

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CACTOS COM POTENCIAL ORNAMENTAL ARMazenADAS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE UMIDADE E TEMPERATURA

LAILA M. CIVATTI^{1,2}, MARIA N.G. MARCHI^{1,3} & MOEMA C. BELLINTANI^{1,2*}

¹ Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil. *E-mail: moemabellintani@gmail.com.

² Programa de Pós-Graduação em Genética e Biodiversidade, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Recebido em Março de 2015. Aceito em Abril de 2015. Publicado em Maio de 2015.

RESUMO – O uso de sementes é a forma mais fácil e econômica de se alcançar a conservação de germoplasma, pois sementes são sistemas mais organizados, capazes de representar a diversidade genética de espécies e são relativamente fáceis de obter e armazenar em espaço reduzido. Este trabalho avaliou a influência de diferentes ambientes de armazenamento na presença e ausência de sílica sobre a longevidade de sementes de *Micranthocereus flaviflorus* subsp. *densiflorus*, *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *Melocactus conoideus*. Sementes de *M. conoideus* e *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, exceto o controle, foram colocadas em sacos de papel dentro de frascos hermeticamente fechados por 30, 90, 180 e 360 dias, enquanto sementes de *M. polyanthus* subsp. *alvinii* foram armazenadas por até 180 dias. Todas as espécies foram conservadas sob temperatura ambiente ou em congelador, com ou sem sílica. Os resultados indicam que todas as espécies podem ser conservadas em qualquer uma das condições estabelecidas neste estudo sem perda de viabilidade, no entanto *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *M. conoideus* preservaram seu vigor inicial enquanto *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* demonstrou perda de sua resposta germinativa original aos 360 dias de conservação, o que indica dormência induzida. Outras formas de armazenamento são sugeridas para esta espécie, porém é importante ressaltar que suas sementes podem ser conservadas com sílica à temperatura ambiente ou congelador por 180 dias. O ambiente de armazenamento recomendado para sementes de *M. polyanthus* subsp. *alvinii* é temperatura ambiente sem sílica por 180 dias e para *M. conoideus* congelador com ou sem sílica por 360 dias. Estudos para quebrar a dormência nas sementes das três espécies são recomendados.

PALAVRAS-CHAVE: *Cactaceae*, germinação, sílica.

CONSERVATION OF CACTUS SEEDS WITH ORNAMENTAL POTENTIAL STORED UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF HUMIDITY AND TEMPERATURE

ABSTRACT – The use of seeds is the easiest and most economical way to achieve conservation of germplasm, because seeds are more organized systems, capable of representing the genetic diversity of species and are relatively easy to obtain and store within reduced space. This work tested the influence of different storage environments in presence or absence of silica over the longevity of seeds of *Micranthocereus flaviflorus* subsp. *densiflorus*, *M. polyanthus* subsp. *alvinii* and *Melocactus conoideus*. Seeds of *M. conoideus* and *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, except those of control, were stored in paper bags inside hermetically closed flasks for 30, 90, 180 and 360 days, while *M. polyanthus* subsp. *alvinii* seeds were stored up to 180 days. All species were conserved under either room temperature or freezer with or without silica. The results showed that all species can be conserved in any of the conditions established in this study without viability loss, though *M. polyanthus* subsp. *alvinii* and *M. conoideus* preserved their original vigor after months of storage, while *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* demonstrated loss of its original germination response within 360 days, which indicates induced dormancy. Other forms of storage are suggested for this species, but it is important to note that its seeds can be conserved with silica at room temperature or freezer for 180 days. The recommended way to conserve seeds of *M. polyanthus* subsp. *alvinii* is at room temperature without silica for 180 days and for *M. conoideus* they may be stored in freezer with or without silica for 360 days. Studies to overcome dormancy in seeds of these three species are encouraged.

KEYWORDS: *Cactaceae*, germination, silica.

CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE CACTUS CON POTENCIAL ORNAMENTAL ALMACENADA EN DIFERENTES CONDICIONES DE HUMEDAD Y TEMPERATURA

RESUMEN – El uso de semillas es la forma más fácil y económica para lograr la conservación de germoplasma como son sistemas más organizados capaces de representar la diversidad genética de las especies. Este estudio evaluó la influencia de diferentes entornos de almacenamiento sobre la longevidad de las semillas de *Micranthocereus flaviflorus* subsp. *densiflorus*, *M. polyanthus* subsp. *alvinii* y *Melocactus conoideus*. Semillas de *M. conoideus* y *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, excepto el control, se colocaron en bolsas de papel en el interior de botellas selladas para 30, 90, 180 y 360 días, mientras que las semillas de *M. polyanthus* subsp. *alvinii* fueron almacenados hasta por 180 días. Todas las especies se almacenaron a temperatura ambiente o en el congelador, con o sin sílice. Los resultados indican que todas las especies se pueden guardar en cualquiera de las condiciones establecidas en el presente estudio, sin pérdida de viabilidad, sin embargo *M. polyanthus* subsp. *alvinii* y *M. conoideus* conservaron su fuerza inicial, mientras que *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* demostraron pérdida de su respuesta original a la germinación de 360 días retención, lo que indica la latencia inducida. Otras formas de almacenamiento se sugieren para esta especie, pero es importante hacer hincapié en que sus semillas pueden ser almacenadas con la sílice a temperatura ambiente o en el congelador durante 180 días. El entorno de almacenamiento recomendado para semillas de *M. polyanthus* subsp. *alvinii* es la temperatura ambiente por 180 días sin sílice y *M. conoideus* congelador con o sin sílice durante 360 días. Se recomienda realizar estudios para romper la latencia en las semillas de las tres especies.

PALABRAS CLAVE: *Cactaceae*, la germinación, sílice.

INTRODUÇÃO

A família Cactaceae apresenta cerca de 100 gêneros e de 1500 a 2000 espécies de plantas suculentas distribuídas nas Américas, do norte do Canadá até a Patagônia argentina, com exceção do gênero *Rhipsalis* Gaertn., que ocorre também na África tropical, Madagascar, ilhas do Oceano Índico e Sri Lanka (Rojas-Aréchiga e Vázquez-Yanes, 2000; Machado, 2004a). Além de sua grande diversidade, os cactos possuem grande importância ecológica nas comunidades em que ocorrem ou co-dominam, estando diretamente associados à sobrevivência de seus polinizadores e vetores de sementes, como insetos, lagartos, mamíferos e aves (Taylor e Zappi, 2004). Os cactos também possuem importância econômica, valor cultural e estético, e podem ser utilizados como bioindicadores (Taylor e Zappi, 2004).

Os recursos genéticos provenientes de plantas com potencial ornamental e alimentício, como cactos, são conservados em bancos de germoplasma, sendo a utilização de sementes a forma mais fácil e econômica de efetivar esta conservação (Hartmann et al., 2011). Isto se deve ao fato de que sementes são sistemas mais organizados e, portanto, mais apropriados para estratégias de conservação *ex situ* (Silva et al., 2011), sendo capazes de representar a diversidade genética de uma espécie, além de serem relativamente fáceis de se obter e de se armazenar em um espaço reduzido (Li e Pritchard, 2009).

Ao se conservar sementes deve-se avaliar sua longevidade, ou seja, o tempo pelo qual elas são capazes de reter seu potencial germinativo ou viabilidade (Kerbauy, 2012). Ecologicamente esta característica confere às espécies de plantas a capacidade de sobrevivência de sua progênie em ambientes desfavoráveis e com variações de umidade e temperatura, podendo, juntamente com mecanismos como a dormência, manter o potencial germinativo ao longo do tempo (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000; Flores-Martínez et al., 2008). A dormência ocorre quando, mesmo em condições que permitiriam a germinação (como água, gases e temperaturas adequadas), as sementes não germinam devido a propriedades intrínsecas ou a condições ambientais desfavoráveis, variando entre espécies quais condições são estas (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000; Flores-Martínez et al., 2008). Essas características permitem que as sementes de diferentes espécies sejam conservadas para manutenção de sua diversidade e populações naturais, bem como que elas sejam capazes de formar bancos de sementes em seu ambiente natural. O potencial para formação de bancos de sementes tem sido comumente relatado para muitas espécies de cactos (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000; Montiel e Montaña, 2003; Benítez-Rodríguez et al., 2004; Mandujano et al., 2005; Ortega-Baés e Rojas-Arechiga, 2007; Flores et al., 2008).

Assim sendo, três espécies de cactos endêmicos da Bahia (Taylor e Zappi, 2004; Machado et al., 2013a) foram alvo deste trabalho de conservação de sementes. A espécie *Micranthocereus flaviflorus* Buining & Brederoo subsp. *densiflorus* (Buining & Brederoo) P.J. Braun & Esteves possui distribuição restrita, estando presente no Apêndice II do CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and*

Flora) desde Junho de 2010 e sendo classificada na IUCN Red List of Threatened Species como “quase ameaçada” (Near Threatened) (Taylor e Zappi, 2004; CITES, 2013; Machado e Braun, 2013). Outra espécie estudada no presente trabalho é *Micranthocereus polyanthus* (Werderm.) Backeb. subsp. *alvinii* M. Machado & Hofacker, a qual é rara e com distribuição restrita, classificada como ameaçada pela IUCN Red List of Threatened Species (Machado et al., 2013a). Sua população foi reduzida em mais de 50% nos últimos 30 anos devido à urbanização e extração de minérios e areia (Machado et al., 2013a). *Melocactus conoideus* Buining & Brederoo, por sua vez, é ameaçada de extinção, classificada como criticamente ameaçada pela IUCN e está presente no Apêndice I do CITES desde 1992 (CITES 2013; Machado et al., 2013b). Não há na literatura trabalhos de conservação de sementes para estas espécies, exceto para criopreservação de *M. flaviflorus* (Veiga-Barbosa et al., 2010).

Este trabalho teve como objetivo testar a influência de diferentes ambientes de armazenamento na presença e ausência de sílica sobre a longevidade de sementes de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *Melocactus conoideus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Frutos maduros de *M. conoideus* foram coletados no Parque Municipal da Serra de Periperi, Bahia e os frutos de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* e *M. polyanthus* subsp. *alvinii* foram coletados em Morro do Chapéu, Bahia. As sementes obtidas foram beneficiadas, secas e armazenadas em sacos de papel, a temperatura ambiente, por duas semanas até o início dos experimentos. A desinfestação das sementes foi feita em fluxo laminar com a imersão em álcool absoluto por um minuto e, em seguida, em hipoclorito de sódio a 2,5% por 15 minutos, realizando-se três lavagens em água estéril antes de efetivar a inoculação.

Teor de umidade das sementes

Duas semanas após a coleta e beneficiamento das sementes foi obtido o teor umidade para as três espécies alvo. Foram pesadas em balança analítica 80 sementes de cada espécie (quatro repetições de 20 sementes) para determinação do peso inicial úmido e, em seguida, estas foram deixadas por 24 horas a 103°C, em estufa com ventilação forçada, adaptado de Brasil (2009). O peso seco final foi obtido também em balança de precisão e o teor de umidade foi calculado utilizando-se a fórmula $[(P_i - P_f) / P_i] 100$, onde P_i é o peso inicial úmido e P_f é o peso final seco.

Armazenamento de sementes

As sementes, exceto aquelas do grupo controle, foram armazenadas em sacos de papel e colocadas em frascos de vidro de 1L hermeticamente fechados com e sem sílica gel, mantidos no escuro, durante 30, 90, 180 e 360 dias para *M. conoideus* e *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, e 30, 90 e 180 dias para *M. polyanthus* subsp. *alvinii*. Todas as espécies foram armazenadas sob diferentes condições: temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) ou em congelador a $0 \pm 1^\circ\text{C}$ com ou sem 100 g de sílica gel.

Ao final do período de armazenamento, as sementes foram desinfestadas quimicamente e inoculadas em meio Murashige e Skoog (1962) com metade das concentrações salinas (MS/2), em fluxo laminar. O delineamento consistiu em um arranjo fatorial de $4 \times 4 + 1$ (condições de armazenamento X período de armazenamento + controle), exceto para *M. polyanthus* subsp. *alvinii*, cujo delineamento foi $4 \times 3 + 1$.

Meio de cultivo

O meio de cultura utilizado foi MS/2 suplementado com 15 g L^{-1} de sacarose, gelificado com 6 g L^{-1} de Agar e distribuído em frascos de vidro, 30 mL por frasco. O meio foi esterilizado quimicamente com hipoclorito de sódio (adaptado de Teixeira *et al.*, 2006), colocando-se três gotas de hipoclorito (a 2,5% de cloro ativo) para cada litro de água destilada que seria utilizada no preparo do meio e aguardando-se, no mínimo, 1 hora antes de iniciar o preparo do meio. Após a dissolução dos nutrientes no meio de cultura foram adicionados 0,15 mL de hipoclorito para cada litro de meio, aguardando 15 minutos antes de adicionar Ágar e prosseguir com o preparo padrão. Todos os recipientes e vidrarias utilizados na produção do meio e os próprios frascos utilizados nos experimentos foram previamente lavados em solução de dois litros de água destilada com 20 gotas de hipoclorito a 2,5% de cloro ativo.

Variáveis de germinação in vitro

A germinação foi avaliada diariamente até 21 dias após a germinação da primeira semente em cada experimento, considerando-se a emissão da radícula como evidência de germinação (Brasil, 2009). As variáveis utilizadas na análise dos experimentos de germinação foram a germinabilidade (%G), tempo médio de germinação (TM), índice de velocidade de germinação (IVG) e coeficiente de uniformidade de germinação (CUG) (Santana e Ranal, 2000). Com o objetivo de quebrar a dependência entre a média e a variância, a germinabilidade, expressa em porcentagem, foi transformada em arco-seno.

Teste de viabilidade das sementes

A viabilidade das sementes que não germinaram foi testada após o término dos experimentos de germinação utilizando-se tetrazólio (2,3,5 trifenil tetrazólio cloreto) (ISTA, 2007). Segundo a metodologia de Veiga-Barbosa *et al.* (2010), foram separadas 25 sementes não germinadas de cada espécie, as quais tiveram seus opérculos removidos com o auxílio de um bisturi e, em seguida, foram colocadas em placas de Petri forradas com papel Germitest umedecido com água destilada e embaladas em papel alumínio para impedir a entrada de luz. Após 24 horas de embebição, as sementes foram colocadas em solução de tetrazólio a 0,6% e deixadas no escuro, em temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Decorridas 24 horas, suas testas foram rompidas com auxílio de bisturi e lupa para visualização dos embriões.

Condições de cultivo in vitro

As condições de cultivo foram estabelecidas em sala de crescimento com um fotoperíodo de 16 horas e temperaturas constantes de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, sob luz fluorescente ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Delineamento e análise estatística

O delineamento do experimento de armazenamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições de 20 sementes para cada tratamento devido ao número reduzido de sementes obtidas. Foi realizada a análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar 5.1 (Ferreira, 2008).

RESULTADOS

As plantas de todas as espécies se desenvolveram normalmente independentemente dos tratamentos utilizados para conservação de suas sementes (**Figura 1**). O teor de umidade obtido para as sementes de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* (6,30%), *M. conoideus* (7,30%) e *M. polyanthus* subsp. *alvinii* (8,27%) indicaram que todas as espécies possuem sementes ortodoxas, caracterizadas por baixo teor de umidade e resistência a dessecação após o término de seu desenvolvimento (Ferreira e Borghetti, 2004; Hartmann *et al.*, 2011; Kerbauy, 2012). De acordo com os testes de tetrazólio realizados com as sementes que não germinaram ao fim dos períodos pelos quais haviam sido armazenadas, a viabilidade foi mantida ao longo do experimento. Ao final de 360 dias, *M. conoideus* e *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* apresentaram 100% e 86,85% de viabilidade, respectivamente, e *M. polyanthus* subsp. *alvinii* obteve 64,3% após 180 dias.

Não houve interação significativa entre os períodos de armazenamento e os diferentes ambientes com ou sem sílica para *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* nas variáveis %G ($p = 0,0560$), CUG ($p = 0,4904$) e TM ($p = 0,1300$), porém, para o IVG ($p = 0,0238$) a interação entre estes fatores foi significativa.

A %G de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* variou de 12,10% a 44,27% em todo o experimento, com uma média de 24,75%. A %G do controle (35,41%) não diferiu das médias gerais dos períodos de 90 e 180 dias de armazenamento (29,15% e 27,68%, respectivamente), porém, foi significativamente maior que a %G obtida nos períodos de 30 e 360 dias (21,72% e 18,25%, respectivamente) (**Tabela 1**). Além disso, a %G do controle foi significativamente maior que a média obtida para temperatura ambiente sem sílica (18,69%) (**Tabela 1**).

O IVG médio para todo o experimento foi de 0,341 para a espécie *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, tendo variado de 0,060 a 1,153 nos tratamentos testados. Nos períodos de armazenamento houve diferença significativa nas médias de IVG entre o controle (0,795) e os períodos de 30, 90 e 360 dias (0,281; 0,351 e 0,163, respectivamente), de forma que a germinação foi mais lenta nestes três últimos tratamentos. De acordo com as médias de IVG nos ambientes de armazenamento com e sem sílica, a germinação foi mais lenta nos tratamentos na ausência de sílica em ambas as temperatura e à temperatura ambiente com sílica (0,193; 0,266 e 0,288, respectivamente) do que no controle (0,795). O único ambiente de armazenamento com ou sem sílica que apresentou diferença significativa entre períodos de armazenamento para os valores

de IVG foi congelador na presença de sílica, com o período de 180 dias de armazenamento apresentando germinação significativamente mais veloz que os demais períodos (1,153).

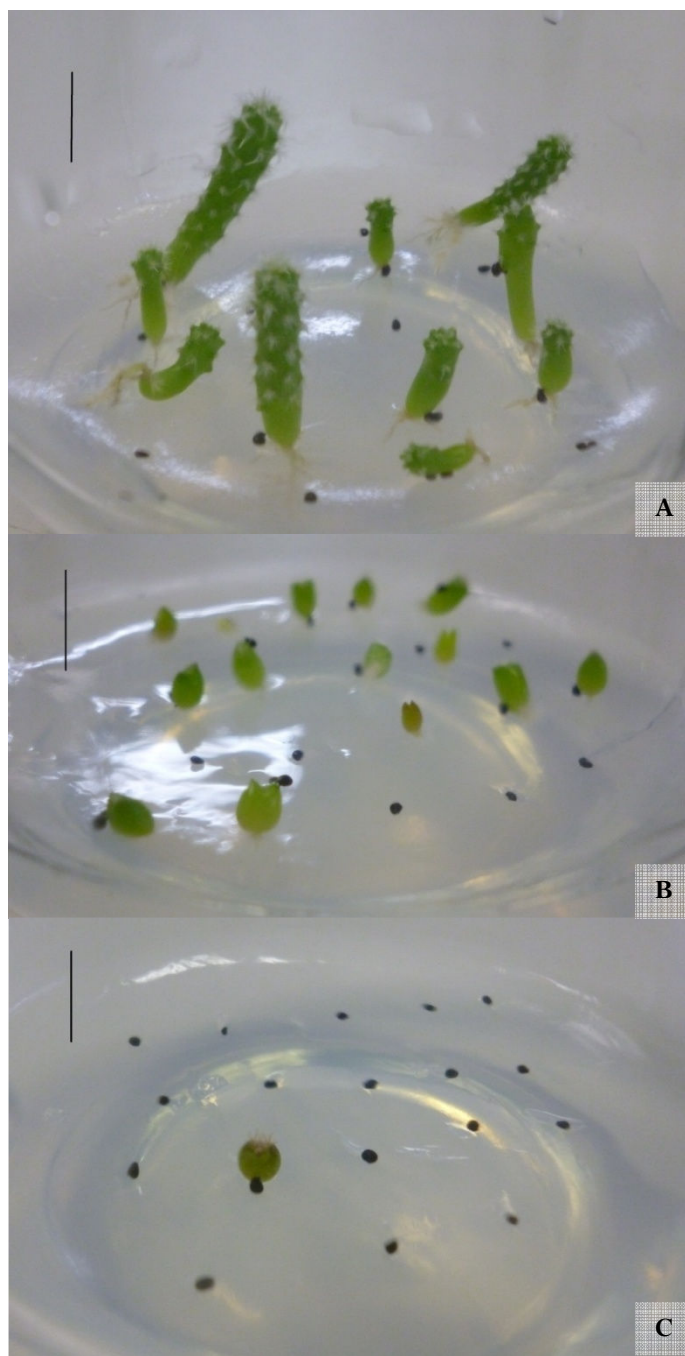


FIGURA 1. Plantas germinadas *in vitro* após o armazenamento de suas sementes sob diferentes condições (barra = 1 cm): A) *Micranthocereus polyanthus* (Werderm.) Backeb. subsp. *alvinii* M. Machado & Hofacker (Cactaceae), cujas sementes foram conservadas em congelador sem sílica por 180 dias; B) *Micranthocereus flaviflorus* Buining & Brederoo subsp. *densiflorus* (Buining & Brederoo) P.J. Braun & Esteves (Cactaceae), cujas sementes foram armazenadas por 360 dias à temperatura ambiente com sílica; C) *Melocactus conoideus* Buining & Brederoo (Cactaceae), cujas sementes foram conservadas por 360 dias em congelador com sílica.

As médias do TM e do CUG não diferiram entre si para os diferentes períodos de armazenamento ou para os ambientes na presença ou ausência de sílica. O tempo médio que *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* levou para germinar foi 15,1 dias com relação ao experimento todo, variando de 7,5 a 20,6 dias nos tratamentos utilizados. O CUG médio para o experimento como um todo foi 0,273 e a variação dentre todos os tratamentos foi de 0,021 a 1,236.

Os períodos de 30 e 360 dias de armazenamento diferiram do controle na variável %G, e no tratamento à temperatura ambiente sem sílica a %G também foi significativamente menor que a %G do controle. Com exceção do armazenamento por 180 dias em congelador com sílica, a cinética da germinação de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* não foi significativamente alterada entre os tratamentos testados, e, no entanto, de acordo com as médias gerais houve perda de velocidade (IVG) com relação ao controle. O tempo que as sementes levaram para germinar (TM) não foi afetado pelos períodos e ambientes de armazenamento testados com ou sem sílica, e a frequência da germinação ao longo do tempo (CUG) não diferiu significativamente entre os períodos ou ambientes na presença ou ausência de sílica.

Houve interação entre os períodos de armazenamento e os diferentes ambientes com ou sem sílica para *M. polyanthus* subsp. *alvinii* nas variáveis %G ($p = 0,0027$) e IVG ($p = 0,0014$), porém para o CUG ($p = 0,1202$) e o TM ($p = 0,3421$) a interação entre estes fatores não foi significativa.

A germinabilidade média para *M. polyanthus* subsp. *alvinii* foi 27,08%, variando de 19,88% a 38,37% dentre os tratamentos testados (**Tabela 2**). O valor médio obtido para a %G no período de armazenamento por 90 dias (29,70%) foi maior que o obtido para 180 dias (23,05%). Dentre os valores médios apresentados nos diferentes ambientes de armazenamento com ou sem sílica para %G não houve diferença significativa. Na ausência de sílica, a menor %G foi obtida com 180 dias de armazenamento (21,70%) e na presença dela a %G com 30 dias (30,75%) foi maior que com 90 dias (19,88%) (**Tabela 2**). No período de 90 dias de armazenamento a %G à temperatura ambiente sem sílica foi maior (38,37%) que o valor obtido na mesma temperatura com sílica (19,88%).

O IVG médio da espécie *M. polyanthus* subsp. *alvinii* foi de 0,351 no experimento de armazenamento, variando de 0,143 a 0,706 nos tratamentos utilizados. As médias desta variável não diferiram entre si dentro dos diferentes períodos de armazenamento ou ambientes de armazenamento na presença e ausência de sílica.

À temperatura ambiente sem sílica a germinação foi mais rápida aos 90 dias de armazenamento (0,706), porém nesta temperatura na presença de sílica o IVG obtido com 30 dias (0,458) foi mais alto que aquele obtido com 90 dias (0,143). No período de 90 dias de armazenamento o maior IVG foi obtido à temperatura ambiente sem sílica (0,706), diferindo dos demais tratamentos.

TABELA 1. Efeito de diferentes períodos de armazenamento sob diferentes ambientes na presença ou ausência de sílica sobre a germinabilidade (%G), tempo médio de germinação (TM), índice de velocidade de germinação (IVG) e coeficiente de uniformidade de germinação (CUG) em sementes de *Micranthocereus flaviflorus* Buining & Brederoo subsp. *densiflorus* (Buining & Brederoo) P.J. Braun & Esteves (Cactaceae).

Períodos de armazenamento (dias)	Sem sílica		Com sílica		Médias
	Temperatura ambiente	Congelador	Temperatura ambiente	Congelador	
%G					
0			35,41 ¹ ₁		
30	19,08	19,74	20,74	27,28	21,72 ²
90	29,76	28,67	33,53	23,16	29,15 ^{1,2}
180	13,82	22,41	31,07	44,27	27,68 ^{1,2}
360	12,10	24,87	13,53	22,50	18,25 ²
Médias	18,69 ₂	23,92 _{1,2}	24,29 _{1,2}	29,71 _{1,2}	
IVG					
0			0,795 ¹ ₁		
30	0,208 aA	0,288 aA	0,205 aA	0,423 bA	0,281 ²
90	0,345 aA	0,333 aA	0,480 aA	0,213 bA	0,351 ²
180	0,095 aB	0,168 aB	0,447 aB	1,153 aA	0,467 ^{1,2}
360	0,125 aA	0,278 aA	0,060 aA	0,188 bA	0,163 ²
Médias	0,193 ₂	0,266 ₂	0,288 ₂	0,513 _{1,2}	
TM (dias)					
0			13,7 ¹ ₁		
30	16,1	13,5	15,6	14,4	14,9 ¹
90	16,5	16,2	16,8	16,2	16,4 ¹
180	12,6	18,5	14,9	10,5	14,1 ¹
360	7,5	14,8	18,9	20,6	15,5 ¹
Médias	13,2 ₁	15,7 ₁	16,7 ₁	15,4 ₁	
CUG					
0			0,052 ¹ ₁		
30	1,011	0,041	0,136	0,021	0,302 ¹
90	0,054	0,034	0,028	0,029	0,037 ¹
180	0,056	0,341	0,049	0,091	0,140 ¹
360	0,283	0,023	1,236	1,040	0,645 ¹
Médias	0,351 ₁	0,110 ₁	0,383 ₁	0,313 ₁	

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Médias seguidas pelo mesmo número, sobrescrito nas colunas e subscrito nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Tanto a variável TM quanto o CUG não apresentaram diferenças significativas entre os valores médios encontrados para os períodos ou para os ambientes na presença e ausência de sílica no armazenamento de *M. polyanthus* subsp. *alvinii*. O tempo médio para esta espécie como um todo foi de 15,2 dias e variou de 13,0 a 18,1 dias nos tratamentos, enquanto que o CUG médio foi 0,114 no experimento inteiro e variou de 0,019 a 0,448 entre os tratamentos testados.

A uniformidade (CUG) e TM da germinação de *M. polyanthus* subsp. *alvinii* não foram alterados pelos tratamentos testados, e, com exceção do tratamento com 90 dias de armazenamento à temperatura ambiente, a cinética desta germinação também não se alterou ao longo do experimento (IVG). A %G foi diferenciada a depender do período de

armazenamento à temperatura ambiente, mas de acordo com as médias gerais não houve perda de qualidade fisiológica das sementes desta espécie com relação ao controle.

Não houve interação entre os fatores tempo de armazenamento e condições de armazenamento para *M. conoideus* nas variáveis TM ($p = 0,2463$) e CUG ($p = 0,3738$), enquanto que dentro da %G ($p = 0,0408$) e do IVG ($p = 0,0305$) esta interação ocorreu significativamente. A %G para *M. conoideus* variou entre 0% e 13,96%, apresentando uma média de 3,92% entre todos os tratamentos (**Tabela 3**).

O armazenamento em congelador com sílica por 180 dias alcançou maior %G do que os períodos de 30 e 90 dias de armazenamento (13,96%), enquanto que no armazenamento em congelador na ausência de sílica não houve germinação neste

TABELA 2. Efeito de diferentes períodos de armazenamento sob diferentes ambientes na presença ou ausência de sílica sobre a germinabilidade (%G), tempo médio de germinação TM, índice de velocidade de germinação (IVG) e coeficiente de uniformidade de germinação (CUG) em sementes de *Micranthocereus polyanthus* (Werderm.) Backeb. subsp. *alvinii* M. Machado & Hofacker (Cactaceae).

Períodos de armazenamento (dias)	Sem sílica		Com sílica		Médias
	Temperatura ambiente	Congelador	Temperatura ambiente	Congelador	
%G					
0			25,54 ^{1,2} ₁		
30	30,99 aA	24,45 aA	30,75 aA	29,94 aA	28,90 ^{1,2}
90	38,37 aA	29,00 aAB	19,88 bB	29,08 aAB	29,70 ¹
180	21,70 bA	22,64 aA	21,90 abA	25,67 aA	23,05 ²
Médias	30,30 ₁	25,36 ₁	24,83 ₁	28,23 ₁	
IVG					
0			0,330 ¹ ₁		
30	0,398 bA	0,237 aA	0,458 aA	0,473 aA	0,391 ¹
90	0,706 aA	0,375 aB	0,143 bB	0,403 aB	0,424 ¹
180	0,207 bA	0,221 aA	0,247 abA	0,295 aA	0,242 ¹
Médias	0,440 ₁	0,277 ₁	0,300 ₁	0,390 ₁	
TM (dias)					
0			14,6 ¹ ₁		
30	15,4	17,2	15,1	13,0	15,2 ¹
90	13,3	15,2	18,1	14,3	15,0 ¹
180	16,5	16,3	13,3	15,9	15,7 ¹
Médias	15,0 ₁	16,2 ₁	15,4 ₁	14,4 ₁	
CUG					
0			0,033 ¹ ₁		
30	0,056	0,027	0,048	0,068	0,049 ¹
90	0,036	0,028	0,433	0,448	0,223 ¹
180	0,069	0,219	0,019	0,038	0,091 ¹
Médias	0,053 ₁	0,091 ₁	0,155 ₁	0,185 ₁	

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Médias seguidas pelo mesmo número, sobrescrito nas colunas e subscrito nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

mesmo período. Isso refletiu sobre IVG, pois para este mesmo período de armazenamento em congelador na presença de sílica a velocidade de germinação (0,159) foi maior que a encontrada para 30 e 90 dias de armazenamento já que estes não apresentaram nenhuma semente germinada. Esta variável apresentou uma média geral de 0,032 e variou de 0 a 0,159 dentro dos tratamentos estudados. O TM não apresentou diferenças significativas dentro dos tratamentos testados, variando entre 0 e 13 dias e apresentando uma média geral de 4 dias. O CUG foi baixo para todos os tratamentos com uma média geral de 0,002 e variação de 0 a 0,040, sem diferenças significativas dentre os tratamentos avaliados.

O controle não diferiu de nenhuma das variáveis analisadas na espécie *M. conoideus* (Tabela 3). Comparando-se as diferentes condições de umidade e temperatura testadas, não houve diferenças no CUG ou no TM, enquanto o IVG e a %G obtiveram diferenças somente quanto ao tratamento em congelador com sílica por 180 dias.

Com relação às médias gerais comparadas ao controle, a sílica gel e os diferentes ambientes de armazenamento não afetaram a longevidade das sementes de *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *M. conoideus*. Para as sementes de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus*, a comparação das médias ao controle indicou que à temperatura ambiente sem sílica houve redução significativa da %G. Nesta espécie o período de 180 dias e o ambiente congelador com sílica obtiveram os únicos valores de IVG semelhantes ao controle.

DISCUSSÃO

O baixo teor de umidade obtido para as sementes das espécies estudadas é comum na família Cactaceae e foi documentado para outras espécies como *Stephanocereus luetzelburgii* (Vaupel) N.P. Taylor & Egli, *Discocactus zehntneri* Britton & Rose subsp. *zehntneri* e *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber) Byles & Rowley subsp. *gounellei*, com 9% a

TABELA 3. Efeito de diferentes períodos de armazenamento sob diferentes ambientes na presença ou ausência de sílica sobre a germinabilidade (%G), tempo médio de germinação TM, índice de velocidade de germinação (IVG) e coeficiente de uniformidade de germinação (CUG) em sementes de *Melocactus conoideus* Buining & Brederoo (Cactaceae).

Períodos de armazenamento (dias)	Sem sílica		Com sílica		Médias
	Temperatura ambiente	Congelador	Temperatura ambiente	Congelador	
%G					
0			6,46 ¹ ₁		
30	3,23 aA	3,23 aA	0,00 aA	0,00 bA	1,61 ¹
90	7,84 aA	6,46 aA	8,61 aA	0,00 bA	5,53 ¹
180	3,23 aAB	0,00 aB	3,23 aAB	13,96 aA	5,44 ¹
360	0,00 aA	3,23 aA	0,00 aA	8,61 abA	2,58 ¹
Médias	3,57 ₁	3,44 ₁	2,58 ₁	5,44 ₁	
IVG					
0			0,061 ¹ ₁		
30	0,035 aA	0,010 aA	0,000 aA	0,000 bA	0,011 ¹
90	0,071 aA	0,073 aA	0,075 aA	0,000 bA	0,053 ¹
180	0,009 aB	0,000 aB	0,009 aB	0,159 aA	0,047 ¹
360	0,000 aA	0,013 aA	0,000 aA	0,040 abA	0,011 ¹
Médias	0,029 ₁	0,026 ₁	0,017 ₁	0,050 ₁	
TM (dias)					
0			4,7 ¹ ₁		
30	1,7	5,7	0,0	0,0	1,9 ¹
90	5,3	6,5	6,0	0,0	4,4 ¹
180	7,0	0,0	6,7	8,4	5,9 ¹
360	0,0	4,7	0,0	13,0	3,9 ¹
Médias	3,5 ₁	4,5 ₁	3,0 ₁	4,8 ₁	
CUG					
0			0,000 ¹ ₁		
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000 ¹
90	0,040	0,000	0,000	0,000	0,011 ¹
180	0,000	0,000	0,000	0,003	0,001 ¹
360	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000 ¹
Médias	0,010 ₁	0,000 ₁	0,000 ₁	0,001 ₁	

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Médias seguidas pelo mesmo número, sobrescrito nas colunas e subscrito nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

12% de umidade (Marchi *et al.*, 2013). Hartmann *et al.* (2011) recomendam a utilização de sementes com teor de umidade entre 5 e 8% para armazenamento por longos períodos de tempo. Dessa maneira, sementes ortodoxas são ideais para armazenamento em longo prazo (Salomão, 2002; Hartmann *et al.*, 2011), principalmente por poderem ser conservadas em condições de baixa umidade (Hartmann *et al.*, 2011; Kerbauy, 2012).

De acordo com as médias gerais obtidas, a velocidade de germinação e o tempo que as sementes levaram para germinar não foram afetados de forma significativa pelos tratamentos testados em *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *M. conoideus*, o que se assemelha ao obtido para *P. gounellei* subsp. *gounellei* por seis meses de armazenamento sob temperatura

ambiente e câmara fria em diferentes recipientes (Abud *et al.*, 2012) e discorda do padrão encontrado para *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* no presente trabalho e para outras cactáceas nestas variáveis, para as quais sementes mais velhas levam mais tempo para germinar (Rojas-Aréchiga e Vázquez-Yanes, 2000).

As condições que mais afetam o armazenamento de sementes em longo prazo são a umidade e a temperatura (Ferreira e Borghetti, 2004; Hartmann *et al.*, 2011). A longevidade de sementes ortodoxas é aumentada sob condições de baixa umidade e temperatura (Ferreira e Borghetti, 2004; Hartmann *et al.*, 2011; Kerbauy, 2012), o que está de acordo com os resultados encontrados para *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *M. conoideus*, porém, discorda daqueles encontrados para *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* para a variável IVG. Esta espécie

apresentou, em geral, perda de velocidade na germinação para todos os tratamentos testados, o que pode sinalizar a deterioração das sementes (Khurana e Singh, 2001; Ferreira e Borghetti, 2004). Além disso, à temperatura ambiente na ausência de sílica, a %G foi significativamente menor que a obtida para o controle. Isto pode ter ocorrido devido a um possível aumento no teor de umidade das sementes, o qual é prejudicial à viabilidade destas por permitir aumento da taxa de respiração da semente ou a sua predação por fungos e insetos, a depender do nível de hidratação (Ferreira e Borghetti, 2004; Hartmann *et al.*, 2011). Isto ocorre, pois a umidade na semente tende a entrar em equilíbrio com a umidade relativa do ar, e sem material dessecante (sílica) a alta umidade típica das regiões tropicais prejudica o armazenamento eficiente de sementes (Ferreira e Borghetti, 2004; Hartmann *et al.*, 2011; Abud, 2012).

A %G de sementes de *P. gounellei* subsp. *gounellei* se mantém alta (mais de 90%) após armazenamento em câmara fria por até seis meses (Abud *et al.*, 2012) e, para sementes de *Hylocereus undatus* (Haw.) Britten & Rose, a câmara fria também foi eficiente na preservação de qualidade fisiológica (Andrade *et al.*, 2005). Além disso, quando armazenadas à temperatura ambiente por seis meses em sacos de plástico, sementes de *P. gounellei* subsp. *gounellei* apresentaram 87% de germinação, enquanto que frascos de vidro similares aos utilizados no presente estudo não foram eficientes e as sementes neles armazenadas apresentaram baixa %G (12,5%) (Abud *et al.*, 2012). Para *M. polyanthus* subsp. *alvinii*, no entanto, não houve diferenças significativas entre os diferentes ambientes de armazenamento, de forma que sementes dessa espécie podem ser conservadas em ambos os ambientes. As sementes de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* armazenadas à temperatura ambiente sem sílica obtiveram menor %G média (18,69%) com relação ao controle (35,41%), sendo desaconselhável, portanto, sua conservação sob estas condições. *Melocactus conoideus* apresentou %G baixa no controle e em todos os tratamentos independentemente do ambiente de armazenamento, o que indica que esta espécie pode apresentar algum tipo de dormência, a qual já estaria instalada antes do início do experimento. *Melocactus curvispinus* Pfeiff. subsp. *caesius* (H.L. Wendl.) N.P. Taylor apresentou baixa germinabilidade em sementes recém coletadas, as quais tiveram sua germinação potencializada pela lavagem em água, indicando dormência como causa deste comportamento (Rojas-Aréchiga e Vázquez-Yanes, 2000).

De acordo com os testes de tetrazólio realizados a viabilidade foi mantida ao longo do experimento, mas tendo em vista os resultados obtidos é possível que as condições ou os períodos de armazenamento tenham causado dormência secundária ou induzida nas sementes de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* (Khurana e Singh, 2001). Para *S. luetzelburgii* e *D. zehntneri* subsp. *zehntneri*, a viabilidade de suas sementes foi alta mesmo quando estas não germinaram, o que também indica a presença de dormência nestas espécies, porém neste caso a dormência provavelmente é primária (Veiga-Barbosa *et al.*, 2010; Marchi, 2013).

A germinação de *Mammillaria huitzilopochtli* D.R.Hunt depende dos períodos de armazenamento pelos quais suas sementes são conservadas, de forma que quanto maior a idade das sementes menor a %G obtida (Flores-Martínez *et al.*, 2008). Os autores defendem a idéia de que essa espécie não investe na longevidade de suas sementes devido ao seu habitat, onde chuvas ocorrem anualmente e causam a perda de sementes e plantas, de forma que germinar pouco depois da dispersão é mais vantajoso do que formar um banco de sementes duradouro que provavelmente será perdido na estação chuvosa do ano. *Mammillaria huitzilopochtli*, portanto, forma um banco transitório de sementes na natureza. Todas as espécies estudadas no presente trabalho também apresentaram potencial de formação de banco de sementes, seja pela longevidade ou por provável dormência apresentadas por suas sementes.

A formação de bancos de sementes já foi documentada para outras cactáceas (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000; Montiel e Montaña, 2003; Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004; Mandujano *et al.*, 2005; Ortega-Baés e Rojas-Arechiga, 2007; Flores *et al.*, 2008). *Micranthocereus flaviflorus* subsp. *densiflorus*, *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *M. conoideus* possuem sementes pequenas, com longevidade e provável dormência ou necessidade de pós-maturação, características que, como o fotoblastismo positivo, são associadas à formação de bancos na natureza (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000; Rojas-Arechiga e Batis, 2001). Um banco de sementes de uma espécie pode produzir plantas continuamente por vários anos devido aos diferentes níveis de dormência apresentados por suas sementes, as quais podem permanecer viáveis desta forma por muito tempo e assegurar a população contra condições ambientais desfavoráveis (Khurana e Singh, 2001), apesar de correrem risco de predação durante sua permanência no solo (Montiel e Montaña, 2003). Isto está de acordo com os resultados obtidos para a uniformidade da germinação ao longo do tempo para todas as espécies deste estudo, além do resultado dos testes de viabilidade, porém recomenda-se a verificação da existência de bancos de sementes dessas espécies onde ocorrem naturalmente.

Cactos dos gêneros *Frailea* Britton & Rose e *Gymnocalycium* Pfeiff. ex Mittler, assim como as espécies *Melocactus peruvianus* Vaupel, *Echinopsis tegeleriana* (Backeb.) D.R. Hunt, *Samaipaticereus corroanus* Cárdenas e *Brasilicactus* spp., apresentam decréscimo na porcentagem de sementes germinadas depois de longos períodos de armazenamento (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000). Outras espécies mantêm sua germinabilidade praticamente inalterada à medida que suas sementes envelhecem, como algumas espécies de *Echinocereus* Engelm., *Ferocactus* Britton & Rose, *Neoporteria* Phil., *Eulychnia* Phil. e *Haageocereus* Backeb. (Rojas-Arechiga e Vázquez-Yanes, 2000) e também *M. polyanthus* subsp. *alvinii* e *M. conoideus*, enquanto outros cactos possuem sementes que aumentam sua taxa de germinação ao longo dos anos, como *Opuntia* spp. (Mandujano *et al.*, 1997; 2005), *Ferocactus wislizenii* (Engelmann) Britton & Rose (Bowers, 2000), *Stenocereus stellatus* (Pfeiff.) Riccob. (Rojas-Arechiga *et al.*, 2001) e *Stenocereus queretaroensis* (F.A.C. Weber) Buxb. (De La Barrera e Nobel, 2003).

Dentre os fatores que causam a deterioração das sementes durante o armazenamento pode-se destacar o aumento na peroxidação de lipídios, quebra parcial de proteínas, acúmulo de radicais livres, redução na atividade de enzimas responsáveis por destoxificar os tecidos, esgotamento das reservas energéticas e deterioração da membrana plasmática (Khurana e Singh, 2001; Ferreira e Borghetti, 2004; Kerbaay, 2012). Como o armazenamento de sementes de *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* não foi efetivo para preservar seu potencial germinativo original apesar da viabilidade alta apresentada por suas sementes, pode-se sugerir novos estudos com outras formas de armazenamento. Os sacos de papel e recipientes de vidro utilizados no presente estudo demonstraram ser capazes de manter a longevidade de sementes de *M. polyanthus* subsp. *alvini* e *M. conoideus*.

De acordo com Ferreira e Borghetti (2004), os últimos cinco a dez dias do desenvolvimento de sementes antes de ocorrer a sua desidratação, assim como a própria taxa de secagem dessas sementes, tem influência na sua qualidade e vigor, ou seja, influenciam sua longevidade e porcentagem de germinação, respectivamente. Pode-se inferir, portanto, que a época do ano e as condições ambientais durante as quais as sementes dos cactos analisados neste estudo se desenvolveram podem ter influenciado nos resultados aqui obtidos, sendo interessante em futuros trabalhos investigar esta relação entre condições de maturação e qualidade fisiológica destas sementes. Estudos já demonstraram diferenças em níveis de dormência entre indivíduos da mesma espécie, entre populações distintas e entre diferentes anos de coleta das sementes (Andersson e Milberg, 1998), levando-se a acreditar que a regulação deste comportamento não é simples ou regida por apenas fatores genéticos ou ambientais, mas pela combinação de diversos fatores, e ainda há necessidade de estudos nesta área.

Todas as espécies estudadas podem ser conservadas em qualquer uma das condições estabelecidas neste trabalho sem perda de viabilidade, porém, *M. polyanthus* subsp. *alvini* e *M. conoideus* preservaram seu vigor original após meses de armazenamento, enquanto que *M. flaviflorus* subsp. *densiflorus* apresentou perda de sua resposta germinativa original com 360 dias, o que provavelmente indica dormência induzida. Sugere-se o teste de outras formas de armazenamento para esta espécie, porém ressalta-se que suas sementes podem ser conservadas com sílica, à temperatura ambiente ou em congelador, por 180 dias de maneira satisfatória.

Com o objetivo de economizar recursos pode-se armazenar de forma efetiva sementes de *M. polyanthus* subsp. *alvini* à temperatura ambiente sem sílica por 180 dias. Sementes de *M. conoideus* podem ser conservadas em congelador com ou sem sílica por 360 dias, no entanto são indicados estudos de superação de dormência não somente para esta, mas para todas as espécies estudadas neste trabalho devido à sua baixa germinação inicial. Também são recomendados estudos comparando longevidade e presença de dormência com a época de coleta de sementes nestas três espécies.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abud HF, Pereira DS, Gonçalves NR, Pereira MS e Bezerra AME. 2012. Armazenamento de sementes de xique-xique. **Revista Brasileira de Sementes**, 34(3): 473-479.
- Andersson L e Milberg P. 1998. Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. **Seed Science Research**, 8: 29-38.
- Andrade RA, Oliveira IVM e Martins ABG. 2005. Influência da condição e período de armazenamento na germinação de sementes de Pitaya vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 27(1): 168-170.
- Benítez-Rodríguez JL, Orozco-Segovia A e Rojas-Aréchiga M. 2004. Light effect on seed germination of four *Mammillaria* species from the Tehuacán-cuicatlán valley, Central Mexico. **The Southwestern Naturalist**. 49(1): 11-17.
- Bowers JE. 2000. Does *Ferocactus wislizenii* (Cactaceae) have a between-year seed bank? **Journal of Arid Environments**, 45: 197-205.
- Brasil. 2009. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS. 399 p.
- CITES – **Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora**. 2013. Disponível em: www.cites.org. Acesso em: 12 de setembro de 2013.
- De la Barrera E e Nobel PS. 2003. Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis*. **Journal of Arid Environments**, 53: 297-306.
- Ferreira AG e Borghetti F. 2004. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 323 p.
- Ferreira DF. 2008. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, 6(2): 36-41.
- Flores-Martínez A, Manzanero GI, Rojas-Aréchiga M, Mandujano MC e Golubov J. 2008. Seed age germination responses and seedling survival of an endangered cactus that inhabits cliffs. **Natural Areas Journal**, 28(1): 51-57.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT e Geneve RL. 2011. **Plant Propagation: principles and practices**. 8 ed. United States: Pearson. 915 p.
- ISTA. 2007. Biochemical test for viability, the topographica tetrazolium test. In: **International Rules for Seed Testing**, 6, Bassesrdorf: International Seed Testing Association, pp.46.
- Kerbaay GB. 2012. Fisiologia vegetal. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 452 p.
- Khurana E e Singh JS. 2001. Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. **Environmental Conservation**, 28: 39-52.

- Li, D e Pritchard HW. 2009. The science and economics of *ex situ* plant conservation. **Trends Plant Sci.** 14(11): 614-621.
- Machado MC. 2004. The conservation of *Melocactus conoideus* in Vitória da Conquista, Brazil. **British Cactus and Succulent Journal.** 22(3): 139-146.
- Machado M e Braun P. 2013. *Micranthocereus flaviflorus*. In: IUCN 2013. **IUCN Red List of Threatened Species.** Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 02 August 2013.
- Machado M, Braun P, Taylor NP e Zappi D. 2013. *Micranthocereus polyanthus*. In: IUCN 2013. **IUCN Red List of Threatened Species.** Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 02 August 2013a.
- Machado M, Taylor NP, Braun P e Zappi D. 2013. *Melocactus conoideus*. In: IUCN 2013. **IUCN Red List of Threatened Species.** Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 02 August 2013b.
- Mandujano MC, Golubov J e Montaña C. 1997. Dormancy and endozoochorous dispersal of *Opuntia rastrera* seeds in the southern Chihuahuan Desert. **Journal of Arid Environments,** 36: 259-266.
- Mandujano MC, Montaña C e Rojas-Aréchiga, M. 2005. Breaking seed dormancy in *Opuntia rastrera* from the Chihuahuan desert. **Journal of Arid Environments,** 62: 15-21.
- Marchi MNG, Civatti LM, Viana CM, Assis JGA, Bellintani MC e Santana JRF. 2013. Seed cryopreservation of the native cacti *Discocactus zehntneri*, *Pilosocereus gounellei* and *Stephanocereus luetzelburgii* from Bahia, Brazil. **African Journal of Biotechnology,** 12(21): 3250-3254.
- Montiel S e Montaña C. 2003. Seed bank dynamics of the desert cactus *Opuntia rastrera* in two habitats from the Chihuahuan Desert. **Plant Ecology,** 166: 241-248.
- Murashige T e Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum,** 15: 473-497.
- Ortega-Baes P e Rojas-Aréchiga M. 2007. Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. **Journal of Arid Environments,** 69: 169-176.
- Rojas-Aréchiga M e Vázquez-Yanes C. 2000. Cactus seed germination: a review. **Journal of Arid Environments,** 44: 85-104.
- Rojas-Aréchiga M e Batis AI. 2001. Las semillas de cactáceas... Forman bancos em el suelo? **Cactáceas y Suculentas Mexicanas,** 4: 76-82.
- Rojas-Aréchiga M, Casas A e Vázquez-Yanes C. 2001. Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central México. **Journal of Arid Environments,** 49: 279-287.
- Santana DG e Ranal MA. 2000. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal,** 12: 205-237.
- Silva RC, Camillo J, Luis ZG e Scherwinski-Pereira JE. 2011. Potencial germinativo e morfoanatomia foliar de plântulas de pinhão-manso originadas de germoplasma criopreservado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** 46(8): 836-844.
- Taylor N e Zappi D. 2004. **Cacti of Eastern Brazil.** Royal Botanic Gardens, Kew. 499 p.
- Teixeira SL, Ribeiro JM e Teixeira MT. 2006. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. **Plant Cell Tissue and Organ Culture,** 86: 375-378.
- Veiga-Barbosa L, Gonzáles-Benito ME, Assis JGA, Perez-Garcia F. 2010. Germination and cryopreservation of several cactus species from NE Brazil. **Seed Science & Technology,** 38: 218-224.