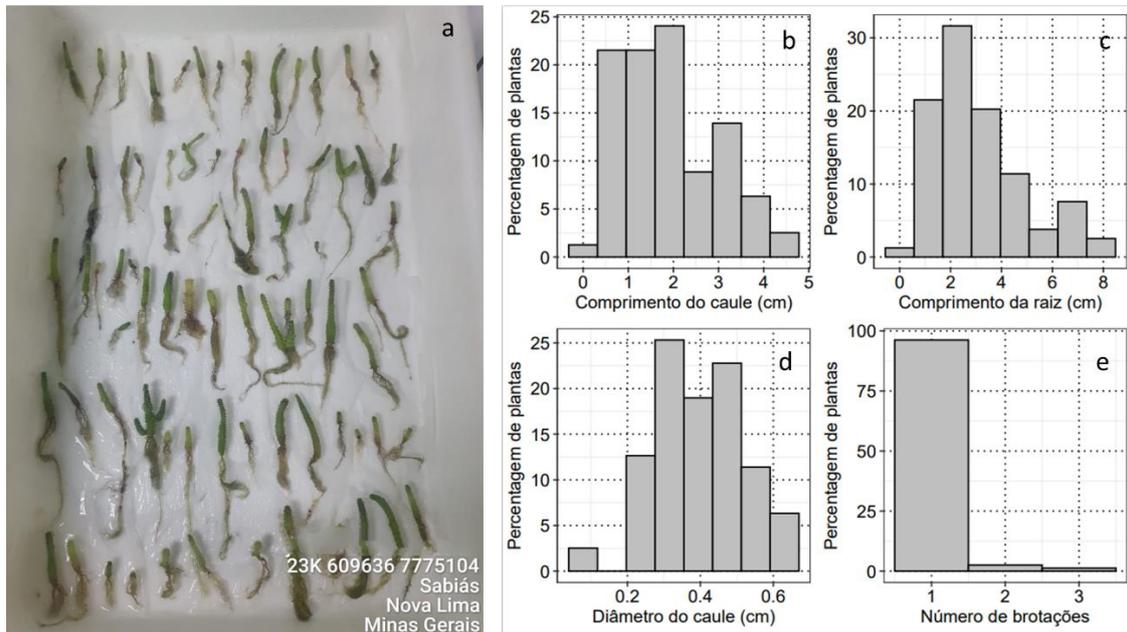
O protocolo de assepsia utilizado mostrou-se eficiente e não foram observadas contaminações nos frascos. A germinação iniciou aos 60 dias após a inoculação, e apresentou uma taxa elevada, com média de 82% (Fig. 3). As condições nutricionais do meio de cultura utilizado proporcionaram sobrevivência de 100% das sementes germinadas e um bom crescimento das plantas, apesar de tamanhos bastante variáveis (Fig. 4). Ao final do período de cultivo *in vitro* a maior parte das plantas apresentou comprimento de caule entre 1 e 3 cm (média de 1.9 cm), havendo plantas que alcançaram cerca 5 cm (Fig. 5ab). O sistema radicular desenvolveu em todas as plântulas e a raiz principal teve comprimento médio de 3 cm, com valores de até 8 cm (Fig. 5c). O diâmetro do caule, avaliado em sua parte mais larga, apresentou valor médio de 0.4 cm, com mais de 70% das plântulas entre 0.3 e 0.5 cm (Fig. 5d). Vale destacar que aproximadamente 3% das plântulas obtidas desenvolveram perfilhos enquanto mantidas em condições controladas, ou seja, cerca de 97% das plântulas mantiveram somente o caule principal durante a fase *in vitro* (Fig. 5e).



**Figura 3.** Histograma com as percentagens de germinação de sementes de *Arthroceres glaziovii* em cultivo *in vitro* (n = 10). Cada amostra representa uma repetição/frasco com 10 sementes.

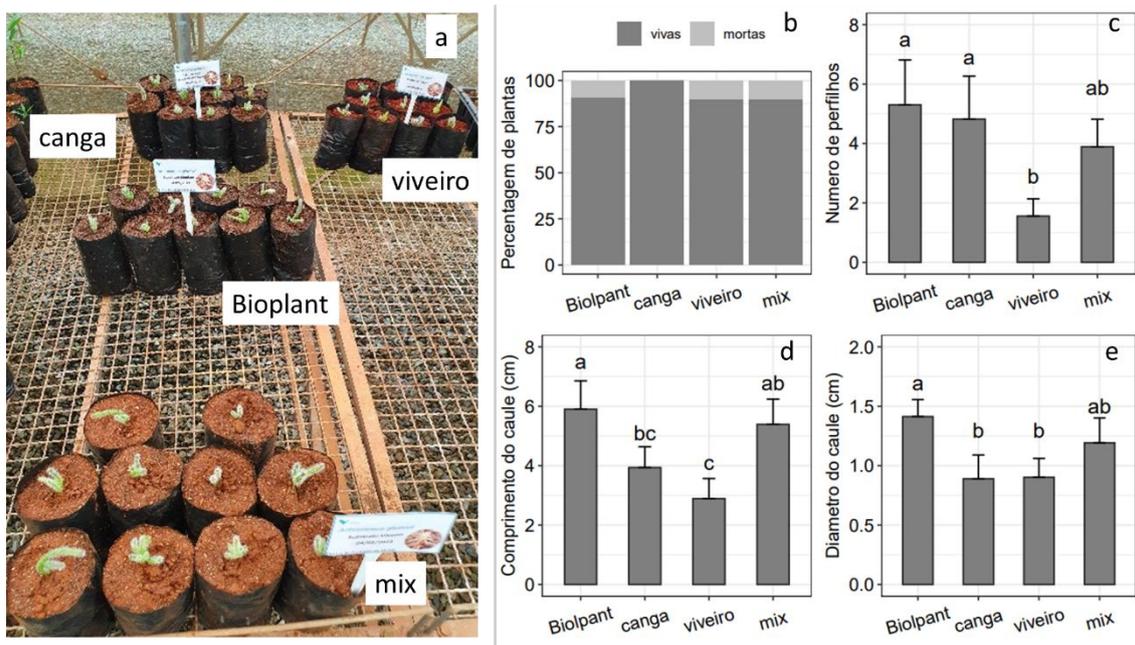


**Figura 4.** Plântulas de *Arthroceres glaziovii* cultivadas *in vitro* com 9 meses após inoculação em meio de cultura. O frasco com as plântulas possui 7.0 cm de diâmetro e 11.5 cm de altura.



**Figura 5.** Plântulas de *Arthroceres glaziovii* ao serem retiradas do meio de cultivo *in vitro*. (a) Plântulas após lavagem para remoção de meio de cultivo; histogramas com valores de (b) comprimento de caule e (c) raiz, (d) diâmetro de caule e (e) número de brotações por plântula. Histogramas com os valores das 82 plântulas obtidas nesta fase.

Após 9 meses de aclimação em casa de vegetação, as plantas cultivadas em *topsoil* de *canga* apresentaram taxa de sobrevivência de 100%, enquanto nos demais substratos a sobrevivência foi de 90% (Fig. 6ab). O maior número de perfilhos foi obtido em plantas no *topsoil* de *canga* e substrato Bioplant, sendo aproximadamente 3x o valor das plantas cultivadas no substrato do viveiro (Fig. 6c). Importante destacar que a mistura do substrato Bioplant ao substrato do viveiro na proporção de 1:1 (mix) promoveu o aumento do número de perfilhos por planta. Tanto o comprimento (Fig. 6d) quanto o diâmetro (Fig. 6e) do caule foram maiores nos tratamentos com o substrato Bioplant. Assim como para outras variáveis, os menores valores de comprimento e diâmetro do caule foram obtidos das plantas no substrato do viveiro.



**Figura 6.** *Arthroceres glaziovii* durante período de aclimação em casa de vegetação. (a) Plantas nos diferentes substratos de cultivo; (b) Taxa de sobrevivência, (c) Número de perfilhos e (d) Comprimento e (e) Diâmetro do caule. Barras seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade.

## 4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo revelaram uma taxa de germinação, sobrevivência e crescimento inicial significativamente elevados para a etapa de cultivo *in vitro* de *A. glaziovii*. Esses resultados indicam a eficácia do meio de cultura utilizado, demonstrando sua adequabilidade e qualidade para promover o desenvolvimento das plantas. É importante ressaltar que a germinação *in vitro* de cactáceas pode variar consideravelmente entre as espécies. Um exemplo desta variação pode ser observado em estudo com 10 cactáceas, onde Correia et al. (2011) mostraram haver espécies com germinação elevada (*Cereus jamacaru* [92%], *Pilosocereus chrysostele* [95%] e *Mammillaria plumosa* [77%]) e outras com valores inferiores (*Melocactus zehntneri* [14%] e *Mammillaria prolifera* [28%]). Uma vez que a germinação pode ser determinada por fatores ambientais e também por características inerentes a própria espécie, tais como viabilidade e presença de dormência nas sementes, os resultados obtidos com *A. glaziovii* evidenciam a elevada viabilidade das sementes desta espécie e, caso possam apresentar algum tipo de dormência, ela pode ter sido superada durante o período de cultivo *in vitro*.

O bom crescimento de *A. glaziovii* sem a necessidade de repicagens ao longo do período de cultivo *in vitro* mostra que os nutrientes contidos no meio de cultura foram suficientes para o pleno desenvolvimento destas plantas. É sabido que o êxito no cultivo por micropropagação depende de diversos fatores como a composição do meio de cultura, fotoperíodo, temperatura, genótipo estudado, material de propagação e assepsia do ambiente (CARVARLO et al., 2006). O protocolo usado neste estudo culminou com 100% das sementes germinadas desenvolvendo plantas com parte aérea e estrutura radicular sem a necessidade de adição de reguladores de crescimento e repicagens ao longo do período de cultivo. Apesar de não ter sido necessário para *A. glaziovii*, o uso de reguladores de crescimento pode ser necessário e auxiliar no processo de germinação de determinadas cactáceas (MIHALTE et al., 2011). A ausência de repicagens reduz o risco de contaminações devido a menor exposição do meio de cultura ao ambiente externo e as consequentes perdas de materiais que podem advir das contaminações. Além disso, também reduz custos do processo de produção, os quais incluem desde os insumos para o preparo dos meios de cultura, quanto mão de obra para todos os procedimentos envolvidos com o processo de repicagem até que as plantas estejam aptas a serem transferidas para aclimação.

Mesmo recebendo as mesmas condições durante o cultivo *in vitro*, as plantas apresentaram variações de tamanho (diâmetro e comprimento do caule e sistema radicular). Tais variações podem estar associadas a diferentes fatores, os quais podem ter origem i) na velocidade de germinação e no tempo de crescimento no meio de cultura após germinação. Uma vez que as sementes demoraram cerca de 60 dias para iniciar a germinação, é possível que possuam algum grau de dormência e que parte das sementes tenham levado um tempo mais longo para germinar, reduzindo, comparativamente, o período em que a planta germinada teve para crescimento *in vitro*; ii) na reserva das sementes e vigor inicial das plantas. Assim como a velocidade de germinação, o vigor das plântulas pode também ser bastante variável

(Bewley et al., 2013), sobretudo para espécies nativas que não sofreram processos de domesticação; iii) na variabilidade genética natural da espécie, haja visto que foram usados frutos de diferentes matrizes para obtenção das sementes para este estudo. Uma elevada diversidade pode ser esperada em espécies nativas e variações em taxa e velocidade de germinação podem ser observadas em sementes de oriundas de diferentes matrizes (Zhang et al. 2020). Todavia, a obtenção de plântulas normais, i.e., com desenvolvimento de sistema radicular e parte aérea para todas as sementes germinadas, possibilitou a transferência destas mudas para a aclimação em ambiente externo.

A transferência de plantas do cultivo *in vitro* para aclimação ao ambiente *ex vitro* é reconhecida com um dos maiores gargalos para o processo de micropropagação de plantas. Durante o cultivo *in vitro* as plantas são mantidas em um ambiente altamente controlado, no qual recebem nutrientes e água diretamente através do meio de cultura. Esse ambiente artificial proporciona condições ideais para o crescimento das plantas em laboratório, mas difere significativamente das condições encontradas no ambiente externo, onde as plantas irão crescer naturalmente. Durante a fase de aclimação, as plantas passam de heterotróficas para autotróficas, assim como são expostas a condições ambientais flutuantes, com presença de temperatura e radiação variáveis e, sobretudo, uma demanda evaporativa da atmosfera muito mais elevada do que a experimentada anteriormente no cultivo *in vitro*, o que desafia as plantas a manterem o equilíbrio do status hídrico ao mesmo tempo que precisam absorver e fixar carbono da atmosfera. O sucesso obtido com a aclimação de *A. glaziovii*, onde obtivemos mais de 90% de sobrevivência, pode advir de as plantas ao serem transferidas já apresentarem um sistema bem radicular desenvolvido e que o processo de exposição das plantas ao ambiente externo ter sido realizado de forma gradual, ou seja, aumentando gradativamente a exposição à radiação e reduzindo a umidade relativa. Desta forma, é possível que as plantas tiveram tempo para se adequar aos novos substratos e ambiente. Apesar de ser uma forte mudança no ambiente (radiação, temperatura, água e condições edáficas), essa transição gradual permitiu que as plantas se adaptassem as condições mais exigentes e mais semelhantes às condições naturais que serão submetidas em campo (GREGOR et al., 2021).

O tipo de substrato usado para aclimação pode ser determinante para o sucesso da sobrevivência e crescimento das plantas. As características físicas do substrato desempenham um papel crucial na sobrevivência das plantas durante o período de aclimação após o cultivo *in vitro*. A disponibilidade hídrica é um fator determinante nesse processo, sendo necessário garantir um substrato que forneça água adequada às plantas, permitindo sua adaptação bem-sucedida ao ambiente externo. Para *A. glaziovii*, todos os substratos avaliados apresentaram elevada sobrevivência, o que possivelmente se deve a características físicas adequadas do substrato e também da qualidade das mudas produzidas *in vitro*. No entanto, as diferenças existentes entre as composições físicas e químicas dos substratos levaram a diferenças significativas quanto ao crescimento das mudas. O maior número de perfilhos e o tamanho de plantas (raízes e caule) cultivadas em *topsoil* de canga e substrato orgânico comercial (Bioplant)

podem estar associadas a fatores tais como i) ser o *topsoil* de canga o substrato onde a espécie ocorre naturalmente, portanto ela pode estar adaptada a suas condições e também contar com possíveis associações benéficas com a microbiota; ii) o substrato Bioplant possuir uma estrutura física que permite um fornecimento adequado de água, sem ser muito poroso e apresentar drenagem excessiva, o que levaria à rápida perda de água e resultando em estresse hídrico para as plantas, nem mesmo muito compacto ou argiloso, o que poderia reter água em excesso, causando encharcamento e sufocando as raízes das plantas. Tais características do substrato Bioplant podem advir de sua composição, onde os elevados teores de matéria orgânica favorecem à sua boa estrutura, conforme resultados apresentados no Anexo 1; iii) a elevada disponibilidade de nutrientes no substrato Bioplant, que também elevou a quantidade de nutrientes no substrato composto da mistura entre Bioplant e substrato do viveiro. Nestes, foram observados valores mais altos de elementos como fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), além de os valores mais elevados de matéria orgânica (MO), a qual, além de melhorar estrutura do substrato, também pode aumentar o fornecimento de nutrientes como nitrogênio (N); iv) ambos substratos possuem estrutura com boa capacidade de retenção de nutrientes e permeabilidade ao ar, o que permite o desenvolvimento saudável das raízes e a absorção eficiente de água e nutrientes. Tal hipótese é apoiada pelo tratamento onde a mistura do Bioplant com o substrato do viveiro levou ao aumento tanto do crescimento das plantas quanto do número de perfilhos. Uma vez que muitas cactáceas têm na produção de perfilhos uma de suas principais formas de propagação (Singh et al., 2003), o maior número de perfilhos nestes substratos representa um ganho significativo para a espécie.

## 5 CONCLUSÕES

A propagação *in vitro* mostrou-se eficiente para a espécie *Arthrocerus glaziovii*, proporcionando elevada taxa de germinação e de sobrevivência, garantindo um grande número de plântulas para a etapa da aclimatização. Nesta última etapa também foram obtidos excelentes resultados, com sobrevivência média superior a 90% (100% em *topsoil* de *canga*), produção de mudas com qualidade e que poderão ser empregadas para estudos de validação de adequabilidade de habitat e reintrodução em áreas naturais. Além disso, foi possível identificar substratos que apresentaram melhores resultados para a etapa de rustificação da espécie, com destaque para o *topsoil* de *canga* e o substrato comercial Bioplant, ambos pela elevada sobrevivência e crescimento das plantas. Os resultados alcançados com esse estudo são promissores para a conservação *A. glaziovii*, podendo garantir uma produção em larga escala de mudas geneticamente diversificadas e que poderão ser usadas para ampliar o número de plantas em seu ambiente natural.

## REFERÊNCIAS

- ALVAREZ V., V.H.; NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E. & OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000, v.25, p.27- 33. (Boletim Informativo)
- BENITES, V.C., SCHAEFER, C.E.G.R., SIMAS, F.N.B. AND SANTOS, H.G. Soils associated with rock outcrops in the Brazilian mountain ranges Mantiqueira and Espinhaço. **Revista Brasileira de Botânica**, v.30, p.569–577, 2007.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hillhorst HWM, Nonogaki H (2013) *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*, 3rd edition. Springer, New York
- BIOMA MEIO AMBIENTE; VALE S.A. **Guia de plantas: flores no campo rupestre**. 1. ed. Nova Lima: Bioma Meio Ambiente, Vale S.A, 2018.
- CAMPOS; D. V. B. et al. Acidez potencial do solo. In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017a.
- CAMPOS; D. V. B. et al. Percentagem de saturação por alumínio. In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017b.
- CHÁVEZ, L. C. et al. La germinación in vitro uma alternativa para obtener explantes em cactáceas. *Zonas Áridas*, n.10, p.129-133, 2006
- CHEIB, A. L.; GARCIA, Q. S. Longevity and germination ecology of seeds of endemic Cactaceae species from high-altitude sites in south-eastern Brazil. **Seed Science Research**, v. 22, n. 1, p. 45–53, 2012.
- CORREIA, D; NASCIMENTO, E. H. S; ARAUJO, J. D. M; ANSELMO, G. C; COELHO, P. J. A. Germinação de Sementes de Cactáceas In Vitro. Fortaleza, Ce: Embrapa, 2011. 6 p.
- DÁVILA-FIGUEROA, C. A. et al. In vitro propagation of eight species or subspecies of *Turbinicarpus* (Cactaceae). *In Vitro Cellular Developmental Biology – Plant*, v. 41, p.540–545, 2005.
- DIAS, M. M. et al. Emergência e desenvolvimento da cactácea rabo-de-raposa (*Arrojadoa* spp) em diferentes meios de cultura e recipientes. *Revista Ceres*, v.55, n.2 p.117-123, 2008.
- DIAS, P. C. et al. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.
- ENGELMANN et al. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. **In Vitro Cell Dev Plant**, v. 47, p.5–16, 2011.
- ESTRADA-LUNA, A. 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, p.378–385, 2008
- GIUSTI, P. et al. In vitro propagation of three endangered cactus species. *Scientia Horticulturae*, v.95, p.319-332, 2002.
- GREGO, J; LOPES, F; FERREIRA, L; MARQUES, M. A.; PINTO, A. Propagação de plantas e viveiro. São Paulo: Iniav, 2021. 286 p.
- HUBSTENBERGER, J. F.; CLAYTON, P. W.; PHILLIPS, G. C. Micropropagation of Cacti. In: BAYAY, Y. P. S. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. v. 20. Berlin: Springer, 1992. Cap. 4, p.49- 68.

JACOBI, C. M.; Carmo, F. F.; Vincent, R. C.; Stehmann, J. R. Plant communities on the ironstone outcrops - a diverse and endangered Brazilian ecosystem. **Biodiversity and Conservation**, Vol. 16, p. 2185-2200, 2007.

[Jialiang Zhang](#), [Evan Siemann](#), [Baoliang Tian](#), [Wei Huang](#), [Jianqing Ding](#). Differences in seed properties and germination between native and introduced populations of *Triadica sebifera*. *Journal of Plant Ecology*, Volume 13, Issue 1, February 2020, Pages 70–77.

KARI, R. et al. Basal Media for in vitro germination of red-purple dragon fruit *Hylocereus polyrhizus*. *Journal of Agrobiotechnology*, v.11, p. 87-93, 2010

KHALAFALLA, M. M. et al. Micropropagation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) as strategic tool to combat desertification in arid and semi arid regions. *International Journal of Sustainable Crop Production*, v.2, n.4, p.1-8, 2007.

LIMA, C. T. DE et al. **Guia de plantas para recuperação de áreas degradadas nas cangas do quadrilátero ferrífero de minas Gerais**. 1. ed. Fortaleza: Fundação Brasil cidadão, 2016.

MABROUK, A. et al. OPTIMIZATION OF PRICKLY PEAR CACTI (*Opuntia* spp.) MICROPROPAGATION USING AN EXPERIMENTAL DESIGN METHOD. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 11, n. 3, p. 1–7, 2021.

MALDA, G.; SUZÁN, H.; BACKHAUS, R. In vitro cultura as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulturae*, v.81, p.71-87, 1999.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

MIHALTE, L., R. E. SESTRAS and G. FESZT, 2011. Methods to improve seed germination of Cactaceae species. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 17: 288-295

MOEBIUS-GOLDAMMER, K. G. et al. Organogenesis and somatic embryogenesis in *Ariocarpus kotschoubeyanus* (lem.) k. schum. (Cactaceae), an endemic and endangered 45 mexican species. *In Vitro Cellular Developmental Biology - Plant*, v.39, p.388–393, 2003.

OLIVEIRA, T. P. F. et al. Aplicação de AIB e tipo de miniestacas na produção de mudas de *Handroanthus heptaphyllus* Mattos. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 313- 320, 2016.

PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E.; DÁVILA-FIGUEROA, C. A. In vitro propagation of *Pelecyphora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 38, n. 1, p. 73–78, 2002.

RIBEIRO, M. N. O.; CARVALHO, S. P.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 43, p. 354-361, 2012.

RUBIO, O. R. G.; BARRERA, G. X. M. Conservation in situ and ex situ of *Mammillaria mathildae*, endemic, endangered cacti of Querétaro City. *Ciencia@uaq*, v.2, n.1, p.3-16, 2009.

SESMA, E. B.; DEMUNER, V. G.; HEBLING, S. A. Efeito de diferentes níveis de sombreamento sobre o crescimento inicial de *Jatropha curcas* L. em casa de vegetação. *Natureza online*, v. 7, p. 31-36, 2009.

SINGH, R. S. & SINGH, V. 2003. Growth and development influenced by size, age, and planting methods of cladodes in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5, 47-54.

SRISKANDARAJAH, S.; SEREK, M. Regeneration from phylloclade explants and callus cultures of *Schlumbergera* and *Rhipsalidopsis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.78, p.75-81, 2004

Taylor, N.P. & Braun, P. 2013. *Arthrocreus glaziovii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T40939A2945254. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T40939A2945254.en>. Accessed on 07 December 2022.

TEIXEIRA, P. C. et al. pH do solo. In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017a.

TEIXEIRA, P. C. et al. Cátions trocáveis. In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017b.

TEIXEIRA, P. C. et al. Fósforo disponível. In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017c.

TEIXEIRA, P. C. et al. Complexo sortivo do solo (Soma de bases trocáveis, CTC efetiva, CTC total, Percentagem de saturação por bases). In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017d.

TEIXEIRA W. G.; BEHRING, S. B. Retenção de água no solo pelos métodos da mesa de tensão e da câmara de Richards. In: Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2017.

VINCENT, R. C.; MEGURO, M. Influence of soil properties on the abundance of plant species in ferruginous rocky soils vegetation, southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, Vol. 31, p. 377–388, 2008.

XAVIER, P.B. Germinação e aclimatização de *Hamatocactus setispinus* (cactaceae). Dissertação (Mestrado). Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. 2010. 107p

ZANETTI, M. et al. Seed Functional Traits Provide Support for Ecological Restoration and *ex situ* Conservation in the Threatened Amazon Ironstone Outcrop Flora. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. December, p. 1–17, 2020.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Composição física e química dos substratos usados para aclimação das plantas de *Arthrocerus glaziovii*.

Propriedades		Canga	Bioplant	Viveiro	Mix	
pH	-	-	6.00	6.09	6.17	
MO	%	1.10	36.28	5.72	15.71	
P	mg dm <sup>-3</sup>	12.70	48.5	23.3	29.80	
K		14	118	78	171	
S		-	-	-	-	
B		-	-	-	-	
Zn		1.26	9.36	24.42	13.22	
Fe		46.80	88.00	52.30	62.20	
Mn		9.90	50.10	63.40	50.50	
Cu		0.74	0.49	1.51	0.81	
Ca		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0.64	10.48	5.80	9.30
Mg			0.03	2.09	0.50	1.12
Al	0.00		0.00	0.00	0.00	
SB	0.71		12.87	6.50	10.86	
T	3.01		17.70	11.30	15.86	
V	%	23.60	72.40	57.50	68.50	