



Estratégias para reduzir custos no cultivo *in vitro* de duas espécies de *Melocactus* (Cactaceae)

Strategies to reduce costs in *in vitro* cultivation of two species of *Melocactus* (Cactaceae)

G. Torres-Silva^{1*}; M. C. Bellintani²; A. Lima-Brito³; S. V. Resende²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, 40301-015, Salvador - Bahia, Brasil

²Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, 40170-115, Salvador - Bahia, Brasil

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, 44031-460, Feira de Santana - Bahia, Brasil

*gabrielatorres.bio@gmail.com

(Recebido em 21 de maio de 2025; aceito em 11 de agosto de 2025)

Melocactus glaucescens e *Melocactus paucispinus* (“cabeça-de-frade”) são cactos nativos ameaçados de extinção devido, principalmente, à exploração exclusivamente extrativista pelo seu potencial ornamental. Estudos demonstraram que as técnicas de cultura de tecidos vegetais favorecem o crescimento dessas espécies e possibilitam a produção de mudas em larga escala e, portanto, podem ser utilizadas como alternativa para diminuir a pressão extrativista nas suas populações naturais. O objetivo deste trabalho foi analisar a eficiência da substituição do ágar por amido de milho, fécula de batata ou fécula de mandioca; nitrato de potássio P.A. (KNO₃) por salitre potássico; e autoclavagem pela esterilização química do meio de cultura no crescimento *in vitro* de espécies de “cabeça-de-frade”. Além dos altos valores de contaminação, os meios de cultura com os gelificantes féculas de batata e mandioca não apresentaram firmeza do gel suficiente para manter as plantas eretas. Não foi observada diferença significativa para sobrevivência, contaminação, comprimento da maior raiz, comprimento e diâmetro da parte aérea e matéria seca total entre as plantas cultivadas em ágar, KNO₃ e autoclavagem e as plantas cultivadas com amido de milho, salitre potássico e esterilização química. Portanto, sugere-se a substituição total do ágar por 60 g L⁻¹ de amido de milho, a substituição do KNO₃ por 7 g L⁻¹ de salitre potássico e da autoclavagem pela esterilização química do meio de cultura, o que possibilita a redução dos custos no cultivo *in vitro* das espécies estudadas e serve como incentivo à propagação dessas espécies para o mercado ornamental. Palavras-chave: *Melocactus glaucescens*, *Melocactus paucispinus*, gelificante alternativo.

Melocactus glaucescens and *Melocactus paucispinus* (“cabeça-de-frade”) are native cacti threatened with extinction, primarily due to their exclusively extractive exploitation for their ornamental potential. Studies have shown that plant tissue culture techniques favor the growth of these species and enable large-scale seedling production. Therefore, they can be used as an alternative to reduce extractive pressure on natural populations of these species. The objective of this study was to analyze the effectiveness of replacing agar with cornstarch, potato starch, or cassava starch; potassium nitrate P.A. (KNO₃) with potassium saltpeter; and autoclaving for chemical sterilization of the culture medium on the *in vitro* growth of “cabeça-de-frade”. In addition to presenting high contamination levels, the culture media containing potato and cassava starch gelling agents did not present sufficient gel firmness to maintain erect plants. No significant differences were observed in survival, contamination, longest root length, shoot length and diameter, and total dry matter between plants grown in agar, KNO₃, and autoclaving and those grown in cornstarch, potassium nitrate, and chemical sterilization. Therefore, we suggest replacing the agar entirely with 60 g L⁻¹ of cornstarch, replacing the KNO₃ with 7 g L⁻¹ of potassium nitrate, and replacing autoclaving with chemical sterilization of the culture medium. This would reduce the costs of *in vitro* cultivation of the studied species and encourage their propagation for the ornamental market.

Keywords: *Melocactus glaucescens*, *Melocactus paucispinus*, alternative gelling agents.

1. INTRODUÇÃO

Considerando que nas últimas décadas o mercado de flores e plantas ornamentais consolidou-se como um setor econômico de grande importância em todo o mundo e que, no Brasil, tornou-se um importante segmento para a economia nacional [1], tornam-se relevantes alternativas de baixo custo para a propagação de espécies. Mesmo diante da biodiversidade

brasileira, os produtores não exploram o grande número de plantas nativas com potencial ornamental, sendo possível fazer uso desta riqueza com a inserção de novas espécies no mercado comercial de plantas sem que haja impacto às populações naturais a partir da utilização do cultivo *in vitro*.

As espécies de cabeça-de-frade, *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo e *M. paucispinus* G. Heimen & R. Paul, são cactos nativos da Chapada Diamantina (Bahia) e estão incluídos nas principais listas de espécies ameaçadas de extinção por diversos fatores, entre estes, a coleta ilegal para comercialização como ornamental e o alto grau de endemismo [2, 3]. Estas espécies não emitem brotações laterais, desta forma os indivíduos são removidos inteiros, muitas vezes na fase reprodutiva, tornando o extrativismo ilegal um grande impacto para as populações naturais [4]. O potencial ornamental e a ameaça de extinção destas espécies motivaram pesquisas sobre o estabelecimento *in vitro*, produção de brotos *in vitro* e aclimatização, o que permitiu concluir o ciclo de propagação *in vitro* de *M. glaucescens* [5-7], bem como estudos de conservação *in vitro* por crescimento mínimo [8].

O cultivo *in vitro* é uma alternativa à retirada destes indivíduos do seu habitat, uma vez que possibilita a propagação em larga escala de material vegetal e a manutenção destas plantas em ambiente livre de patógenos. Além disso, o crescimento *in vitro* dos cactos é acelerado quando comparado ao crescimento *ex vitro*, o que se deve às condições artificiais de luz e temperatura controladas e os meios nutritivos aos quais as culturas são submetidas [9]. Entretanto, por tratar-se de técnicas que exigem condições específicas para o cultivo, estas são onerosas, o que tem estimulado o uso de substâncias alternativas no preparo e esterilização dos meios nutritivos [10, 11].

O ágar é um dos componentes mais utilizados e de maior custo no preparo dos meios nutritivos. Este agente gelificante promove condições ideais de suporte para as plantas, além de apresentar características como claridade, estabilidade, resistência ao metabolismo e inércia [12]. Estudos que buscam reduzir os custos da produção de plantas *in vitro* mostram que o ágar pode ser substituído por polissacarídeos de reserva vegetal como amidos, féculas, sago, galactomananos, carragenina, insubgol, gomas guar, katira, gellan e arábe [13-21].

O nitrato de potássio P.A. (KNO_3), fonte de nitrogênio e potássio, é o reagente mais utilizado na formulação dos sais do meio Murashige & Skoog (MS) [22]. Devido à possível utilização do KNO_3 na produção de explosivos, sua compra depende de autorização do Ministério da Defesa do Brasil, o que resulta em dificuldades burocráticas na sua aquisição [23]. Desta forma, fontes de fácil obtenção e mais baratas são necessárias para a redução de custos das culturas que utilizam a formulação de sais MS.

A esterilização por autoclavagem de vidrarias e meios nutritivos é também dispendiosa em função do custo para aquisição do equipamento, a quantidade de energia elétrica utilizada, e o tempo necessário para esterilização [24]. Reagentes como hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro e ácido peracético já foram testados na esterilização de meios nutritivos, apresentando resultados satisfatórios para várias culturas [7, 11, 21, 25-28].

Diante do exposto e pela ausência de trabalhos com esta temática para as espécies deste estudo, o objetivo deste trabalho foi analisar alternativas de baixo custo no crescimento *in vitro* de espécies de cabeça-de-frade com a substituição do ágar, KNO_3 e autoclavagem como forma de incentivo à propagação com finalidade comercial e inserção dessas espécies no mercado ornamental.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As sementes de *Melocactus glaucescens* e *M. paucispinus* utilizadas nos experimentos foram coletadas de populações naturais localizadas em regiões popularmente conhecidas como “Lages” (11°29'38.4"S; 41°20'22.5"W) e “Areia Branca” (11°33'52"S; 41°10'37"W), respectivamente, no município de Morro do Chapéu, Chapada Diamantina-Bahia-Brasil. A permissão para acessar o material genético (nº A93B8DB) foi obtida do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio

Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), em conformidade com a legislação brasileira sobre a biodiversidade.

As sementes de *M. glaucescens* e *M. paucispinus* utilizadas no experimento de substituição do ágar por um gelificante alternativo foram coletadas em março de 2007. Já as sementes de *M. glaucescens* utilizadas no experimento de substituição do ágar, do KNO_3 e da autoclavagem foram coletadas em agosto de 2010. Após a coleta, os frutos foram beneficiados e as sementes foram armazenadas em sacos de papel a temperatura ambiente por 30 dias. A germinação *in vitro* ocorreu em meio Murashige & Skoog (MS) com $\frac{1}{4}$ da concentração salina (MS $\frac{1}{4}$) suplementado com 15 g L^{-1} de sacarose. Os meios nutritivos foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Os frascos de vidro foram selados com duas camadas de filme de policloreto de vinila (PVC).

2.2 Substituição do ágar por um gelificante alternativo

Para selecionar as quatro concentrações de amido de milho, fécula de batata e mandioca utilizadas neste experimento foram realizados testes anteriores baseados em trabalhos para outras espécies e a firmeza do meio de cultura (dados não mostrados).

Os brotos de *M. glaucescens* e *M. paucispinus* foram obtidos via organogênese direta em meio MS, suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose, sem adição de regulador vegetal, a partir de explantes de plantas germinadas *in vitro*. Após 210 dias de cultivo, os brotos originados foram cultivados em frascos de vidro contendo 50 mL de meio nutritivo MS com metade da concentração salina (MS $\frac{1}{2}$), 7 g L^{-1} de ágar e 15 g L^{-1} de sacarose por 150 dias. Posteriormente, foram transferidos para frascos de vidro de 250 mL, contendo 50 mL de meio nutritivo MS $\frac{1}{4}$, $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de tiamina, 100 mg L^{-1} de mioinositol, suplementado com 15 g L^{-1} de sacarose e diferentes concentrações de gelificantes: 7 g L^{-1} de ágar (controle); 50, 60, 70 e 80 g L^{-1} de amido de milho (produto comercial MAIZENA[®]); 60, 70, 80 e 90 g L^{-1} de fécula de batata (produto comercial YOKI[®]) e 110, 120, 130 e 140 g L^{-1} de fécula de mandioca (produto comercial YOKI[®]), totalizando 13 tratamentos. Os meios nutritivos foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Os frascos de vidro foram selados com duas camadas de filme PVC.

Aos 90 dias de cultura, foram analisadas porcentagem de sobrevivência (%S) e contaminação (%C), comprimento da maior raiz (CR), comprimento e diâmetro da parte aérea (CPA e DPA) e matéria seca total (MST).

2.3 Substituição do ágar, do nitrato de potássio P.A. e da autoclavagem

As plantas de *M. glaucescens* oriundas da germinação *in vitro* em meio MS $\frac{1}{2}$, 7 g L^{-1} de ágar e 15 g L^{-1} de sacarose por 270 dias, foram transferidas para frascos de vidro de 250 mL com 50 mL de meio nutritivo, contendo os agentes gelificantes amido de milho (60 g L^{-1}) ou ágar ($6,5 \text{ g L}^{-1}$), as fontes de nitrato de potássio P.A. (KNO_3) ($1,9 \text{ g L}^{-1}$); 7,0 ou $7,4 \text{ g L}^{-1}$ de salitre potássico (produto granulado MURER[®]), suplementado com $1,65 \text{ g L}^{-1}$ de NH_4NO_3 , $0,17 \text{ g L}^{-1}$ de KH_2PO_4 , $0,44 \text{ g L}^{-1}$ de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $0,37 \text{ g L}^{-1}$ de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de tiamina, 100 mg L^{-1} de mioinositol, micronutrientes do meio MS e 15 g L^{-1} de sacarose. Posteriormente, os meios foram submetidos à esterilização por autoclavagem ou esterilização química baseada no protocolo de Teixeira et al. (2006) [29], que foi, segundo Resende et al. (2021) [7], eficiente para as espécies deste trabalho.

Para esterilização química do meio de cultura, foram adicionadas três gotas de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% para cada litro de água destilada uma hora antes da adição dos demais componentes. Os sais e a sacarose foram acrescentados à esta solução e posteriormente foram adicionados $0,15 \text{ mL}$ de NaOCl a 2% para cada litro da solução. Após 15 minutos, foi acrescido o ágar e o pH ajustado para 5,7. Os frascos de cultura utilizados para o meio esterilizado quimicamente foram lavados com detergente, enxaguados três vezes em água de torneira e, em seguida, enxaguados em solução contendo 10 gotas de NaOCl a 2% para cada litro de água destilada.

O preparo do meio de cultura ocorreu em ambiente não estéril e sua distribuição nos frascos de cultura e a inoculação do material vegetal ocorreu em câmara de fluxo laminar.

Como controle, foi utilizado o meio nutritivo com macro e micronutrientes MS suplementado com 60 g L⁻¹ de amido de milho (produto comercial MAIZENA®); 0,1 mg L⁻¹ de tiamina, 100 mg L⁻¹ de inositol e 15 g L⁻¹ de sacarose, selecionado anteriormente na avaliação da substituição do ágar. Este meio foi esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 minutos. Todos os frascos de vidro foram selados com duas camadas de filme PVC. Como as plantas utilizadas nesse experimento foram oriundas da germinação, foi necessário um período maior de cultivo para que atingissem o tamanho para a aclimatização. Sendo assim, aos 120 dias, as variáveis analisadas foram sobrevivência, comprimento da maior raiz (CR), comprimento e diâmetro da parte aérea (CPA e DPA) e matéria seca total (MST).

2.4 Condições experimentais

As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 25±3 °C, com fotoperíodo de 16 horas de luz no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

2.5. Análise estatística

As análises foram realizadas no programa estatístico Sisvar 4.3 [30]. Para o experimento que avaliou a substituição do ágar por um gelificante alternativo, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com sete repetições e três amostras por parcela. As médias foram analisadas pelo método ANOVA, com o Teste Scott-Knott a 0,05% de significância. O experimento que avaliou a substituição do ágar, do KNO₃ e da autoclavagem foi realizado em DIC, com cinco repetições de cinco amostras por parcela. As médias foram analisadas pelo método ANOVA, com o Teste Tukey a 0,05% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Substituição do ágar por gelificante alternativo

Na Tabela 1 são apresentados os dados de crescimento *in vitro* das plantas de *Melocactus glaucescens* e *M. paucispinus* em meios nutritivos utilizando diferentes agentes gelificantes.

Em *M. glaucescens*, não foi observada diferença significativa nos resultados para %S, exceto para 90 g L⁻¹ da fécula de batata que apresentou 28,57% de sobrevivência. Este resultado pode estar relacionado à alta contaminação (71,43%) observada nesse tratamento. Em *M. paucispinus*, valores significativamente altos para %S foram observados (100%) ao utilizar ágar (7 g L⁻¹), amido de milho (50 a 70 g L⁻¹) e fécula de batata (60 g L⁻¹). Para os demais gelificantes a redução nos valores para %S (28,57 a 71,43%), também podem estar relacionados a contaminação, cujos maiores valores foram observados ao utilizar fécula de batata (28,57 a 57,14%) e mandioca (28,57 a 71,43%).

Em relação ao aspecto morfológico das plantas, não houve diferença significativa entre os resultados de DPA e CPA para *M. glaucescens*, exceto para fécula de batata a 90 g L⁻¹ que apresentou os menores valores (3,42 e 5,62 mm, respectivamente), o que podem estar relacionados aos baixos valores de %S em função da alta contaminação observada neste tratamento.

Tabela 1. Efeito de diferentes agentes gelificantes no crescimento *in vitro* de *Melocactus glaucescens* e *M. paucispinus* aos 90 dias em relação à porcentagem de sobrevivência (%S) e contaminação (%C), diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CR) e massa seca total (MST).

Gelificante	Concentração (g L ⁻¹)	%S	%C	DPA (mm)	CPA (mm)	CR (cm)	MST (mg)
<i>Melocactus glaucescens</i>							
Ágar	7	100a	0,00b	9,01a	19,07a	28,19a	29,22b
	50	100a	14,29b	8,91a	14,92a	19,19b	36,68b
Amido de milho	60	100a	0,00b	10,02a	17,68a	23,10a	44,62b
	70	85,71a	14,29b	8,81a	15,34a	19,95b	38,04b
	80	71,42a	28,57b	7,32a	12,65a	19,57b	33,80b
Fécua de batata	60	85,71a	14,29b	8,78a	14,96a	28,29a	34,64b
	70	100a	0,00b	9,70a	20,53a	30,48a	40,94b
	80	85,71a	14,29b	9,23a	16,64a	24,67a	34,64b
	90	28,57b	71,43a	3,42b	5,62b	10,95b	15,70b
Fécua de mandioca	110	100a	0,00b	9,98a	20,43a	27,43a	49,95a
	120	100a	0,00b	10,05a	19,19a	22,52a	54,20a
	130	85,71a	14,29b	8,47a	15,43a	22,86a	45,57a
	140	100a	0,00b	9,91a	18,53a	24,67a	51,78a
<i>Melocactus paucispinus</i>							
Ágar	7	100a	0,00b	8,16a	19,71a	23,05a	39,57a
	50	100a	0,00b	8,80a	18,67a	22,76a	68,83a
Amido de milho	60	100a	0,00b	8,38a	17,79a	21,86a	79,67a
	70	100a	0,00b	8,33a	16,52a	21,62a	47,81a
	80	85,71a	14,29b	7,98a	16,19a	17,24a	45,60a
Fécua de batata	60	100a	0,00b	9,10a	20,85a	25,57a	48,91a
	70	71,42b	28,57a	6,56a	15,69a	21,57a	40,71a
	80	71,42b	28,57a	7,19a	14,22a	16,67a	41,82a
	90	42,85b	57,14a	4,06b	9,66b	6,29b	31,25a
	110	57,14b	42,86a	4,68b	11,34b	11,38b	36,23a
Fécua de mandioca	120	71,42b	28,57a	6,51a	6,18b	16,29a	52,65a
	130	28,57b	71,43a	2,16b	15,94a	6,67b	19,20a
	140	57,14b	42,86a	4,74b	10,78b	12,76b	35,22a

Valores com as mesmas letras não diferiram estatisticamente pelo teste de Scott-Knott (0,05%), em DIC, com sete repetições de três amostras por parcela.

Em *M. paucispinus*, os maiores valores de CPA e DPA foram observados ao utilizar 7 g L⁻¹ de ágar (19,71 e 8,16 mm, respectivamente); amido de milho em todas as concentrações (8,80 a 7,98 mm e 18,67 a 16,19 mm, respectivamente); 60, 70 e 80 g L⁻¹ de fécua de batata (9,10 a 6,56 mm e 20,85 a 14,22 mm, respectivamente). Estes valores demonstram uma tendência no aumento proporcional em comprimento e diâmetro da parte aérea desta espécie, sendo que os valores de CPA são maiores que os valores de DPA. Este fenômeno, denominado estiolamento, está relacionado à baixa luminosidade que as culturas são expostas durante o cultivo *in vitro* [31], aspecto morfológico que não é observado quando estão *ex vitro*, visto que são cactos globulares.

O padrão de crescimento *in vitro* de *M. paucispinus* ao utilizar 120 g L⁻¹ de fécua de mandioca foi de um crescimento globular, mesmo em condições de baixa luminosidade. Este fenômeno pode estar relacionado à menor consistência observada nos meios gelificados com fécua de mandioca, cuja superfície irregular do gel formado não forneceu sustentação suficiente para que as plantas permanecessem eretas desde o início das culturas.

Os amidos e féculas possuem facilidade de obtenção e baixo custo quando comparado ao ágar [15]. Contudo, a tendência à redução gradual na consistência causada pelo efeito das α -amilases liberadas pelas raízes no meio nutritivo é considerada a grande desvantagem do uso desses

polissacarídeos como agentes gelificantes [13, 15]. Neste trabalho, as culturas foram mantidas por 90 dias e não foi observado redução da consistência do meio. No final do período de cultura, as plantas apresentaram tamanho maior que 5 mm suficiente para o processo de aclimatização [5] (Figuras 1C a F).

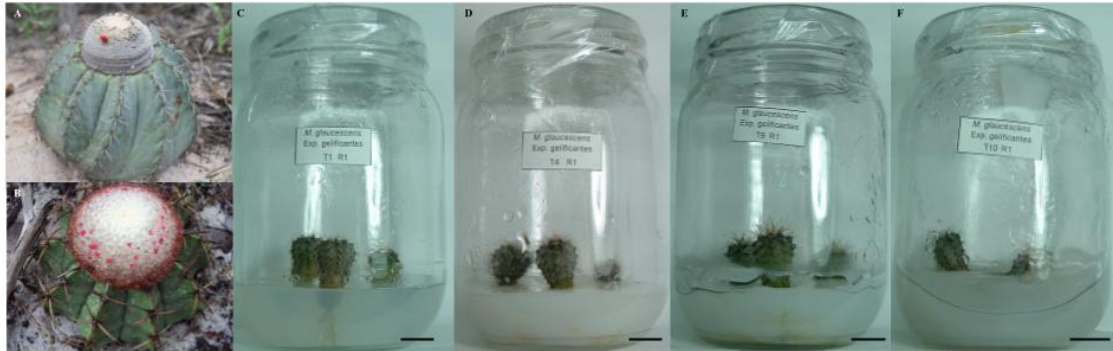


Figura 1. (A) *Melocactus glaucescens* em população natural. (B) *Melocactus paucispinus* em população natural. *M. glaucescens* após 90 dias de cultivo em 7 g L⁻¹ de ágar (C); 70 g L⁻¹ de amido de milho (D); 90 g L⁻¹ de fécula de batata (E); e em 110 g L⁻¹ de fécula de mandioca (F). Barra = 10 mm.

A variável CR, em *M. glaucescens*, apresentou os maiores valores quando utilizado 7 g L⁻¹ de ágar (28,19 mm); 60 g L⁻¹ de amido de milho (23,10 mm); 60, 70 e 80 g L⁻¹ de fécula de batata (24,67 a 30,48 mm) e todas as concentrações de fécula de mandioca (22,52 a 27,43 mm). Em *M. paucispinus*, os maiores valores foram observados ao utilizar 7 g L⁻¹ de ágar (23,05 mm; Figura 2A); amido de milho em todas as concentrações (17,24 a 22,76 mm; Figura 2B); 60, 70 e 80 g L⁻¹ de fécula de batata (16,67 a 25,57 mm; Figura 2C) e 120 g L⁻¹ de fécula de mandioca (16,29 mm).

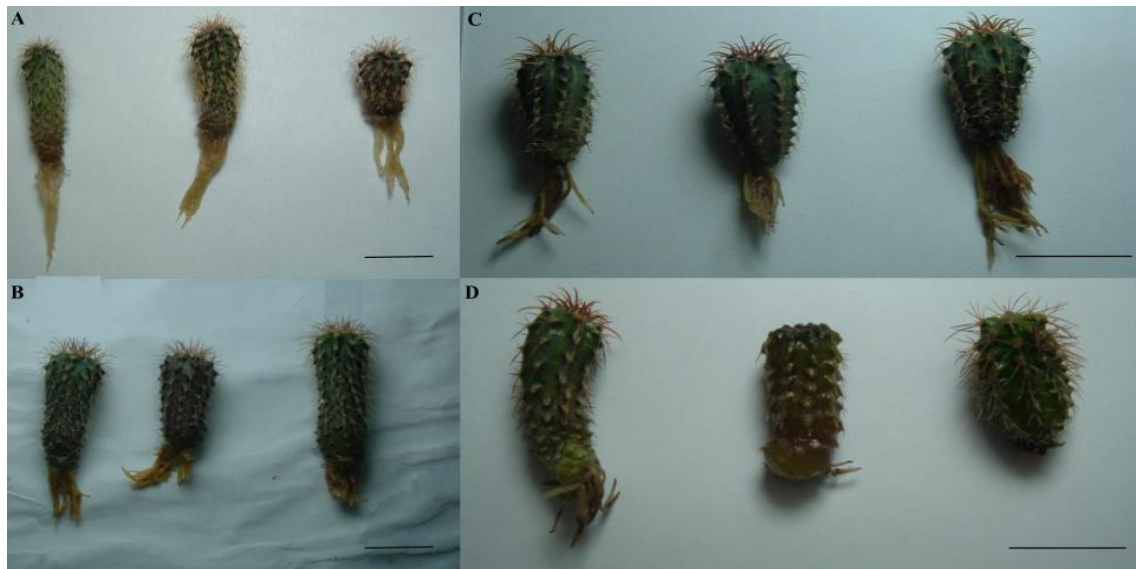


Figura 2. *Melocactus paucispinus* em cultivo in vitro com gelificantes alternativos. (A) *M. paucispinus* após 90 dias de cultivo em 7 g L⁻¹ de ágar; (B) 60 g L⁻¹ de amido de milho; (C) 80 g L⁻¹ de fécula de batata; e em (D) 110 g L⁻¹ de fécula de mandioca. Barra = 10 mm.

O enraizamento ocorreu uma semana após a inoculação, sem a utilização de reguladores vegetais, o que já foi relatado anteriormente para espécies de *Melocactus* [5] e indica altos níveis de hormônio endógeno em espécies deste gênero.

A contaminação pode ter influenciado o comprimento das raízes, em função do seu aspecto escuro e frágil e a não sobrevivência das plantas no período de cultura (Figura 2D). Esse fenômeno

pode ter ocorrido para *M. glaucescens* nos tratamentos com 50, 70 e 80 g L⁻¹ de amido de milho; e para *M. paucispinus* nos tratamentos com 110, 130 e 140 g L⁻¹ de fécula de mandioca (Figura 2D), em que os menores valores de CR podem estar relacionados aos maiores valores de %C.

Em *M. glaucescens*, os tratamentos com fécula de mandioca apresentaram as maiores médias para MST, com valores variando de 46 a 54 mg. Isto demonstra que a fécula de mandioca apresenta efeito superior ao ágar para esta espécie. Em *M. paucispinus* não houve diferença significativa entre os tratamentos para esta variável. Contudo, os tratamentos que continham os gelificantes féculas de batata e mandioca não apresentaram firmeza do gel suficiente para manter as plantas eretas, o que pode ter causado o crescimento encurvado das culturas. Este aspecto morfológico é limitante principalmente quando a finalidade da cultura é a comercialização como ornamental.

Kodym e Zapata-Arias (2001) [32] obtiveram meios com consistência que permitiu a sustentação da planta ao utilizarem 100 g L⁻¹ de amido de milho e 130 g.L⁻¹ fécula de batata, apesar da concentração suportar o crescimento da planta, existiu dificuldade em dissolvê-los e distribuí-los. Neste estudo, a concentração de 60 g L⁻¹ de amido de milho permitiu rigidez suficiente para sustentação da planta e não interferiu negativamente no crescimento das culturas. Ainda segundo Kodym e Zapata-Arias (2001) [32] os meios com fécula de mandioca e amido de milho apresentaram boa qualidade, mas com poucos brotos ou com brotos menores que o controle (7 g L⁻¹ de ágar), ao contrário deste estudo em que os gelificantes alternativos apresentaram valores iguais ou superiores ao ágar em algumas variáveis analisadas.

Ao substituir o ágar por uma mistura de amido de milho e Gelrite®, Jain-Raina e Babbar (2011) [10] verificaram que os gelificantes alternativos que apresentam menos viscosidade e firmeza podem suportar as respostas morfogênicas das plantas de modo semelhante ou até superior ao ágar. Resultados semelhantes foram observados por Daud et al. (2011) [33] com diferentes combinações de féculas e ágar. Este trabalho apresenta dados satisfatórios para a substituição total do ágar por amido de milho, dispensando o uso do ágar. Como observados altos valores para %C nos tratamentos com fécula de batata e mandioca, a concentração de 60 g L⁻¹ de amido de milho foi considerada a ideal na substituição do ágar no crescimento *in vitro* para ambas as espécies.

3.2 Substituição do ágar, do nitrato de potássio P.A. e da autoclavagem.

Após 120 dias de cultivo, não foi observada contaminação e foi observado 100% de sobrevivência de *M. glaucescens* em todos os tratamentos. Para as demais variáveis analisadas, não houve diferença significativa entre os tratamentos, o que sugere que as substituições realizadas não causaram danos ao crescimento das plantas (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito de diferentes agentes gelificantes, métodos de esterilização e fontes de nitrato de potássio no crescimento *in vitro* de *Melocactus glaucescens* aos 120 dias em relação ao comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro da parte aérea (DPA), comprimento da maior raiz (CR) e massa seca total (MST). Nitrato de potássio P.A. (KNO₃).

Gelificante	Tratamentos		CPA (mm)	DPA (mm)	CR (cm)	MST (mg)
	Esterilização	Fonte de N				
Amido de milho	Autoclave	KNO ₃	16,96a	9,79a	24,08a	36,768a
Amido de milho	Química	KNO ₃	16,37a	9,98a	25,24a	39,625a
Amido de milho	Química	Salitre 7,0 g.L ⁻¹	14,53a	7,89a	20,28a	40,612a
Amido de milho	Química	Salitre 7,4 g.L ⁻¹	18,09a	8,99a	23,44a	43,344a
Ágar	Química	KNO ₃	16,12a	8,51a	27,64a	25,928a
Ágar	Química	Salitre 7,0 g.L ⁻¹	15,50a	7,73a	29,48a	25,200a
Ágar	Química	Salitre 7,4 g.L ⁻¹	16,16a	7,93a	27,56a	27,540a

Valores com as mesmas letras não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey (0,05%), em DIC, com cinco repetições de cinco amostras por parcela.

Os resultados indicam que as substâncias que compõem a MAIZENA® não causam danos ao desenvolvimento das plantas (Figuras 3A a D; Tabela 2), visto que os valores para amido de milho não diferiram estatisticamente do ágar e as plantas apresentaram-se morfológicamente semelhantes ao controle.

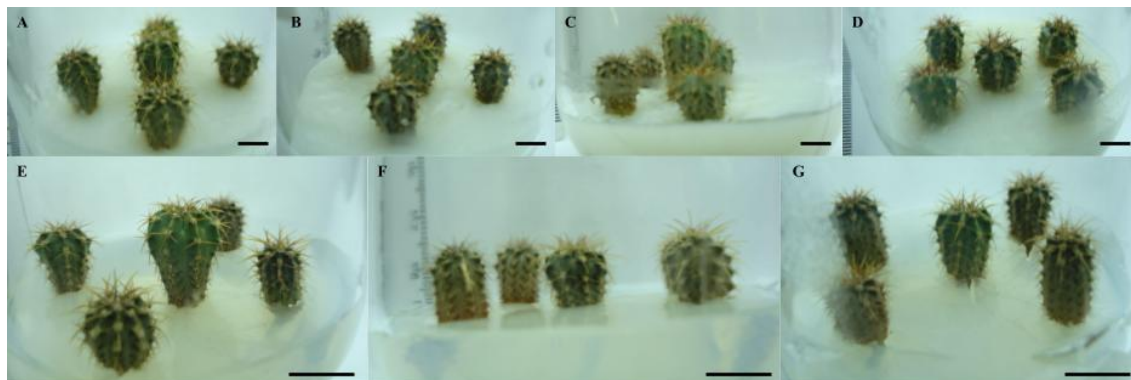


Figura 3. *Melocactus glaucescens* em cultivo *in vitro* com substituição do ágar, nitrato de potássio P.A. (KNO_3) e autoclavagem por alternativas de baixo custo. (A) *M. glaucescens* após 120 dias de cultivo em 60 g L^{-1} de amido de milho e KNO_3 autoclavado; (B) 60 g L^{-1} de amido de milho e KNO_3 esterilizado quimicamente; (C) 60 g L^{-1} de amido de milho, 7 g L^{-1} de salitre esterilizado quimicamente; (D) 60 g L^{-1} de amido de milho, $7,4 \text{ g L}^{-1}$ de salitre esterilizado quimicamente; (E) 7 g L^{-1} de ágar e KNO_3 autoclavado; (F) 7 g L^{-1} de ágar, 7 g L^{-1} de salitre esterilizado quimicamente; (G) 7 g L^{-1} de ágar, $7,4 \text{ g L}^{-1}$ de salitre esterilizado quimicamente. Barra = 10 mm.

A substituição do nitrato de potássio P.A. (KNO_3) por salitre potássico foi sugerida por Ribeiro e Teixeira (2008) [23] no cultivo de *Pfaffia glomerata* L. Esta substituição possibilitou o aumento da biomassa e alongamento dos ramos, entretanto não foi eficiente na micropropagação desta espécie. Os dados anteriores com *P. glomerata* e os resultados atuais com *M. glaucescens* sugerem a eficiência do salitre potássico no crescimento das plantas (Figuras 3C, D, F e G).

Naik e Sarkar (2001) [13] afirmam que moléculas de amido, após autoclavagem, produzem açúcares que aumentam o potencial osmótico do meio, resultando em menos água disponível para as plantas. Teixeira et al. (2005) [34] afirmam que as altas temperaturas podem levar a decomposição de substâncias orgânicas como a sacarose. Neste caso, a esterilização química apresenta vantagens com a eliminação da autoclavagem, reduzindo o custo e evitando a degradação de componentes do meio nutritivo (Figuras 3B, C, D, F e G). Além disso, o tamanho da autoclave limita o número de frascos que podem ser esterilizados, o que pode ser otimizado com a utilização da esterilização química [25, 34, 35].

Estudos anteriores relataram a eficiência na esterilização química dos meios quando utilizada baixas concentrações de NaOCl [11, 29, 30, 34-36]. Contudo, esses meios foram preparados somente com reagentes P.A. Este é o primeiro trabalho que avalia a eficiência de agentes químicos na esterilização de meios nutritivos utilizando produtos comerciais como gelificantes.

Esperava-se que as substituições por produtos comerciais interferissem na taxa de contaminação das culturas, entretanto não foi observada contaminação relacionada à esterilização durante o período de cultivo. Teixeira et al. (2006) [29] observaram que o efeito do NaOCl pode ter sido letal para os microrganismos introduzidos pelos explantes no ambiente *in vitro*. No atual trabalho, pode ter ocorrido um efeito semelhante do NaOCl sob as substâncias utilizadas nas substituições, demonstrando que é possível substituir a autoclavagem pela esterilização química, mesmo com a utilização de produtos comerciais como a MAIZENA® e o salitre potássico (MURER®) (Figuras 3A, B, C, D, F e G).

Neste estudo, em que foi utilizado diferentes tipos de material vegetal nas diferentes avaliações, foi observado que as plantas de *M. glaucescens* obtidas via organogênese direta e as plantas germinadas *in vitro* apresentaram valores semelhantes para CPA e DPA, aos 90 e 120 dias de avaliação, respectivamente. Isso demonstra que o material vegetal de diferentes fontes apresenta velocidade de crescimento distintas, e que é possível obter plantas em tamanho ideal

para aclimatização, eliminando 30 dias de cultivo com a utilização de brotos oriundos de organogênese direta.

As alterações propostas para o meio de cultivo possibilitam significativa redução dos custos na produção de plantas *in vitro* e podem contribuir em projetos de reintrodução de mudas e conservação *ex situ* das espécies, o que serve como incentivo à propagação dessas espécies para o mercado ornamental.

4. CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que as substituições do ágar por 60 g L⁻¹ de amido de milho, do nitrato de potássio P.A. por 7 g L⁻¹ de salitre potássico, e da autoclavagem pela esterilização química do meio nutritivo são estratégias viáveis para o cultivo *in vitro* de *Melocactus glaucescens* e *Melocactus paucispinus*.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao irmão Delmar Lopes Alvim (*in memoriam*) pelo auxílio nas coletas; ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Souza JNC, Diniz JWM, Silva FAO, Almeida NDR. Economic overview of ornamental flowers and plants in Brazil. *Sci Electr Arch*. 2020;13(5):96-102. doi: 10.36560/1352020943
2. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733>.
3. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). Apêndice 1. UNEP; 2025 [citado em abr 2025]. Disponível em: <https://cites.org/sites/default/files/eng/app/2021/E-Appendices-2021-02-14.pdf>.
4. Machado MC. The genus *Melocactus* in eastern Brazil: part I - an introduction to *Melocactus*. *Br Cactus Succ J*. 2009;27:1-16.
5. Resende SV, Lima-Brito A, Santana JRF. Influência do substrato e do enraizamento na aclimatização de *Melocactus glaucescens* Buining & Brederoo propagados *in vitro*. *Rev Ceres*. 2010;57(6):803-9. doi: 10.1590/S0034-737X2010000600016
6. Torres-Silva G, Resende SV, Lima-Brito A, Bezerra HB, Santana JRF, Schnadelbach AS. *In vitro* shoot production, morphological alterations and genetic instability of *Melocactus glaucescens* (Cactaceae), an endangered species endemic to eastern Brazil. *S Afr J Bot*. 2018;115:100-7. doi: 10.1016/j.sajb.2018.01.001
7. Resende SV, Lima-Brito A, Silva GT, Santana JRF. *In vitro* seed germination and plant growth of cabeça-de-frade - (Cactaceae). *Rev Caatinga*. 2021;34:1-8. doi: 10.1590/1983-21252021v34n101rc
8. Torres-Silva G, Schnadelbach AS, Bezerra HB, Lima-Brito A, Resende SV. *In vitro* conservation and genetic diversity of threatened species of *Melocactus* (Cactaceae). *Biod Conserv*. 2021;30:1067-80. doi: 10.1007/s10531-021-02132-8
9. Malda BG, Backhaus RA, Martins C. Alteration in growth and cassulacean acid metabolism (CAM) activity of *in vitro* cultured cactus. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 1999;58(1):1-9. doi: 10.1023/A:1006377206855
10. Jain-Raina R, Babbar SB. Evaluation of blends of alternative gelling agent with agar and development of Xanthagar, a gelling mix, suitable for plant tissue culture media. *Asian J Biotechnol*. 2011;3(2):153-64. doi: 10.3923/ajbkr.2011.153.164
11. Ribeiro B, Ribeiro JM, Teixeira SL, Oliveira ABN, Peixoto AR, Menezes ACP, et al. Enraizamento *in vitro* de goma xantana e hipoclorito de sódio de *Gerbera hybrida* cv. Essandre. *Pesq Soc Desenv*. 2022;4:e4811425143. doi: 10.33448/rsd-v11i4.25143

12. Dhawale RN, Patwari LV, Sharma KM, Bharose AA. Admixture of Isubgol Husk together with agar as gelling agent for sugarcane callus induction. *Pharma Innov J.* 2021;10(8):675-80.
13. Naik PS, Sarkar D. Sago: an alternative cheap gelling agent for potato in vitro culture. *Biol Plant.* 2001;44(2):293-6. doi: 10.1023/A:1010764312021
14. Babbar SB, Jain R, Walia N. Guar Gum as a gelling agent for plant tissue culture media. *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* 2005;41:258-61. doi: 10.1079/IVP2005628
15. Costa FH, Pereira MAA, Oliveira JP, Pereira ES. Efeito de agentes gelificantes alternativos no meio de cultura no cultivo in vitro de abacaxizeiro e bananeira. *Ciênc Agrotec.* 2007;31(1):41-6. doi: 10.1590/S1413-70542007000100006
16. Agrawal A, Sanayaima R, Tandon R, Tyagi RK. Cost-effective *in vitro* conservation of banana using alternatives of gelling agent (isabgol) and carbon source (market sugar). *Acta Physiol Plant.* 2010;32:703-11. doi: 10.1007/s11738-009-0450-9
17. Saglam S, Cifici CY. Effects of agar and isubgol on adventitious shoot regeneration of woad (*Isatis tinctoria*). *Int J Agric Biol.* 2010;12(2):281-5.
18. Pereira-Netto AB, Meneguín RG, Biz A, Silveira JLM. A Galactomannan-driven enhancement of the *in vitro* multiplication rate for the Marubakaido apple rootstock (*Malus prunifolia* [Willd.] Borkh). *Appl Biochem Biotechnol.* 2012;166(1):197-207. doi: 10.1007/s12010-011-9416-7
19. Oliveira RDS, Pereira MR, Carvalho VS, Lucas EF, Gravina GA. Amido e hipoclorito de sódio enraizamento *in vitro* do abacaxizeiro 'gold' e seus efeitos na aclimatização. *Rev Bras Frutic.* 2015;37:273-80. doi: 10.1590/0100-2945-120/14
20. Sanchez-Cardozo J, Quintanilla-Carvajal MX, Ruiz-Pardo R, Acosta-Gonzalez A. Evaluating gelling-agent mixtures as potential substitutes for bacteriological agar: an approach by mixture design. *Dyna Rev Fac Nac Minas.* 2019;86(208):171-6. doi: 10.15446/dyna.v86n208.72964
21. Conceição ISC, Carmo LP, Lima-Brito A. Redução de custos na micropropagação de *Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme*. *Colóquio Agrariae.* 2021;17(3):12-20. doi: 10.5747/ca2021.v17.n3.a435
22. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 1962;15:473-97. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
23. Ribeiro JM, Teixeira SL. Substituição de nitrato potássio (PA) por salitre potássico no preparo de meio de cultura de tecidos vegetais esterilizado com hipoclorito de sódio. *Ciênc Agrotec.* 2008;32(4):1209-13. doi: 10.1590/S1413-70542008000400026
24. Ribeiro JM, Teixeira SL, Bastos DC. *In vitro* culture of *Sequoia sempervirens* L. on nutritive media sterilized with sodium hypochlorite. *Ciênc Florest.* 2011;21(1):77-82. doi: 10.5902/198050982749
25. Cardoso JC. Esterilização química de meio de cultura no cultivo in vitro de antúrio. *Pesq Agropec Bras.* 2009;44(7):785-8. doi: 10.1590/S0100-204X2009000700020
26. Vargas DP, Formoso RS, Dutra LF, Newton AM, Santos J, Ueno B. Esterilização química de cultura in vitro para porta-enxertos de pessegueiro. *Colloquium Agrariae.* 2016;12(1):1-6. doi: 10.5747/ca.2016.v12.n1.a127
27. Cardoso JC, Imthurn ACP. Esterilização química fácil e eficiente do meio de cultura para o cultivo in vitro de gerbera usando dióxido de cloro (ClO₂). *Hortic Ornamental.* 2018;24:218-24. doi: 10.14295/oh.v24i3.1222
28. Furlan FC, Gavilan NH, Zorz AZ, Oliveira LS, Konzen ER, Brondani GE. Active chlorine and charcoal affect the *in vitro* culture of *Bambusa vulgaris*. *Bosque.* 2018;39(1):61-70. doi: 10.4067/S0717-92002018000100006
29. Teixeira SL, Ribeiro JM, Teixeira MT. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2006;86(3):375-8. doi: 10.1007/s11240-006-9121-3
30. Ferreira DF. SISVAR Sistema de Análises Estatísticas. Versão 4.3. Lavras (MG): UFLA; 2003.
31. Ferreira WM, Suzuki RM, Pescador R, Figueiredo-Ribeiro RCL, Kerbauy GB. Propagation, growth, and carbohydrates of *Dendrobium Second Love* (Orchidaceae) *in vitro* as affected by sucrose, light, and dark. *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* 2011;47:420-7. doi: 10.1007/s11627-010-9311-x
32. Kodym A, Zapata-Arias FJ. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2001;66:67-71. doi: 10.1023/A:1010661521438
33. Daud N, Taha RM, Noor NNM, Alimon H. Potential of alternative gelling agents in media for the *in vitro* micro-propagation of *Celosia* sp. *Int J Bot.* 2011;2(2):183-8. doi: 10.3923/ijb.2011.183.188
34. Teixeira SL, Sousa RT, Teixeira MT. Esterilização de meios nutritivos para cultura de tecidos vegetais em forno de microondas. *Rev Ceres.* 2005;52(302):499-507.
35. Teixeira SL, Teixeira MT, Campanati M, Almeida RF. Cultura de tecidos vegetais pela combinação de esterilizantes químicos e forno de micro-ondas. *Rev Ceres.* 2005;52(301):343-9.

36. Teixeira SL, Ribeiro JM, Teixeira MT. Utilização de hipoclorito de sódio na esterilização de meio de cultura para multiplicação *in vitro* de *Eucalyptus pellita* L. *Ciênc Florest.* 2008;18(2):185-91. doi: 10.5902/1980508456