

Raquel Kremer Cury

**CACTACEAE EPIFÍTICAS: GERMINAÇÃO,
DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL E MORFOANATOMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Marisa Santos

Co-orientador(a): Prof.^a Dr.^a Aurea Maria Randi

Florianópolis
2015

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária**

Cury, Raquel Kremer

Cactaceae epifíticas: germinação, desenvolvimento pós seminal e morfoanatomia / Raquel Kremer Cury ; orientador, Marisa Santos ; coorientador, Aurea maria Randi. - Florianópolis, SC, 2015.

96 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Inclui referências

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. germinação. 3. crescimento. 4. hipocótilo. 5. plântulas. I. Santos, Marisa. II. Randi, Aurea maria. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.

Raquel Kremer Cury

**CACTACEAE EPIFÍTICAS: GERMINAÇÃO,
DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL E MORFOANATOMIA**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Biologia Vegetal”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas – UFSC.

Florianópolis, 22 de maio de 2015.

Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Marisa Santos – Orientadora - (Presidente/CCB/UFSC)

Prof.^a Dr.^a Aurea Maria Randi- Corientadora - (CCB/UFSC)

Prof. Dr. Gilmar Roberto Zaffari (UNIVALI – Itajaí)

Prof.^a Dr.^a Ana Claudia Rodrigues (CCB/UFSC)

Prof.^a Dr.^a Cristina Magalhães Ribas dos Santos (CCA/UFSC)

Dedico esta dissertação aos meus pais, Antonio Kremer e Soeli Kremer, que sempre sonharam junto comigo. Ao meu marido Alexandre Cury, que sempre está ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Dra. Marisa Santos pela orientação, compreensão e paciência. Por sempre estar disposta a ajudar e superar os percalços durante a produção deste trabalho.

À professora Dra. Áurea Maria Randi por sua ajuda na orientação deste trabalho.

Ao professor Dr. Gilmar Roberto Zaffari por sua colaboração em parte desta dissertação. Por sempre estar disposto a ajudar com muito bom humor. Também por ajudar a solucionar alguns problemas que ocorreram neste trabalho, em alguns dos momentos que mais precisei.

Aos professores do Programa pelas disciplinas ministradas que muito contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas (PPGFAPUFSC), pelo acesso aos laboratórios e equipamentos utilizados durante as pesquisas.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina pela disponibilidade do uso de suas estruturas.

A todos os colegas de mestrado, colegas de laboratório e orientação, pela colaboração neste trabalho e que durante este percurso estiveram presente.

A Thaysi Ventura de Souza que conheci durante o período de mestrado e que tornou-se uma grande amiga. Ajudou-me em todas as fases deste trabalho. Obrigada amiga.

A Daniela Linhares Gomes pela ajuda prestada no laboratório e colaboração no preparo de materiais. Obrigada pelo carinho e dedicação.

Ao professor Dr. Ademir Reis com quem muito aprendi durante o período que participei de projetos no herbário “Barbosa Rodrigues”. Um grande incentivador a aquisição do conhecimento.

A equipe do Herbário “Barbosa Rodrigues”, em especial a Zilda Helena Deschamps Bernardes, Jurandir de Souza Bernardes, Emanoele Pansera e Daiane Martins freitas. Pelo apoio, incentivo e por sempre acreditarem em mim. Ao “Seu Jurandir”, por nunca deixar “a perda de uma luta ser a perda de uma guerra”.

A minha família que tanto amo. Meus pais, Antonio e Soeli Kremer. Meus irmãos Samir Kremer e Patricia Kremer Kläsener. Ao meu sobrinho Henrique que enche meu coração de felicidade e amor. E ao meu marido, Alexandre Cury, pelo amor, compreensão e paciência.

“Era belo, áspero, intratável.” (O Cacto)
Manuel Carneiro De Souza Bandeira Filho

RESUMO

Espécies de Cactaceae, adaptadas ao epifitismo, são encontradas na Mata Atlântica brasileira. Algumas destas espécies tem potencial ornamental, como é o caso de espécies de *Rhipsalis* e *Lepismium*. Este estudo teve por objetivo investigar a germinação e o desenvolvimento pós-seminal *in vitro*, em água e em meios de cultivo, e analisar a morfoanatomia de plântulas e caule de *Rhipsalis neves-armondii*, *R. teres* e *Lepismium cruciforme*. Foram coletados segmentos de caules e frutos. As sementes das três espécies, após serem extraídas dos frutos e secas, foram colocadas para germinar em água sobre papel filtro e ágar. Amostras foram coletadas aos 15, 30 e 60 dias após as sementes terem sido colocadas para germinar. O vigor das sementes foi testado com tetrazólio. Para análise de crescimento e desenvolvimento (aos 60 dias) foi determinado: comprimento da parte aérea e raiz, número de raízes, produção de biomassa, teor de clorofilas e carotenóides e concentração de proteínas solúveis totais. Para estudos da anatomia de plântula e caule adulto, em microscopias óptica (MO) e eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2. Amostras infiltradas em historresina foram seccionadas transversalmente, coradas com azul de toluidina e analisadas em MO. Para MEV, as amostras foram desidratadas e secas em ponto crítico de CO₂. Também foram realizadas secções paradérmicas no caule *in vivo*. Os resultados revelaram que a taxa de germinação em água foi maior do que em ágar. Os teores de clorofilas e carotenóides foram maiores em plântulas de *R. teres*. O desenvolvimento de plântulas produzidas, tanto por germinação de sementes em água, quanto em agar, indicou ser indispensável a incrementação de nutrientes, pois as substâncias de reserva foram exauridas até os 60 dias de cultivo. As plântulas, independente do processo de cultivo apresentaram coloração verde uniforme, hipocótilo suculento, cilíndrico e com diâmetro gradativamente maior em direção aos cotilédones. Plântulas cultivadas em água mostraram epicótilo mais desenvolvido em *R. neves-armondii*, com presença de espinhos, comparado com *R. teres*; em *L. cruciforme*, aos 60 dias o epicótilo ainda não era evidenciado. Em ágar, as sementes de *R. neves-armondii* não germinaram. A morfologia do hipocótilo de *L. cruciforme* alterou-se quando vista em secções transversais, de circular aos 30 dias para achatada aos 60 dias. Características anatômicas do hipocótilo de *R. teres* e *L. cruciforme* foram: epiderme unisseriada e com cutícula, estômatos do tipo paracítico e no mesmo nível das demais células

epidérmicas; parede periclinal externa das células epidérmicas alterou de plana para convexa com o desenvolvimento; córtex com hidrênquima; e cilindro central sem fibras associadas aos feixes vasculares colaterais. A análise de caule de plantas adultas de *R. teres* e *L. cruciforme* revelou constituição histológica com epiderme uniestratificada, estômatos ciclocíticos afundados na superfície, cutícula espessa e amplo hidrênquima. Cutícula espessa e hidrênquima constatados no hipocótilo das plântulas e nos caules de plantas adultas são características xéricas, importantes para economia hídrica destas epífitas que são protegidas da irradiação solar pelo forófito, mas com limitação de disponibilidade água.

Palavras-chave: Germinação, desenvolvimento, hipocótilo e plântulas.

ABSTRACT

Cactaceae species epiphytism adapted are found in the Brazilian Atlantic Forest. Some of those species have ornamental potential, such as *Rhipsalis* and *Lepismium* species. This study aimed to investigate the germination and post-seminal development *in vitro*, in water and in culture medium, and analyze the morphoanatomy seedlings and stem of *Rhipsalis neves-armondii*, *R. teres* and *Lepismium cruciforme*. Segments of stems and fruits were collected. The seeds of the three species, after being extracted from the fruit and dried, were germinated in water on filter paper and in agar. Samples were collected at 15, 30 and 60 days after the seeds were germinated. Seed vigor was tested with tetrazolium. For growth and development analysis (60 days) was determined: shoot and root length, root number, biomass production, chlorophylls and carotenoids and total soluble proteins content. For studies of seedling and adult stem anatomy, in light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM), samples were fixed in 2.5% glutaraldehyde in sodium phosphate buffer 0.1M, em pH 7.2. Samples infiltrated in historesin were cross-sectioned, stained with toluidine blue and examined by LM. For SEM, samples were dehydrated and critical point dried using CO₂. Paradermic sections were made *in vivo* stem. The results revealed that germination rate in water was higher than in agar. The contents of chlorophylls and carotenoids were higher in *R. teres* seedlings. The development of seedlings produced both for germination of seeds in water as in agar indicated it essential to incrementing nutrients, because the reserve substances are exhausted up to 60 days of cultivation. The seedlings showed uniform green color, succulent hypocotyl, cylindrical and gradually larger in diameter towards the cotyledons and this was independent of cultivation process. Seedlings grown in water showed hypocotyl more developed in *R. neves-armondii*, with the presence of thorns, compared with *R. teres*; in *L. cruciforme*, at 60 days, the epicotyl was not yet evident. The *R. neves-armondii* seeds do not germinate in agar. The morphology of the *L. cruciforme* hypocotyl changes when seen in cross-section, from circular (30 days) to flat (60 days). Anatomical characteristics of the *R. teres* and *L. cruciforme* hypocotyl were: uniseriate epidermis and with cuticle, the stomata of paracitic type and on a level with other epidermal cells; with development the epidermal cells showed changes planer to convex periclinal outer wall; cortex with hydrenchyma; and central cylinder showed no fibers associated with collateral vascular bundles. The stem analysis of adult plants of *R. teres* and *L. cruciforme* revealed

histological constitution with uniseriate epidermis, cyclocytic stomata sunk into the surface, thick cuticle and hydrenchyma ample. Thick cuticle and hydrenchyma ample observed in seedlings hypocotyl and mature plants stems are xeric characteristics, important for water economy of these epiphytes that are protected from sunlight by the host tree, but with limited availability water.

Key words: germination, development, hypocotyl and seedlings.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Mapa do Estado de Santa Catarina, destacando os municípios de coletas dos frutos das espécies de Cactaceae epífíticas e suas respectivas coordenadas geográficas: Itajaí, latitude 26° 54' 28" Sul e longitude 48° 40' 6" oeste a 6 metros de altitude; e Florianópolis, latitude 27°36'9"sul e longitude 48°31'32"oeste a 19 metros de altitude. Fonte: modificado das fontes: <http://www.mapainterativo.ciasc.gov.br>, acesso em julho de 2012) 49
- Figura 2. Indivíduo adulto de *Rhipsalis neves-armondii* em seu ambiente natural..... 50
- Figura 3. Indivíduo adulto de *R. teres* em seu ambiente natural. 51
- Figura 4. Indivíduo adulto de *Lepismium cruciforme* em seu ambiente natural..... 51
- Figura 5. Aspecto geral das sementes das espécies Cactaceae epífíticas. Legenda: A. *Rhipsalis neves-armondii*, B. *R. teres* e C. *Lepismium cruciforme*. Legenda: t. testa, Znm. zona hilo-micropilar . Barras: 0,5 mm. 56
- Figura 6. Teste de viabilidade dos embriões zigóticos de Cactaceae epífíticas, após imersão em solução de cloreto 2,3,5 trifenil tetrazólio (TTC) a 1%. Legenda: A. Embriões zigóticos antes da imersão (testemunha); B. Embriões zigóticos 3h após a imersão; C. Embriões zigóticos 6h após a imersão; D. Embriões zigóticos 12h após a imersão. 1e 2. Genótipos de *Rhipsalis neves-armondii*; 3 a 9. genótipos de *R. teres* e 10. Genótiposde *Lepismium cruciforme* 58
- Figura 7. Percentagem de germinação de sementes de Cactaceae epífíticas, cultivadas em água, após 60 dias, em câmara de crescimento. Temperatura de 25 ± 2°C, umidade do ar aproximadamente 60%, com fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro, luz branca fria fluorescente, com intensidade de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ . N= 5..... 59
- Figura 8. Plântulas de *Rhipsalis neves-armondii* germinadas em água. A. Aos 15 dias; B. Aos 30 dias; C. Aos 60 dias. Legenda: e. espinhos; ep. epicótilo; c. cotilédones; cl. colo; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2mm. 63
- Figura 9. Plântulas de *R. teres* germinadas em água. A. Aos 15 dias; B. Aos 30 dias; C. Aos 60 dias. Legenda: ep. epicótilo; c. cotilédones; cl. colo; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2mm. 64

Figura 10. Plântulas de *Lepismium cruciforme* germinadas em água. A. Aos 15 dias; B. Aos 30 dias; C. Aos 60 dias. Legenda: e. espinhos; c. cotilédones; cl. colo; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2mm. 64

Figura 11. Secções transversais do hipocótilo da plântula de *Rhizoglyphis teres*, 60 dias de desenvolvimento em água, em microscopia óptica. A. Vista geral região mediana hipocótilo. B. Detalhe dos tecidos, destacando a epiderme e o córtex. C. Cilindro central da região mediana. D. Detalhe dos tecidos periféricos. E. Vista geral dos tecidos da região apical. F. Detalhe dos tecidos periféricos, destacando a epiderme. Legenda: c. cutícula; ep. epiderme; fl. floema; h. hidrênquima; xl. xilema. Barras: A, B e E = 100 µm; C = 50 µm; D e F = 20 µm. 65

Figura 12. Vista, em microscópico óptico, de secções transversais do hipocótilo da plântula de *Lepismium cruciforme*, aos 60 dias de desenvolvimento em água. A. Vista geral região basal (região com preenchimento artificial nos espaços onde as células romperam devido a fragilidade do tecido); B. Detalhe cilindro central; C. Detalhe da epiderme, estômato e cutícula; D. Vista geral região mediana (região com preenchimento artificial nos espaços onde as células romperam devido a fragilidade do tecido); E. Detalhe endoderme da região mediana do hipocótilo; F. Epiderme com presença de cutícula e estômato. Legenda: c. cutícula; e. estômato; en. endoderme; ep. epiderme. fl. floema; h. hidrênquima; xl. xilema. Barra A e D = 300 µm; B, C e E = 30 µm; F = 20 µm. 66

Figura 13. Plântula de *Lepismium cruciforme* com desenvolvimento em ágar. A. Com 30 dias após a inoculação. B. 60 dias. Legenda: c. cotilédone; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2,5 mm. 68

Figura 14. Plântula de *Rhizoglyphis teres* com desenvolvimento em ágar. A. Com 30 dias após a inoculação. B. 60 dias. Legenda: c. cotilédone; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2,5 mm. 68

Figura 15. Secções transversais, em microscópico óptico, do hipocótilo da plântula de *Rhizoglyphis teres* com desenvolvimento em ágar 30 dias após a inoculação. A. Vista geral região basal hipocótilo; B. Detalhe da epiderme da região basal com presença de cutícula espessa; C. Cilindro central da região basal; D. Vista geral região mediana do hipocótilo, entre a região basal e apical; E. Detalhe da epiderme da região basal com presença de cutícula espessa; F. Cilindro central da região mediana. Legenda: c. cutícula; en. endoderme; ep. epiderme; h. hidrênquima; pf. 68

protofloema; px. protoxilema; Barras: A, B, E e F = 50 μ m; D = 200 μ m. 70

Figura 16. Vista frontal, em Microscópio Eletrônico de Varredura, da epiderme do hipocótilo da plântula de *Rhizoglyphis teres* com desenvolvimento em ágar 30 dias após a inoculação. A. Aspecto geral da superfície epidérmica; B. Detalhe dos estômatos no mesmo nível da epiderme; C. Estômatos do tipo paracítico; Barras: A = 50 μ m; B e C = 10 μ m. 71

Figura 17. Secções transversais, em microscópio óptico, do hipocótilo da plântula de *Rhizoglyphis teres* com desenvolvimento em ágar 60 dias após a inoculação. A. Vista geral região basal; B. Vista geral região mediana; C. Vista geral região apical; D. Detalhe da epiderme com presença de cutícula espessa; H e I. Epiderme evidenciando estômatos no mesmo nível das demais células epidérmicas; G. Detalhe do cilindro central da região basal; H. Detalhe do cilindro central da região mediana; I. Detalhe do cilindro central da região apical. Legenda: c. cutícula; e. estômato; em. endoderme; ep. epiderme; pf. protofloema; px. protoxilema; Barras: A = 30 μ m; B, C = 300 μ m; D e E = 50 μ m; F, G, H e I = 100 μ m. 72

Figura 18. Vista frontal, em microscopia eletrônica de varredura, da epiderme do hipocótilo da plântula de *Rhizoglyphis teres* com desenvolvimento em ágar aos 60 dias após a inoculação. Barra: 20 μ m. 74

Figura 19. Secções transversais, em microscópio óptico, do hipocótilo da plântula de *Lepismium cruciforme* com desenvolvimento em ágar, aos 30 dias após a inoculação. A. Vista geral em direção a região basal; B. Cutícula espessa; C. Cilindro central na região basal; D. Vista geral região mediana do hipocótilo; E. Estômato no mesmo nível da epiderme; F. Cilindro central da região mediana e córtex. Legenda: c. cutícula; e. estômato; en. endoderme; ep. epiderme; h. hidrênium; pf. protofloema; px. protoxilema; Barras: A e D = 300 μ m; B, C e F = 100 μ m; E = 50 μ m. 75

Figura 20. Vista frontal da epiderme do hipocótilo de *Lepismium cruciforme* com desenvolvimento em ágar 30 dias após a inoculação, em Microscópio Eletrônico de Varredura. A. Células da epiderme retangulares e filiformes com presença de ceras; B. Disposição dos estômatos na epiderme; C. Estômatos do tipo paracítico; Barras: A e B = 50 μ m; C = 20 μ m. 76

Figura 21. Secções transversais do hipocótilo da plântula de *Lepismium cruciforme* 60 dias de desenvolvimento em ágar. A. Vista geral região mediana; B. Detalhe da epiderme e cutícula; C. Vista geral região apical; D. Cilindro central reduzido e córtex da região mediana. Legenda: c. cutícula; e. epiderme; cc. cilindro central; h. hidrênquima; Barras: A e C = 300 µm; B e D = 50 µm. 77

Figura 22. Vista frontal da epiderme do hipocótilo da plântula de *Lepismium cruciforme* com 60 dias de desenvolvimento em ágar, em Microscópio Eletrônico de Varredura. Distribuição dos estômatos no mesmo nível da epiderme. Barra = 10 µm; 78

Figura 23. Aspectos morfológicos de espécies de Cactaceae. A. *Rhipsalis teres*, planta adulta em seu hábitat natural. B. Detalhe de caule e frutos de *R. teres*. C. *Lepismium cruciforme*, planta adulta em seu hábitat natural . D. Detalhe de caule e frutos de *L. cruciforme* . Barras: B = 5 cm e C = 1,5 cm; 81

Figura 24. Secções transversais do caule de *Rhipsalis teres*. A. Forma cilíndrica do caule; B. Parte do cilindro vascular e córtex; C. Detalhe da epiderme com presença de estômato e hidrênquima com presença de drusas; D. Secção paradérmica evidenciando estômatos cicloclíticos; E. Vista frontal da epiderme do caule de *Rhipsalis teres*, em Microscópio Eletrônico de Varredura. Legenda: c. cutícula; e. estômato; ep. epiderme; f. fibras; fl. floema; h. hidrênquima; me. medula; xl. xilema; setas. feixes corticais; * (asterisco). drusas. Barras: A = 300 µm; Barra B, C e D = 100 µm e Barra E = 50 µm. 82

Figura 25. A-D. Secções transversais do caule de *Lepismium cruciforme*, em microscópio óptico. A. Aspecto geral do caule; B. Detalhe dos tecidos periféricos; C. Detalhe da epiderme com presença de estômato no mesmo nível da epiderme; D. Parte do cilindro vascular e córtex; E. Secção paradérmica, em microscópio óptico, evidenciando estômatos cicloclíticos. F. Vista frontal da superfície do caule, em Microscópio Eletrônico de Varredura, com ceras epicuticulares circundando estômato. Legenda: c. cutícula; e. estômato; ep. epiderme; f. fibras; fl. floema; h. hidrênquima; me. medula; xl. xilema; setas. Fibras; * (asterisco). estruturas secretoras de mucilagem; Barras: A = 300 µm; B, C, D e E = 100 µm e Barra F = 20 µm. 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dimensões e massa fresca (MF) de sementes de Cactaceae epífíticas.	56
Tabela 2. Análises do crescimento e desenvolvimento de plântulas cultivadas em água de espécies de Cactaceae epífíticas 60 dias após as sementes serem colocadas para germinar, , em câmara de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade do ar de $\cong 60\%$, com fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro, luz branca fria fluorescente, com intensidade de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$: medidas do Comprimento da Parte Área (CPA), Comprimento da Raiz (CR) e Número de Raízes (NR); produção de biomassa em massa fresca total (MFT), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (mg) (MFR); Concentração de Clorofila a, b e total e Carotenóides (μg do pigmento/mg de Massa Fresca).	61

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	23
1. FAMÍLIA CACTACEAE	25
1.1 IMPORTÂNCIA DAS CACTACEAE	25
1.2. EPIFITISMO E AS CACTÁCEAS.....	27
1.3. DISTRIBUIÇÃO DAS CACTACEAE EPIFÍTICAS.....	29
1.4. MORFOANATOMIA DAS CACTACEAE.....	31
1.5.MORFOLOGIA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE CACTACEAE.....	32
1.6. ANATOMIA DE CAULES DE CACTACEAE.....	33
1.7. MORFOANATOMIA DE PLÂNTULAS	38
1.8. MORFOLOGIA DOS FRUTOS E SEMENTES.....	42
1.9. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CACTACEAE ...	44
1.10. GÊNEROS <i>LEPISMIUM PFEIFFER</i> E <i>RHIPSALIS GAERTNER</i>	47
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1. MATERIAL VEGETAL.....	49
2.1.1. Viabilidade das sementes.....	52
2.1.2. Germinação das sementes.....	52
2.2.CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DAS PLÂNTULAS.....	53
2.3. ANÁLISES MORFOANATÔMICAS.....	54
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
3.1. SEMENTES	56
3.1.1. Viabilidade das sementes.....	57
3.2. GERMINAÇÃO.....	59
3.3.ANÁLISES DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS GERMINADAS EM ÁGUA	60
3.4.ANÁLISES DE DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS EM ÁGAR	67
3.5. COMPARAÇÃO ENTRE PLÂNTULAS CULTIVADAS EM ÁGUA E EM ÁGAR.....	78

3.6. MORFOANATOMIA DE CAULE DE PLANTAS ADULTAS DE <i>RHIPSALIS TERES</i> E <i>LEPISMIUM CRUCIFORME</i>	78
3.7. MORFOANATOMIA COMPARADA DE HIPOCÓTILO E CAULES ADULTOS DE <i>R. TERES</i> E <i>L. CRUCIFORME</i> .	84
CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
REFERÊNCIAS	89

INTRODUÇÃO

Cactos estão presentes em uma variedade de habitats com uma ampla gama de formas (Anderson 2001). As Cactaceae adaptadas ao epifitismo são encontradas na Mata Atlântica brasileira e destacam-se especialmente na região litoral, onde essas espécies são frequentes, como é o caso de *Lepismium* e *Rhipsalis* (Calvente 2010, Zappi *et al.* 2011). As espécies de Cactaceae epífitas que ocupam as florestas tropicais apresentam adaptações xéricas dos típicos cactos que ocorrerem em desertos.

Essas espécies apresentam considerável importância na floresta tropical, especialmente atraindo dispersores e auxiliando na manutenção da biodiversidade, mas possuem valor comercial como plantas ornamentais. Geralmente, a coleta predatória e indiscriminada para o comércio de colecionadores, e também a degradação do ambiente através das atividades humanas, têm colocado muitas populações de cactos em perigo (Anderson 2001, Nobel 2002).

Apesar da importância ecológica e econômica (Nunes 2011), os principais estudos de Cactaceae estão relacionados à distribuição, taxonomia e morfologia de Cactaceae terrestres. São escassas as informações sobre germinação, desenvolvimento e anatomia, principalmente para as Cactaceae epífitas, o que pode ajudar na conservação e manutenção genética destas espécies. Como o comércio ornamental é intenso das Cactaceae epifíticas (Barthlott & Hunt 2000), como é o caso das espécies epifíticas *Rhipsalis neves-armondii* K. Schum., *R. teres* (Vell.) e *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq., estudos morfoanatomicos das fases juvenil e adulta destas espécies podem auxiliar na produção e no estabelecimento de mudas em determinado ambiente.

A obtenção de plântulas de Cactáceas pode ser feita por germinação de sementes, por propagação vegetativa e pelo cultivo de tecidos *in vitro* (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yane 2000). A germinação através do cultivo *in vitro* é considerada uma boa alternativa para a produção de mudas tanto para os viveiristas e pecuaristas quanto para projetos que visem à conservação das espécies de Cactaceae epífitas (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yane 2000, Zaidan & Barbedo 2004). Esta técnica é utilizada sob condições controladas, para que o estabelecimento de determinada espécie, tenha a composição ideal do meio de cultura e as condições ambientais preliminarmente requeridos como temperatura, substrato, luminosidade e disponibilidade de água (Godínez-Álvarez *et al.* 2003, Hoppe *et al.* 2004). No entanto, as

técnicas conhecidas de germinação *in vitro* de Cactaceae epífitas, tem obtido baixo rendimento na produção de plântulas, provavelmente pelo pouco conhecimento sobre os requisitos germinativos de sementes de cactos e sobre a sua viabilidade e longevidade.

Este trabalho foi motivado pelo fato de o conhecimento sobre Cactáceas epífitas da Mata Atlântica ser escasso, havendo uma ênfase nos estudos de gêneros e espécies terrestres ocorrentes principalmente em áreas de deserto. O elevado potencial para o mercado ornamental exige intensificação nas pesquisas de multiplicação, para que as espécies não entrem em risco de extinção.

Estudos sobre o cultivo de plântulas através da germinação de sementes em meios de cultivo torna-se um recurso importante para a produção de mudas de qualidade. Informações sobre a morfoanatomia de plântulas e anatomia de caules adultos também têm grande importância para o melhoramento e otimização dos sistemas de produção.

Este estudo teve por finalidade promover a germinação e desenvolvimento *in vitro* de três espécies de Cactaceae epífitas: *Rhipsalis neves-armondii*, *R. teres* e *Lepismium cruciforme*, submetidas a distintos meios de cultivo (em água e em ágar). O comportamento germinativo das sementes e a análise do crescimento e desenvolvimento das plântulas foi realizada até 60 dias após serem colocadas para germinar quanto aos teores de clorofilas e carotenóides. Também foram caracterizados e comparados os aspectos morfoanatomicos do hipocótilo e dos caules adultos das espécies *R. teres* e *L. cruciforme*.

1. FAMÍLIA CACTACEAE

Cactaceae Juss., conforme Judd *et al.* (2009), é uma família que sustenta seu posicionamento na Ordem Caryophyllales com base em numerosas características morfológicas e moleculares. A família conforme o Internacional Cactaceae Systematics Group (ICSG) está dividida em quatro subfamílias – Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae e Cactoideae – com 105 gêneros sendo a maioria pertencente à Cactoideae, que está dividida em nove tribos: Browningieae, Cactaeae, Calymmantheae, Cereaeae, Hylocereaeae, Notocactaeae, Pachycereaeae, Rhipsalideae e Trichocereaeae (Anderson 2001).

As Cactaceae estão representadas em muitos dos ecossistemas nas Américas, regiões onde as plantas desta família são endêmicas, com ocorrência de mais de 1300 espécies reconhecidas atualmente (Zappi *et al.* 2011).

Nos diversos ecossistemas do Brasil ocorrem aproximadamente 40 gêneros e 200 espécies (Souza & Lorenzi 2005). Zappi *et al.* (2011). Os autores mencionam que três das subfamílias encontram-se representadas no Brasil sendo elas Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae. Conforme ainda os autores, a maioria das espécies de Cactoideae está distribuída em duas tribos: Hylocereaeae, sendo os principais gêneros *Epiphyllum* Haw, *Hylocereus* (A. Breger) Britton & Rose e *Selenicereus* (A. Breger) Britton & Rose; e Rhipsalideae, com os gêneros *Hattoria* Britton & Rose, *Lepismium* Pfeiff., *Rhipsalis* Gaertn. e *Schlumbergera* Lem.

Cactaceae é uma das famílias de plantas mais populares, facilmente reconhecíveis e com morfologia mais distinta entre essas famílias (Almeida *et al.* 2009). A grande diversidade de hábitos de plantas é característica marcante das Cactaceae, mencionam Barthlott & Hunt (1993), as quais incluem desde pequenos arbustos até grandes árvores, assumindo as mais variadas formas de vida. Segundo os autores, indivíduos de Cactaceae podem estabelecer-se como epífitos, rupícolas, saxícolas ou geófitos, formando moitas cespitosas, decumbentes, escandentes, eretas e prostradas.

1.1 IMPORTÂNCIA DAS CACTACEAE

A família Cactaceae tem importância ecológica e econômica (Nunes 2011). Conforme o autor, várias espécies de Cactaceae apresentam interações mutualísticas com alguns animais. Espécies de

cactos possuem grande capacidade de retenção de água em seus tecidos, o que pode ser na maioria das vezes a única fonte de água para os animais em períodos de seca (Nunes 2011). As Cactáceas epífitas apresentam considerável importância ecológica na floresta tropical, especialmente por atrair dispersores e auxiliar na manutenção da biodiversidade (Erwin 2009, Zappi *et al.* 2011).

Muitas espécies são cultivadas, colecionadas e comercializadas em diversas partes do mundo, pois apresentam diversas utilidades, tais como ornamentais, forrageiras, medicinais, para a fabricação de cosméticos e como alimentícias (Barthlott & Hunt 1993, Nunes 2011).

Barthlott & Hunt (2000) relataram que todas as 58 espécies da tribo Rhipsalideae estão em cultivo pelo intenso comércio ornamental destas espécies. Conforme o autor, *Echinopsis chamaecereus* H. Friedrich & Glaetzle é um dos cactos ornamentais mais populares do mundo por apresentar flores vermelhas únicas e brilhantes. Existe atualmente, interesse no cultivo de todas as espécies de Cactaceae como ornamentais, principalmente devido às atividades humanas, tais como comércio por colecionadores, o que pode implicar na superexploração e a destruição de seus habitats, o têm colocado muitas populações de cactos em perigo (Anderson 2001, Nobel 2002).

Como as espécies de cactos são tolerantes ao calor, seca e/ou frio, e podem ter o mínimo de exigências nutricionais, sendo assim, o cultivo é uma alternativa para a produção como forragem na alimentação (caules, folhas e frutos) em regiões áridas (Padrón-Pereira *et al.* 2009). O cultivo dos cactos como fonte alimentar, pode ocorrer para a produção de frutos de Cactaceae como é o caso das espécies de cactos de parreira: *Hylocereus costaricensis* (Weber) Britton & Rose, *H. polyrhizus* (Weber) Britton & Rose, *H. undatus* (Haworth) Britton & Rose, *Selenicereus megalanthus* (Schun ex Vampel) Moran; cactos colunares *Cereus peruvianus* (L.) Miller, *Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum (Weber), *S. queretaroensis* Buxbaum e *S. stellatus* (Pfeiffier) Riccobobo; o cacto pera: *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill; e entre os cactos epifíticos, espécies de *Epiphyllum* têm frutos comestíveis (Nobel 2002, Padrón-Pereira *et al.* 2009). O Cultivo de cactos também ocorre como forragem para alimentar os animais durante a seca como fonte rentável de energia e água. Os cactos são fontes potenciais para alimento humano, principalmente as espécies do tipo arbusto do gênero *Opuntia* Mill. (Padrón-Pereira *et al.* (2009). Por exemplo, *Opuntia ficus-indica* é a espécie mais difundida e economicamente importante das culturas de Cactaceae (Nobel 2002). Esta espécie apresenta ter seu cultivo ideal em solos áridos, pois apresenta extrema eficiência na conversão da água em

biomassa (Griffith 2004). Padrón-Pereira *et al.* (2009) comentam que, espécies de *Opuntia* são importante fonte de fibras e acrescentam que várias formulações têm sido usados como farinha dos cladódios, na industrialização de pães, biscoitos, pastelaria, cremes e sobremesas.

Segundo a medicina popular, principalmente no México, muitas doenças podem ser combatidas e curadas com cladódios, frutas, ou flores (Nobel 2002). Apesar deste conhecimento popular, comenta o autor, apenas algumas aplicações medicinais tem base científica, tal como o seu efeito sobre a *diabetes mellitus*, os níveis de glicose no sangue, hiperlipidemia (excesso de lípidos no sangue - colesterol, triglicerídeos ou ambos) e obesidade. Entre os cactos epifíticos, espécies de *Epiphyllum* têm sido objeto de estudos principalmente na farmacologia e perfumaria, devido ao perfume de suas flores (Padrón-Pereira *et al.* 2009).

1.2. EPIFITISMO E AS CACTÁCEAS

Epífitas são aquelas plantas que passam a maior parte de sua vida sobre outras (forófitos) que lhe dão suporte (Benzing 1990). Podem ser classificadas, conforme o autor, em holoepipíticas ou hemiepipíticas primárias ou secundárias. As holoepipíticas são as epifíticas verdadeiras que nascem, vivem e morrem como epífitas. As hemiepipíticas primárias são aquelas que nascem epífitas, porém suas raízes atingem o solo ao longo da vida, e as hemiepipíticas secundárias germinam no solo, mas depois tornam-se dependentes do forófito à medida que a sua conexão com o solo se perde.

As plantas epífitas não obtêm o fornecimento de nutrientes ou água diretamente do hospedeiro (Kress 1986). De todas as classes ecológicas de plantas, as epífitas são as mais diretamente dependentes da precipitação pluviométrica para o seu abastecimento de água (Secorun & Souza 2011). Segundo os autores, o suprimento de nutrientes é derivado em parte de águas das chuvas que sempre contém algumas substâncias dissolvidas, outra parte é levada pelo vento por meio de partículas acumuladas, e ainda a partir da superfície da casca em decomposição de forófitos.

Klein (1979) comenta que as plantas epifíticas utilizam-se de pequenas partículas de matéria orgânica, poeira, folhas secas, que se acumulam sobre suas raízes. Essas plantas são providas, na maioria das vezes, de bulbos ou outras estruturas suculentas que armazenam grande quantidade de água, permitindo assim, resistir a eventuais secas, o que é comum em Orchidaceae, Begoniaceae, Cactaceae, Gesneriaceae e

Liliaceae. Também enfatiza Benzing (1990) que as epífitas apresentam vários mecanismos, alguns singulares para combater a seca e aquisição de íons essenciais. As Bromeliaceae tem as folhas dispostas espiraladamente em forma de roseta, com disposição imbricada das bainhas, frequentemente formando um “vaso” ou “tanque”, recipiente que permite o acúmulo de água e nutrientes (Benzing 2000).

A umidade e a luz são os dois fatores decisivos que determinam a localização das epífitas (Benzing 1990). A história de vida dos epífitos é influenciada por muitas forças seletivas, incluindo a distribuição e estabilidade do substrato e microclima, os quais são tão diversos no hábitat, quanto às condições encontradas para a vegetação terrestre (Calvente 2010). As epífitas, segundo Benzing (1990), habitam um extensivo biótopo, podendo ocorrer uma grande variedade em uma única árvore hospedeira das florestas úmidas, porém também são encontradas em locais mais secos, onde são menos comuns e em menor número de táxons, mas não necessariamente em menor abundância. O autor acrescenta que, as epífitas são responsáveis por grande parte da diversidade biótica das florestas neotropicais pluviais, sendo que estas espécies constituem 1/3 da flora vascular total da floresta (talvez acima de 50%). Em adição, ressalta que estas plantas também representam grande capacidade para acomodar a fauna (30.000.000 de espécies de insetos).

A rica flora epifítica de uma floresta tropical mostra uma gradação notável de ciófitas higrófilas para xerófilas, confinadas aos troncos inferiores das árvores, incluindo cactos (Secorun & Souza 2011). Bartke (2012) comenta a ligação entre as propriedades fisiológicas e de preferência de hábitat, em epífitas, como resultado da morte de árvores altas, a abertura do dossel e consequente aumento na radiação solar.

Nos grupos de cactos epifíticos, Calvente (2010) comenta que, além do epifitismo, é comum também encontrar algumas formas rupícolas. A autora ressalta que existe uma grande variedade de fatores ambientais interagindo, onde ocorre o epifitismo, e que isso pode levar a uma estratificação do ambiente, pois algumas espécies são exclusivas em áreas superiores do dossel, enquanto outras ocorrem no sub-bosque.

Todas as Cactaceae epífitas pertencem à subfamília Cactoideae e habitam regiões úmidas (Barthlott 1983; Hunt *et al.* 2006). As Cactaceae estão distribuídas principalmente em duas tribos distintas, Hylocereeae que inclui muitas hemiepífitas secundárias e Rhipsalideae com espécies principalmente de holoepífitas (Barthlott 1983; Wallace & Gibson 2002).

Os mecanismos envolvidos na transição dos cactos do hábitat terrestre para o alto dos forófitos são ainda desconhecidos, porém alguns estudos apontam alterações morfológicas que poderiam estar relacionadas com este fenômeno (Calvente 2010). Provavelmente, segundo a autora, os cactos epífitos evoluíram de cactos colunares desenvolvendo raízes adventícias, caules em forma de folhas aumentando a razão entre superfície e volume, e caules com costelas mais estreitas e menor capacidade de armazenamento de água; perda na formação visível de madeira e colênquima, que está diretamente associada à manutenção e suporte da posição ereta; redução ou perda de espinhos que podem ter uma reação bloqueadora dos raios solares impedindo que eles atinjam os tecidos fotossintetizantes. Em adição, aponta que essas são as características observadas nos cactos epífitos, podendo variar entre as espécies.

1.3. DISTRIBUIÇÃO DAS CACTACEAE EPIFÍTICAS

Representantes de Cactaceae ocorrem no Novo Mundo, mas o cacto epífítico *Rhipsalis baccifera* (J. M. Muell.) Stearn, ocorre também na África tropical, Madagascar, nas Ilhas do Oceano Índico e no Sri Lanka, tendo provavelmente sido dispersado para o Novo Mundo e em outras áreas através dos pássaros (Barthlott & Hunt 1993, Anderson 2001). A distribuição das Cactaceae nas Américas estende-se do Canadá até o extremo sul da América do Sul e podendo ser encontradas em habitats que variam de desertos extremamente secos às exuberantes florestas tropicais (Anderson 2001).

Existem três principais centros de diversidade de Cactaceae (Barthlott & Hunt 1993). O primeiro centro, localizado no hemisfério norte, fica no México e no sudoeste árido dos Estados Unidos, que apresentam as tribos Cactaceae e Pachycereeae (Anderson 2001). Os outros dois centros de diversidade estão localizados na América do Sul. Um ocupa as zonas áridas e semi-áridas do sudoeste dos Andes, incluindo partes do Peru, Bolívia, Chile e Argentina representadas pelas tribos Browningieae, Notocactaceae e Trichocereeae. O outro é no Nordeste do Brasil, incluindo a vegetação seca da caatinga e área rochosa de campo rupestre, vegetação montanhosa, sendo a tribo Cereeae a melhor representada.

Considerando a distribuição das Cactaceae epífitas vasculares pelo mundo, dos 115 gêneros da família, 18 são epífitos (de 1500 espécies, 150 são epífitas) e possuem distribuição neotropical (Benzing 1990). São espécies, que segundo Calvente (2010), são adaptadas ao

epifitismo, em regiões mais úmidas, pertencem à subfamília Cactoideae e formam dois grupos naturais, distintos principalmente por sua morfologia reprodutiva: a tribo Hylocereeae, que inclui epífitos facultativos e hemiepífitos secundários distribuídos principalmente nos gêneros *Hylocereus*, *Selenicereus* e *Epiphyllum*, que apresentam centros de diversidade no sul do México e América Central; e a tribo Rhipsalidae, que contém quatro gêneros de plantas holoepífitas que são *Hatiora*, *Rhipsalis*, *Schlumbergera* e *Lepismium*.

Cactos epífitos tropicais têm dois centros de diversidade comenta Anderson (2001). Conforme o autor, o primeiro é a Mata Atlântica do sudeste do Brasil e da Bolívia, com grande diversidade de Rhipsalidae e o segundo centro é o das florestas da América Central, com a sua característica Hylocereeae. As Cactaceae adaptadas ao epifitismo encontradas na Mata Atlântica brasileira destacam-se especialmente na região litoral, onde essas espécies são frequentes, como é o caso de *Lepismium* e *Rhipsalis* (Calvente 2010, Zappi *et al.* 2011).

Calvente (2010) comenta que *Rhipsalis* é o maior gênero da tribo Rhipsalidae, com 36 espécies distribuídas em cinco subgêneros: *Calamorphipalis* K.Schum. (três spp.), *Epallagonium* K.Schum. (sete spp.), *Erythrorhipsalis* A.Berger (oito spp.), *Phyllarthrorhipsalis* Buxb. (12 spp.), e *Rhipsalis* (seis spp.), e a maioria das espécies que pertencem a este gênero (83% ou 29 spp.) são endêmicas do Brasil, com várias espécies apresentando-se em faixas de distribuição muito restrita dentro do país.

Os estados de Santa Catarina e Paraná, comentam Zappi *et al.* (2011), possuem um número menor de espécies endêmicas e/ou ameaçadas de extinção de Cactaceae na Mata Atlântica, sendo que a maioria é de cactos epífitos ou terrícolas de distribuição relativamente ampla nos estados do Brasil.

Klein (1979) comenta que as espécies de Cactaceae são encontradas em todas as formações no estado de Santa Catarina, tanto terrestres, como rupícolas e a maioria, epífitas distribuídas nas formações vegetais de Santa Catarina – vegetação litorânea, floresta pluvial atlântica, floresta de neblina, floresta de araucárias ou pinhais (“mata preta”), campos e floresta subtropical de Bacia do Rio Uruguai (“mata branca”). Porém, segundo Zappi *et al.* (2011), as Cactaceae epífitas destacam-se na paisagem do estado de Santa Catarina, especialmente na região litoral na floresta úmida da Mata Atlântica, onde a ocorrência destas espécies são frequentes, como é o caso de *Rhipsalis*.

Santa Catarina, segundo Scheinvar & Klein (1985), é um Estado brasileiro que apresenta grande riqueza na sua flora e em particular Cactaceae. Uma das causas, conforme os autores é a presença de espécies neárticas e neotropicais. Em estudos realizados pelos autores, foram encontrados, no Estado de Santa Catarina, 18 gêneros de Cactáceas e um híbrido intergenérico, com 57 espécies e uma variedade, das quais 43 nativas e 15 são cultivadas.

Scheinvar & Klein (1985) referem a ocorrência dos gêneros de Cactaceae epífitos na Mata Atlântica, em Santa Catarina, sendo eles: *Hylocereus*, *Heliocereus* (A. Berger) Britton & Rose, *Epiphyllum*, *Lepismium*, *Hatiora*, *Rhipsalis*, e *Schlumbergera*.

1.4. MORFOANATOMIA DAS CACTACEAE

Cactos podem viver por muitos anos, em uma variedade de habitats, e tem uma ampla gama de formas, variando de simples a ramificados, de forma globosa a colunar, e alguns são essencialmente subterrâneos (Anderson 2001). Entre as Cactaceae, conforme comentam Zappi *et al.* (2011), encontramos desde suculentas, adaptadas à seca periódica e de longa duração, até plantas capazes de sobreviver em situações de extremo sombreamento.

Gibson e Nobel (1986) mencionam que plantas da família Cactaceae apresentam adaptações morfológicas a ambientes xéricos, para a realização da fotossíntese e o acúmulo de água. No entanto, em vez de ocorrerem em desertos como cactos típicos, ressaltam os autores, as espécies epífitas ocupam as florestas tropicais. Portanto, as adaptações xéricas dessas espécies, segundo os autores, podem ter favorecido a ocupação de habitats nos quais são submetidas a estresse hídrico, no interior das florestas, como epifitismo e estabelecimento em afloramento rochoso.

Em contraste com os cactos do deserto, onde há abundância de radiação solar, comenta Anderson (2001), as Cactaceae epífitas, muitas vezes têm luz limitada por causa da copa densa da floresta em que vivem, por isso, muitos cactos epífitos como *Lepismium houlettianum* (Lem.) Barthlott e *Rhipsalis pentaptera* A. Dietr. tem uma área da superfície aumentada e achatada, fina, ou caule angular. Os espinhos destas são muitas vezes reduzidos, não só por causa do menor número de herbívoros no dossel da floresta, mas também para evitar o sombreamento ao sensível tecido fotossintético de seu caule (Anderson 2001, Calvente 2010). A dispersão é limitada, conforme menciona Anderson (2001), ficando na dependência principalmente de aves do

dossel tropical, que são atraídas pelos frutos coloridos e carnudos, muito pegajosos.

1.5. MORFOLOGIA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE CACTACEAE

O caule das Cactaceae pode formar dois tipos de ramos vegetativos: ramos longos e fotossintetizantes e ramos curtos (aréolas). Os ramos longos são frequentemente segmentados e possuem uma grande variedade de formas, colunares, cilíndricos, globulares, tuberculados, alados, aplanados ou com costelas (Barthlott & Hunt 1993).

Hunt (1989, *apud* Anderson 2001) listou 13 formas de crescimento de cactos: (1) caule com aréolas feltro nas axilas das folhas persistentes; (2) caule cilíndrico, não segmentado; folhas efêmeras, tereto; (3) caules cilíndricos, não segmentados; folhas pequenas; espinhos ausentes; (4) caules achatados sem folhas, segmentados; espinhos ausentes; (5) caules com duas-alas, não segmentados; aréolas confinadas nas margens, sem folhas; (6) caules achatados, segmentados, sem folhas; (7) caules delgados, cilíndricos, sem folhas; (8), caules longos, cilíndricos, sem folhas; (9) caule esférico com cefálio, geralmente densamente lanoso ou piloso; (10) caules esféricos para abruptamente cilíndricos, aglomerados, sem folhas; (11) caule esférico achatado, cinco nervuras; (12) tronco tuberculado, semelhante a uma roseta, sem folhas e (13) caule com tubérculos e com papilas, sem folhas.

A aréola é a característica vegetativa mais marcante dos cactos, e pode ocorrer ao redor dos ramos, no topo de um tubérculo ou nas margens das costelas ou alas e é formada por gemas axilares ativas que podem produzir um aglomerado de espinhos e tricomas, incluindo as flores, frutos, folhas ou ramos (Calvente 2010). Nos cactos epífitos, conforme o autor é raro a presença de espinhos e a maioria dos táxons apresenta aréolas glabras ou com pequenas escamas e pelos escassos. Dessa forma, comenta a autora, os táxons que apresentam aréolas pilosas ou com presença de espinhos são facilmente identificados, pois se destacam dos demais.

As plantas epífitas da família Cactaceae têm a água como um fator limitante (Anderson 2001). Conforme o autor, estas plantas devem absorver rapidamente a água da chuva por suas raízes, uma vez que escorre do tronco ou ramo em que as plantas crescem e algumas regiões tropicais também têm períodos de seca prolongada. Dentre as

modificações fisiológicas registra-se a rápida absorção de água pelas raízes depois de uma seca prolongada e o metabolismo ácido das crassuláceas (MAC) (Scheinvar & Klein 1985). Os cactos epífitos apresentam um sistema de raízes, sendo uma raiz principal, originária do estágio de plântula, mas frequentemente exibem apenas o sistema de raízes adventícias (Calvente 2010).

1.6. ANATOMIA DE CAULES DE CACTACEAE

O caule é o órgão da planta que sustenta as folhas e as estruturas de reprodução e estabelece o contato entre esses órgãos e as raízes (Sajo & Castro 2006). Segundo autores, quando se observa uma secção transversal de caule, em locais onde os tecidos se encontram perfeitamente diferenciados, podem ser reconhecidas quatro regiões de fora para dentro: sistema de revestimento, córtex, sistema vascular e medula. Dettke & Milaneze-Gutierrez (2008) mencionam que, dentre as modificações anatômicas caulinares mais expressivas em relação as outras famílias de plantas, destaca-se a presença de cera epicuticular, cutícula espessa, estômatos localizados em depressões da epiderme (em algumas espécies), hipoderme colenquimática e o desenvolvimento de grandes proporções de tecido parenquimático com células mucilaginosas. Segundo Calvente (2010), o primórdio foliar de Cactaceae, em geral, não desenvolve a lâmina e o pecíolo, mas sim uma ampliação de base foliar, denominada podário. A autora menciona que quando bem desenvolvidos, os podários dão origem a estruturas intemescidas que, unidos em séries verticais, podem formar costelas. Um cacto pode produzir 5, 8, 13, 21, 34 ou 55 costelas (Série Fibonacci) sendo que, o número de costelas pode variar em uma mesma espécie de planta. Nos cactos epífitos podem ocorrer podários, ângulos e alas, os quais configuram características taxonômicas de gêneros, subgêneros e espécies (Calvente 2010).

O tecido de revestimento primário do caule nas Angiospermas Eudicotiledôneas é composto por uma camada de células, a epiderme (Mauseth 1998). Segundo o autor, em Cactaceae a epiderme é um tecido persistente de longa duração: enquanto o caule for verde ele ainda tem epiderme. Em Cactaceae, segundo Terrazas & Mauseth (2002), a epiderme geralmente apresenta uma camada unisseriada de células espessas quadradas ou retangulares em secção transversal. A maioria das espécies de cactos possui células epidérmicas com paredes finas e a parede periclinal externa celular plana ou convexa (Terrazas & Mauseth 2002, Loza-Cornejo & Terrazas 2003). A parede das células

epidérmicas do caule das plantas, expostas externamente para o meio ambiente é incrustada com cutina e às vezes também com ceras, que acumulam-se em uma camada denominada de cutícula (Mauseth 1998). Embora a cutícula seja comumente lisa na maioria das espécies de Cactaceae, uma cutícula irregular é compartilhada por algumas espécies como *Pachycereus* e *Peniocereus* (Terrazas & Arias 2003). Terrazas & Mauseth (2002) mencionam que as células epidérmicas de Cactaceae normalmente têm uma cutícula espessa quando comparada com outras dicotiledôneas. Conforme o autor, pode se depositar uma camada de cera epicuticular lisa ou consistir em partículas de diversos tamanhos e formas, tais como grânulos, flocos, ou filamentos agregados, e é responsável pela cor acinzentada ou azulada de certos caules de cactos (Gibson & Nobel 1986).

A epiderme caulinar contém estômatos e são as únicas células epidérmicas que sempre contêm cloroplastos (Alquini *et al.* 2006). Dickison (2000) diferencia oito tipos de estômatos nas plantas vasculares, de acordo com o formato e arranjo das células subsidiárias: anomocítico, anisocítico, paracítico, diacítico, tetracítico, actinocítico, ciclocítico e hexacítico. Os tipos estomáticos em Cactaceae foram estudados por Eggli (1984) que registrou estômatos do tipo paralelocítico para a maioria dos membros da subfamília Cactoideae, em folhas de Pereskioideae e em caules de Opuntioideae. Neste tipo de estômato, conforme o autor há dois pares de células subsidiárias paralelas às células guarda, em vez de um par, como no tipo paracítico. A maioria dos cactos apresenta estômatos no mesmo nível que as outras células da epiderme, mas algumas vezes estão localizados na parte inferior de uma depressão ou fenda epidérmica (Mauseth 2006). Explica o autor que, em algumas espécies de Cactaceae, a distribuição dos estômatos é restrita e controlada com precisão; em *Maihuenia* (Phil. ex F.A.C. Weber) Phil. ex K. Schum. e *Blossfeldia* Werderm., ocorrem estômatos no caule predominantemente nas depressões, onde estão localizadas gemas axilares e, em *Peniocereus* (A. Berger) Britton & Rose, os estômatos são restritos a depressões entre as costelas. Geralmente ocorre sob a epiderme em caules de Cactaceae uma hipoderme, e geralmente consiste em mais do que uma camada de células em suculentas de Cactoideae e Opuntioideae, mas está ausente em Pereskioideae (Terrazas & Mauseth 2002).

Como a epiderme caulinar não consegue acompanhar o crescimento em espessura do órgão por muito tempo, ela é substituída pela periderme que se forma a partir do felogênio (Sajo & Castro 2006). O felogênio consiste em felema e feloderme, ambos derivados de um

meristema secundário de camada única (Beck 2005). Conforme o autor, as células do felogênio são tabulares, radialmente finas, um pouco alongadas, e poligonais. Comenta ainda que o local da sua iniciação é altamente variável, mas é muitas vezes forma-se a partir de uma camada externa do parênquima cortical. No entanto, pode se formar profundamente dentro do córtex, ou mesmo do exterior do floema secundário (Mauseth 1998). A presença de periderme em Cactaceae, conforme Gibson & Nobel (1986), pode ocorrer durante uma determinada fase de vida da planta ou por algum tipo de injúria no caule. Segundo os autores, mesmo que este tecido desenvolva-se em grande parte do caule, nunca o recobre totalmente, permanecendo a epiderme como principal tecido de revestimento nos cactos.

Internamente à epiderme caulinar está o córtex, que em muitas plantas é bastante simples e homogêneo, composto por parênquima fotossintético e de preenchimento (Mauseth 1998). A camada mais externa do córtex é a exoderme e a camada mais interna é a endoderme, que no caule de muitas espécies não são distintas morfológicamente das demais camadas corticais (Sajo & Castro 2006). Às vezes, conforme os autores, camadas subepidérmicas diferenciam-se em colênquima ou esclerênquima, como tecidos de sustentação. O tecido subepidérmico nas Cactaceae tem recebido diferentes denominações, sendo em geral descrito como hipoderme colenquimatosa (Arruda *et al.* 2005). A hipoderme corresponde à região mais externa do córtex e, na maioria dos cactos, as camadas de células do córtex abaixo da hipoderme estão dispostas perpendicularmente a epiderme do caule e é chamado de córtex paliçádico, que é constituído por células do parênquima (Terrazas & Mauseth 2002). Os autores mencionam que o córtex paliçádico é verde e fotossintético chamado clorênquima, mas o teor de clorofila é progressivamente inferior e torna-se ausente para as camadas mais internas nas células corticais. Acrescentam ainda que a formação do córtex paliçádico nos caules de cactos é semelhante ao do parênquima paliçádico em folhas de dicotiledôneas.

Segundo Mauseth (1998), as células do córtex caulinar na maioria das plantas estão distribuídas de forma compacta e, em Cactaceae, podem apresentar células especializadas secretoras de látex, mucilagem ou resina. Em plantas com caules suculentos, o córtex é constituído por hidrênquima, como em muitas Cactaceae, células corticais que contém alta proporção de água que pode ser utilizada durante a seca prolongada (Terrazas & Mauseth 2002, Sajo & Castro 2006). Conforme Terrazas & Mauseth (2002), o hidrênquima das Cactaceae apresenta-se com um tipo especial de tecido que tem aparentemente paredes celulares elásticas,

não lignificadas e mais flexíveis do que aquelas células paliçádicas corticais, permitindo mudanças no volume celular devido ao aumento ou à redução de água, sem que ocorra a lise celular. Acrescentam ainda que a maior parte da água nos caules de cactos é no córtex interno, onde as células têm vacúolos grandes e podem perder quatro vezes mais água do que é perdida a partir das células pequenas do clorênquima. Com o crescimento em espessura do caule nas plantas, o parênquima cortical primário permanece por um período, se o felogênio for de origem superficial, mas é completamente eliminado, quando o felogênio se origina de camadas mais profundas do córtex (Sajo & Castro 2006). No entanto, explicam os autores, o parênquima cortical que está presente na estrutura primária de caules, geralmente, não é mais observado após o crescimento secundário.

Os tecidos do caule de cactos, segundo Terrazas & Mauseth (2002), geralmente contêm grandes quantidades de mucilagem que é um carboidrato complexo hidrofílico e afeta as relações hídricas. Mencionam os autores, que o conteúdo mucilagem e composição da mucilagem em uma célula variam de acordo com espécies e a época do ano. Explicam que para caules mais velhos ou durante grande seca, a mucilagem das células podem conter cristais de oxalato, que podem ser prismáticos (ângulos agudos), drusas (estrelas) e raramente aculeares (agulhas). Duas formas distintas de esclereídes idioblásticos (células lignificadas (mortas)) ocorrem nos caules de certos cactos colunares: no córtex externo ocorre uma forma de esclerênquima com células estreitas e alongadas e, no córtex interno e na medula, ocorrem células com forma globular ou subglobular (Gibson e Nobel 1986).

Nas dicotiledôneas, conforme Sajo & Castro (2006), o sistema vascular pode estar organizado na forma de cilindro oco ou de anel de feixes separados por parênquima e dispostos ao redor da medula. Os feixes vasculares são formados por xilema e floema primários, e em geral, o floema ocupa posição externa ao xilema, constituindo feixes vasculares colaterais (Beck 2005, Sajo & Castro 2006). Conforme autores, os elementos traqueais do xilema primário formam-se na região caulinar, na porção interna dos feixes vasculares próximo à medula, isto é, endarco; já na parte externa de cada feixe vascular, as células diferenciam-se em floema primário que, portanto, é exarco. Em angiospermas, o xilema primário é composto por elementos de vasos, fibras e parênquima (Beck 2005). Durante o desenvolvimento do sistema vascular primário, segundo o autor, tecidos não só diferenciam longitudinalmente, mas também transversalmente.

O tecido vascular, que está envolvido no movimento de substâncias em plantas, é altamente especializado em Cactaceae (Terrazas & Mauseth 2002). Conforme os autores, os principais e maiores feixes vasculares nos cactos ocorrem no estelo, que fica entre o córtex interno e a medula, o xilema que serve para mover a água, bem como nutrientes dissolvidos, e o floema, que distribui os produtos de fotossíntese e outras moléculas orgânicas (Terrazas & Mauseth 2002). Mencionam ainda que o xilema e floema primários desenvolvem-se nos cactos durante os estágios iniciais de crescimento, e, periodicamente, tecidos secundários desenvolvem-se posteriormente. O tecido vascular também ocorre no córtex (feixes corticais) e na medula (feixes medulares) em Cactaceae (Nobel 2002). Os feixes corticais em Cactaceae, estão ausentes em Pereskioideae e Opuntioideae, mas geralmente ocorrem em membros de Cactoideae por todo o córtex, mas não se estendem até a hipoderme (Mauseth 2006). Segundo o autor, os feixes corticais ocorrem em todas as direções do caule e mudam de direção com frequência. Os feixes corticais colaterais contêm xilema e floema primários e secundários (Mauseth 1993). Conforme autor, o floema secundário acumula-se em uma taxa maior do que o xilema secundário, que pode ou não aumentar com a idade do caule. Os feixes medulares que ocorrem nos cactos, são semelhantes em tamanho aos feixes corticais, e são iniciados perto do meristema apical, podendo apresentar xilema e floema secundários, porém ocorrem apenas na subfamília Cactioideae (Mauseth 1993, Terrazas & Mauseth 2002).

A estrutura secundária do caule é formada pela atividade do câmbio que origina os tecidos vasculares secundários (Sajo & Castro 2006). Segundo autores, o câmbio vascular é formado, em parte, pelo procâmbio, que permanece indiferenciado entre o xilema e o floema primários (câmbio fascicular), e, em parte, pelo periciclo, que volta a se dividir, dando origem ao câmbio interfascicular, que se conecta com as faixas de procâmbio. Comentam ainda os autores, quando o câmbio está completamente diferenciado, ele tem a forma de um cilindro, entre o xilema e o floema primários, e se estende através dos nós e dos entrenós. Segundo Beck (2005), quando o câmbio vascular entra em atividade, produz, por divisões periclinais, xilema secundário em direção ao interior do câmbio e floema secundário para o exterior; por meio de divisões anticlinais, o câmbio acompanha o crescimento em espessura do órgão. Segundo Terrazas & Mauseth (2002), todos os cactos são plantas lenhosas e desenvolvem um câmbio vascular, que produz xilema secundário e floema secundário, e todos produzem periderme a partir de um câmbio da casca. Segundo os autores, muitos cactos anões cujos

caules globosos nunca crescem mais do que 2 ou 3 cm de diâmetro, produzem apenas uma pequena quantidade de um lenho frágil que se decompõe rapidamente após o caule morrer, mas eles apresentam xilema secundário.

Internamente ao sistema vascular, na região central do caule encontra-se a medula, que é formada por tecido parenquimático (Sajo & Castro 2006). Em alguns caules, segundo autores, a parte central da medula é destruída durante o crescimento do órgão, formando os chamados caules fistulosos, como em algumas espécies escandentes. Uma de muitas diferenças de Cactaceae, em relação aos outras dicotiledôneas, é a presença de uma medula radialmente densa no centro do caule (Terrazas & Mauseth 2002). Os autores comentam que as células da medula das Cactaceae apresentam geralmente paredes finas, isodiamétricas vivas, que atuam como um reservatório de água muitas vezes contêm grãos de amido, podendo armazenar uma grande variedade de aleloquímicos. A medula de Cactaceae ocorre dentro do estelo e geralmente ocupa uma pequena fração do volume do caule, exceto para *Platyopuntias* (figo da Índia) (Nobel 2002). Nos eustelos, o sistema vascular é interrompido pela ocorrência de deslocamentos vasculares, que irão irrigar as folhas (traços foliares) e as gemas laterais (traços de gema) (Sajo & Castro 2006). O córtex e a medula são muitas vezes contínuos, comentam autores, embora o córtex possa ser delimitado internamente pela presença de uma camada endodérmica, pela ocorrência de um anel de feixes vasculares agrupados ou por um cilindro de células esclerificadas. Nos extensos caules delgados da subfamília Cactoideae, Cactaceae, a medula pode também conter feixes medulares, que facilitam o movimento radial da água (Mauseth 1998). O cilíndrico curto, globoso ou em forma de disco dos cactos nas subfamílias Cactaceae e Echinocereae, e tribos de Notocactaceae carecem de feixes medulares em suas medulas relativamente pequenas.

1.7. MORFOANATOMIA DE PLÂNTULAS

A primeira fase vegetativa de uma planta em Angiosperma, segundo Souza (2003), após a germinação da semente é chamada de plântula. Conforme o autor, o início da fase plântula é marcado pela protrusão da raiz primária e seu término é delimitado pela completa expansão do eófilo. A plântula tem um valor enorme no estudo da dinâmica de populações, em silvicultura, em armazenamento de sementes, em arborização e na conservação e regeneração da floresta (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000, Souza 2003, Secorun &

Souza 2011). As plântulas podem ser classificadas, segundo Souza *et al.* 2009, com base na posição dos cotilédones, que podem permanecer no interior do solo (hipogeia) ou situar-se acima da superfície do solo (epigeia). Conforme autores, as plântulas também podem ser fânerocotiledonares que liberam seus cotilédones do tegumento seminal, ou criptocotiledonares, que mantêm os cotilédones envoltos pelo tegumento seminal e/ou pericarpo. Acrescentam ainda que, no início da fase da plântula das espécies das Magnoliopsida, desenvolvem-se a raiz primária e o hypocótilo, a partir do eixo hypocótilo-radicular do embrião da semente. Souza *et al.* (2009) descrevem a morfologia da plântula. O sistema de raízes é comumente axial e aclorofilado, e pode apresentar pelos radiculares; a raiz primária pode sofrer ramificações, mas também pode não desenvolver-se. A região do colo, limite entre a raiz e o hypocótilo, pode apresentar-se com diferença de coloração ou como uma pequena depressão ou estrangulamento. O hypocótilo que é a região da plântula localizada entre o colo, nem sempre visível, e o nó cotiledonar; pode ter coloração variável, apresentando-se verde, vermelho, bege, rosa ou marrom; pode ser cilíndrico, levemente achatado ou pode apresentar contorno quadrangular; sua superfície pode ser lisa, áspera, rugosa, estriada ou sulcada. O hypocótilo é mais espesso que a raiz e pode ter dimensão variável, desde muito reduzido a até longo com alguns centímetros. A presença de dois cotilédones nas Magnoliopsida é regra, mas existem plântulas que podem apresentar vários cotilédones, apenas um ou ainda, cotilédones fusionados. Existem também uma grande variedade de formas e tamanhos de cotilédones, como lineares, cordados, peltados, reniformes, obovados. O epicótilo é considerado o primeiro entrenó típico da plântula, localizado entre o nó cotiledonar e o nó do primeiro eofilo. O epicótilo pode ser cilíndrico, levemente achatado ou de contorno quadrangular, liso ou rugoso, de cor verde, rosa, creme, castanha ou marrom, com variados apêndices epidérmicos. Ao longo do epicótilo podem ocorrer catafilos, que são folhas reduzidas, de formato e coloração variáveis, ou escamiformes, podendo apresentar formato e consistência equivalentes aos das folhas subsequentes, sésseis ou pecioladas, as quais podem permanecer durante toda a fase de plântula e abscisar no estágio seguinte. Segundo Almeida *et al.* (2009), a morfologia de plântulas tem papel relevante no estudo da vegetação, como compreender o ciclo de vida, os processos de germinação e o crescimento de suas espécies, seja para obtenção de mudas, ou mesmo para classificar plântulas com finalidade taxonômica.

As plântulas de Cactaceae possuem grande variabilidade, conforme Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000), principalmente no

tamanho dos cotilédones e hipocótilo. A plântula típica de espécies de Cactaceae, observam os autores, possui hipocótilo carnoso e frequentemente apresenta dois cotilédones pequenos e radícula delgada, entretanto este modelo parece não ser representado na maior parte das espécies epífitas. Em *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw., espécie de Cactaceae epífita, os cotilédones são mais pronunciados que em *Pilosocereus fulvilanatus* e *Melocactus bahiensis* espécies de hábito terrícola, onde os cotilédones são diminutos e suculentos, (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000). Conforme os autores, nas primeiras fases, as plântulas de algumas espécies apresentam folhas, as quais podem não ocorrer nos estádios seguintes, como ocorre em espécies de Opuntioideae. Os autores mencionam que em representantes da subfamília Cactoideae não foram identificadas folhas nas diferentes fases do desenvolvimento, mas em Perekioideae, as folhas persistem desde a fase de plântula até a fase adulta. Estudos morfológicos feitos por Almeida *et al.* (2009) e Secorun & Souza (2011), estudando espécies epífitas de *Rhipsalis cereuscula* Haw, *R. floccosa* subsp. *Hohenauensis* (Ritter) Barthlott & N. P. Taylor, *Epiphyllum phyllanthus* e *Lepismium cruciforme*, registraram, após a germinação, a presença de pelos longos, os quais podem auxiliar a fixação inicial das plântulas ao substrato, principalmente como estruturas de ancoragem no estabelecimento de plântulas em troncos de árvores. Hipocótilo, cotilédones e epicótilo são estruturalmente similares nas espécies estudadas de *Rhipsalis cereuscula*, *R. floccosa* subsp. *hohenauensis* e *Lepismium cruciforme*, apresentando as características anatômicas básicas de Cactaceae (Barthlott & Hunt 1993, Secorun & Souza 2011).

Os estudos de plântulas, segundo Almeida *et al.* (2009), em sua maioria são morfológicos e não incluem análise anatômica, o que dificulta a compreensão do processo de estabelecimento de plântulas em um determinado ambiente. Souza (2009), apresenta estudos sobre a anatomia da raiz, hipocótilo, epicótilo, cotilédones, eófilos e metafilos de várias plântulas de dicotiledôneas, como as de Bignoniaceae, Fabaceae (Leguminosae) e Amarantaceae. Segundo o autor, a raiz primária de plântulas apresenta geralmente epiderme unisseriada e pode exibir pelos radiculares, frequentemente unicelulares. Acrescenta o autor que o córtex da raiz primária está organizado com exoderme, tecido parenquimático e endoderme. Menciona ainda que o cilindro central da raiz primária possui periciclo parenquimático, xilema e floema primários alternados, sendo que o floema primário começa a diferenciação celular antes do xilema primário. O cilindro vascular de raízes primárias de plântulas é comumente diarca ou triarca. Souza &

Oliveira (2004) referem que o crescimento secundário vascular é pronunciado nas raízes, o aparecimento da periderme é superficial e lento, e o felogênio surge nas células corticais junto à exoderme. Conforme Souza (2009), o hipocótilo é a zona de transição raiz-caule, região em que ocorre a mudança de uma estrutura tipicamente radicular para outra, de natureza caulinar, e isto ocorre dentro do sistema que conecta o(s) cotilédono(s) à raiz. Com relação aos traços foliares dos cotilédones, o xilema é reorientado da condição exarca típica da raiz para a endarca; e a disposição de xilema e floema é alterada de alternada para colateral. Conforme o autor, o córtex do hipocótilo é comumente parenquimático e colenquimático, e ele pode apresentar cloroplastídios e estruturas secretoras. Menciona ainda que o cilindro central do hipocótilo é constituído de periciclo, geralmente unisseriado e parenquimático, de tecidos vasculares primários e de medula parenquimática. Os tecidos vasculares primários, em especial o xilema, podem ter organização bem diferente em hipocótilos que apresentam estrutura de transição em parte ou em toda sua extensão, do verificado em raiz e epicótilo (Souza 2009). Em quase toda a extensão do hipocótilo, os elementos traqueais do xilema primário se dispõem sob forma de anel ao redor da medula parenquimática (Souza & Oliveira 2004). Na região do nó cotiledonar, segundo Souza (2009), os elementos xilemáticos primários do hipocótilo sofrem um rearranjo, formando com o floema primário os traços cotiledonares. Segundo o autor, nesta região na porção intercotiledonar, surgem feixes vasculares endarcos (traços epicotiledonares), que são responsáveis pela vascularização do epicótilo e que se acham conectados com os tecidos condutores do hipocótilo. Os estudos da região de transição, menciona o autor, baseiam-se na diferenciação do xilema primário, pois a diferenciação do floema primário é praticamente desconhecido tendo em vista a dificuldade de identificar os elementos crivados. Conforme ainda o autor, o epicótilo na plântula apresenta estrutura caulinar típica, na qual o xilema primário tem condição endarca. Em estrutura primária, o epicótilo pode apresentar epiderme com tricomas, emergências e complexos estomáticos, córtex colenquimático e parenquimático, cilindro central com feixes vasculares colaterais ou bicolaterais, e medula parenquimática; o epicótilo pode desenvolver crescimento secundário ainda na fase de plântula (Souza 2009). O parênquima cotiledonar pode apresentar reservas de carboidratos, lipídica e/ou proteica (Souza & Oliveira 2004).

Em estudos realizados em cactos, a região de transição inicia-se na região do colo e estende-se por todo o hipocótilo e é relativamente

simples e encontrado em dicotiledôneas (Souza 2009, Secorun & Souza 2011). No colo de *Epiphyllum phyllantus*, Cactaceae, ocorrem cordões de floema, que se ramificam em mais dois cordões floemáticos na base do hipocótilo (Souza 2009). Os elementos traqueais do xilema primário, conforme autor, se distribuem sob a forma de anel ao redor da medula parenquimática, desde a região proximal da raiz, e conservam esta disposição no colo na base do hipocótilo, com dois polos protoxilemáticos. Segundo o autor, esta disposição dos tecidos vasculares persiste no restante do hipocótilo, exceto pelo floema, que forma oito ou nove cordões distribuídos na periferia do cilindro central. Menciona ainda que, nas proximidades do nó cotiledonar são distintos dois traços cotiledonares consistindo de dois cordões floemáticos e de elementos do protoxilema/metaxilema, e traços epicotiledonares, cada qual com seu cordão de floema e elementos traqueais do xilema, dirigem-se ao epicótilo (filocládio). Segundo Mauseth (1999), tanto o hipocótilo quanto o epicótilo, apresentam características ocorrentes em caule de Cactaceae como: epiderme unisseriada com células de paredes finas, coberta por uma cutícula hidrofóbica espessa; hipoderme colenquimatosa com muitas drusas; tecido parenquimático especializado na fotossíntese e armazenamento de água; e feixes corticais.

1.8. MORFOLOGIA DOS FRUTOS E SEMENTES

As Cactaceae produzem uma variedade de tipos de frutos que, conforme Anderson (2001), apresentam-se de suculentos a secos, de nus a escamosos e de indeiscentes a deiscentes. Todos os frutos produzem, menciona o autor, numerosas sementes que são geralmente incorporadas em uma polpa carnuda. As cores dos frutos também variam segundo o autor, de quase preto ao azul brilhante, branco, amarelo, verde e vermelho.

O fruto dos cactos consiste na porção inferior do tubo floral, bem como o ovário dentro dele (Rosa & Souza 2003). Assim, conforme autores, o fruto das Cactaceae é, na verdade um falso fruto no sentido estrito botânico. Restos florais também podem persistir no fruto, como a formação da casca que é constituída pela camada interior e exterior da parede do ovário que é derivado do pericarpelo (Gallegos-Vázquez *et al.* 2012). A maioria dos frutos de cactos apresentam escamas, ou até mesmo os espinhos em seu exterior, embora alguns gêneros, como *Ariocarpus* Scheidw., *Lophophora* J.M. Coult., *Mammillaria* Haw. e *Melocactus* Boehm., apresentem frutos nus. Em alguns casos, as aréolas

dos frutos, produzem mais flores e frutos, resultando em cadeias longas de frutos como em (Engelm.) F.M. Knuth (Baskin & Baskin 2001).

Os frutos maduros de Cactaceae, segundo Souza (2003), são geralmente constituídos morfologicamente por hipanto, pericarpo e sementes envoltas pelo material gelatinoso. O pericarpo maduro, conforme o autor, é formado de epicarpo, cuticularizado, glabro e não estomatífero e o mesocarpo é de natureza colenquimática e parenquimática. Na fase de maturidade do fruto, parte do mesocarpo interno, todo o endocarpo e a columela se desintegram, formando uma massa gelatinosa que envolve completamente as sementes (Rosa & Souza 2003).

Sementes são seres vivos completos, somáticos, assim como as plântulas que elas geram, ou como as próprias plantas adultas (Hoppe *et al.* 2004). Assim, segundo autores, o embrião da semente possui alguns tecidos indiferenciados e outros diferenciados que a tornam nutritiva (cotilédones) e resistente (tegumento). Em dicotiledôneas foram descritas dez tipos de sementes com base na morfologia do embrião, quantidade relativa de endosperma, e posição do embrião em relação ao endosperma (Baskin & Baskin 2001). Sementes de Cactaceae estão agrupadas na categoria periférica (grandes sementes com grande embrião) (Martin 1946).

Sementes de Cactaceae apresentam diversidade de tamanho, forma, cor e revestimento ou padrão testa conforme Anderson (2001). O embrião dentro da semente explica o autor, é normalmente curvo, e o tecido nutritivo é o perisperma, derivado do tecido nucelar diplóide do ovário, em vez de ser a partir de endosperma triplóide, que é tecido derivado da fertilização (um núcleo de gameta masculino e dois núcleos polares da célula média do gametófito feminino).

O hilo, ou ponto de ligação do funículo (a ligação do óvulo com a parede do ovário), é geralmente proeminente na maioria dos membros da subfamília Cactoideae e é fundida com a região micropilar (a abertura do óvulo) num complexo distinto chamado de região hilo-micropilar (Barthlott & Hunt 1993). Algumas sementes de cactos, mencionam os autores, são ariladas ou estrofioladas, ou seja, com envoltório na região do hilo-micropilar. Em Cactaceae, as formas do opérculo e a liberação de parte caudal do embrião, na região hilo-micropilar da semente, facilitam a germinação por rupturas dorsais ou deterioração do revestimento de semente (Bregman & Bouman 1983). Vários gêneros de epífitas da tribo Rhipsalideae, conforme os autores, são operculadas.

Os cotilédones são reduzidos em tamanho em comparação com os cotilédones de muitos outros embriões de plantas (Anderson 2001). Em numerosos membros do Cactaceae, o hipocótilo alargado dos embriões são fontes de reservas, o que compensa, em parte, os característicos cotilédones pequenos e endosperma escasso (Goebel 1905, *apud* Almeida *et al.* 2013).

1.9. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CACTACEAE

Após a dispersão das sementes, se estas encontrarem locais adequados, como temperatura, condições específicas de solos, luminosidade e disponibilidade de água, iniciarão o processo de germinação e o desenvolvimento da plântula (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000, Godínez-Álvarez *et al.* 2003).

A temperatura é um dos fatores ambientais que influenciam a germinação. A germinação de cada espécie depende da temperatura e, em geral, é ampla e ocorre dentro de limites definidos (mínimo, ótimo e máximo), determinando sua distribuição geográfica (Hoppe *et al.* 2004, Marcos Filho 2005). A temperatura ótima de germinação de espécies tropicais encontra-se entre 15° C e 30°C, a máxima entre 35°C e 40°C e a mínima pode chegar 0°C (Hoppe *et al.* 2004). Segundo os autores, a alternância de temperatura corresponde, provavelmente, a uma adaptação às flutuações naturais do ambiente. As temperaturas ótimas para germinação de sementes de Cactaceae estão em torno de 25°C e para a maioria das espécies, é necessário luz para que ocorra a germinação (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000, Lone *et al.* 2009).

Segundo Mauseth (1998), os vários tipos de solos são importantes para as plantas não só no fornecimento de minerais e abrigo de bactérias fixadoras de nitrogênio, mas também na retenção de água e no fornecimento de ar para as raízes, e atuam na estabilidade das plantas à ação dos ventos. A necessidade de oxigênio para a germinação varia de espécie para espécie, mas as plantas lenhosas que crescem em terra firme necessitam de solo bem aerado, com boa disponibilidade de oxigênio, e muitas plantas que suportam períodos de submersão só germinam durante períodos mais secos (Hoppe *et al.* 2004). Os aspectos críticos do solo são: a natureza química que está diretamente relacionada com os elementos minerais presentes; sua natureza física, que se reflete na porosidade, textura e densidade; e sua microflora e microfauna - pequenos animais, fungos, protistas e bactérias que vivem, respiram, e recolhem nutrição do solo. (Mauseth 1998, Godínez-Álvarez *et al.* 2003). Algumas espécies de Cactaceae, segundo Godínez-Álvarez *et al.*

(2003), necessitam de condições edáficas específicas e somente são encontradas em tipos particulares de solos.

Existe grande variação na resposta das sementes à luminosidade; a germinação das sementes de algumas espécies é inibida pela luz, enquanto que, em outras, a germinação é estimulada; algumas germinam com extensa exposição à luz, outras com breve exposição e outras se apresentam indiferentes à luminosidade; algumas germinam somente no escuro, outras necessitam de um longo ou curto fotoperíodo diário; a germinação está relacionada também com a qualidade de luz que durante a maturação da semente, é um importante fator controlador da germinação (Hoppe *et al.* 2004). O fotoblasticismo positivo, a exigência de luz para provocar a interrupção da quiescência de sementes, proporciona vantagens competitivas de muitas espécies de plantas e pode ajudar a determinar a estrutura de uma comunidade (De la Barrera & Nobel 2002). Os autores citam exemplo: as sementes podem responder às mudanças na composição espectral ou a quantidade de luz resultante de perturbações no dossel ou ao aumento do fluxo de fótons fotossintéticos (comprimentos de onda de 400 - 700 nm), quando uma semente enterrada é exposta.

A água, conforme Hoppe *et al.* (2004), é o fator de maior influência sobre o processo de germinação. Segundo os autores, com a embebição, ocorre a reidratação dos tecidos e, conseqüentemente, a intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que resultam do fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário. Por outro lado, os autores explicam que, o excesso de umidade pode provocar decréscimo na germinação, pois impede a penetração do oxigênio e reduz todo o processo metabólico. Mencionam ainda que a embebição é essencialmente um processo físico relacionado às características de permeabilidade do tegumento e das propriedades dos coloides que constituem as sementes, cuja hidratação é uma de suas primeiras conseqüências.

O período de germinação da semente, a sobrevivência e o estabelecimento da planta nos estádios iniciais de desenvolvimento são críticos na preservação de uma espécie (Secorun & Souza 2011). Abreu (2008) relata que em espécies de Cactaceae, cerca de 2% apresentam viviparidade verdadeira caracterizada pela germinação precoce da semente ainda dentro dos frutos, antes mesmo de ocorrer sua dispersão da planta mãe. Os outros 98% dos representantes da família dispersaram frutos e sementes em busca da perpetuação das espécies.

Bregman & Bouman (1983) mencionam que a testa rígida, encontrada na maioria das sementes de Cactaceae, pode prevenir a semente de precoce dessecação, danos mecânicos, predação e ataque de microorganismos ao embrião, mas também pode dificultar a germinação. Entretanto, a germinação, que deve proceder rapidamente devido aos curtos períodos de chuva na maioria dos habitats, pode ser facilitada se o embrião puder descartar a parte caudal da semente (o opérculo). Assim, a germinação da semente não fica dependente da desintegração da testa por outros fatores.

No ambiente árido, os frutos de Cactaceae, por sua diversidade de recursos, não atraem somente a atenção dos seus respectivos agentes dispersores (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000). Segundo estes autores, muitas outras espécies frugívoras, que em geral não dispersam os frutos, podem danificar a estrutura da semente. O perigo do consumo das sementes por estes frugívoros é variável. Existem formigas que não matam o embrião, somente retiram restos do funículo ou mucilagem aderidos à testa. Entretanto, alguns roedores destroem completamente as sementes, assim como alguns pássaros quando ingerem o fruto, em outros a semente passa intacta pelo trato digestivo, que acaba quebrando a dormência eliminando-a nas fezes pronta para germinar.

A propagação de cactáceas, segundo Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yane (2000), pode ser feita por três métodos: 1) por germinação de sementes, 2) por propagação vegetativa e 3) cultivo de tecidos *in vitro*. Conforme os autores, a propagação por cultivo de tecidos *in vitro* possibilita a produção de muitas plantas a partir de apenas um espécime, além de permitir um desenvolvimento mais rápido das plantas, possibilitando assim o planejamento da utilização dos espaços e a otimização do tempo de germinação (Zaidan & Barbedo 2004). A reprodução em meios de cultivo, por meio da germinação de sementes, incluindo propagação *in vitro*, comentam Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yane (2000), é uma alternativa à multiplicação das cactáceas, proporcionando manutenção da variabilidade genética de populações e de espécies e o aumento da disponibilidade de mudas, tanto para os viveiristas quanto para projetos que visem à conservação. No entanto, comentam os autores, pouco se sabe sobre os requisitos germinativos de sementes de cactos e sobre a sua viabilidade e longevidade. Estudos sobre a germinação e estabelecimento de plântulas, mencionam ainda, são importantes para entender as estratégias reprodutivas.

Testes de germinação de espécies de Cactaceae foram realizados em sua grande maioria sobre substrato de papel umedecido com água ou meios nutritivos complementares, sendo que os resultados de

germinação em meios de cultura foram menos eficazes do que em água. Estes estudos foram realizados com as seguintes espécies de Cactaceae: como *Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum (Loza-Cornejo *et al.* 2003), *Schlumbergera truncata* (Haw.) Moran (Leal & Nunes 2007), *Hylocereus setaceus* (Salm-Dick ex DC.), *Trichocereus terscheckii* (Pfeiff.) Britton & Rose (Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga 2007), Ralf Bauer (Simão *et al.* 2007), *Melocactus ernestii* Vaupel (Abreu 2008), *M. paucispinusi* Heimen & R.J.Paul (Abreu 2008), *Turbincarpus lophophoroides* (Werderm) (Flores *et al.* 2008) e *T. pseudopectinatus* (Backeb) (Flores *et al.* 2008), *Rhipsalis floccosa* Salm-Dyck ex Pfeiff. (Lone *et al.* 2009), *R. pilocarpa* Loefgr. (Lone *et al.* 2009), *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber) Byles & G.D. Rowley (Abud *et al.* 2012) e *Epiphyllum phyllanthus* (Almeida *et al.* 2013).

O tempo de germinação das sementes de cactáceas, conforme Lone *et al.* (2009), varia de acordo com a espécie, podendo ser imediata ou levar meses. Os cactos epífitos, comentam os autores, costumam ter uma germinação rápida e, em alguns casos, as sementes começam a germinar dentro do fruto maduro, como acontece em algumas espécies de *Disocactus*. A informação sobre o tempo de germinação da espécie, segundo Martins (2007), é bastante importante dentro de um programa de produção de mudas para que seja possível planejar a utilização dos espaços. Outra informação importante, menciona o autor, é que os estudos de germinação podem detectar e elucidar mecanismos de dormência em sementes de certas espécies, facilitando também a produção de mudas.

1.10. GÊNEROS *LEPISMIUM* PFEIFFER E *RHIPHALIS* GAERTNER

Segundo Calvente (2010), *Rhipsalis* é o maior gênero da tribo Rhipsalideae, com 36 espécies, sendo que a maioria de suas espécies é endêmica do Brasil, além de várias terem uma distribuição restrita. Já conforme Taylor & Zappi (2004), *Lepismium* é o segundo maior gênero da tribo no Brasil. Sua distribuição é ampla e abrangente nos outros países da América do Sul como Uruguai, Argentina e Paraguai (Mauseth *et al.* 2002). Barthlott & Taylor (1995) comentam que os gêneros se diferenciam pelo crescimento determinado das ramificações em *Rhipsalis*, e indeterminado em *Lepismium*, além de caracteres florais.

Segundo Barthlott & Taylor (1995), o gênero *Lepismium* apresenta ramificação mesotônica, caule-segmentado de crescimento indeterminado, ramos velhos e doentes não decíduos por meio de zonas de abscisão basais bem definidas, compostas por aréolas terminais

deficientes; flores laterais, pericarpelo e fruto jovem angulares, nitidamente diferenciado do perianto, muitas vezes tendo brácteas escamadas, aréolas e cerdas de espinhosas, muito raramente descobertos; frutos altamente coloridos ou translúcidos e venosos.

O gênero *Rhipsalis* apresenta ramificação aproximadamente acrotonica, isto é, com tendência a brotar primeiro pelas gemas terminais ou apicais, (as mais deficientes), aparentemente como mecanismo de sobrevivência, com objetivo de expandir-se o melhor possível (também denomina-se "Dominância apical"); segmentos de caule de crescimento indeterminado, ou mais comumente alguns ou todos de crescimento determinado, segmentos velhos ou doentes decíduos por meio de zonas de abscisão bem definidos nas junções, terminais compostos por aréolas presentes ou ausentes; flores laterais e terminais, pericarpelo e fruto jovem cilíndrico e exposto (exceto *R. pilocarpa* e raramente em *R. pachyptera*, *R. cereuscula* & *R. baccifera* subsp. *horrida*), segmentos do perianto, por vezes, em número reduzido para apenas 5-6, mais ou menos esbranquiçada ou raramente amarelada (apenas vermelho em *R. hoelleri*); frutos branco ou colorido, mas nunca visivelmente venado, perfeitamente circular (nunca em ângulo) quando maduros (Barthlott & Taylor 1995).

Os gêneros *Lepismium* e *Rhipsalis* apresentam característico, cujos caules são pendentes, ao contrário da maioria das cactáceas, possuem pouca rigidez, pois necessitam de maior flexibilidade sob a ação do vento (Mauseth *et al.* 2002).

As diferenças encontradas podem estar relacionadas às particularidades morfológicas dos gêneros, mais do que ao ambiente (Garcia 2011).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL

O material botânico foi coletado em época de frutificação, em agosto de 2012, na Floresta Atlântica, no Estado de Santa Catarina, nos municípios de Itajaí- região litoral norte, e de Florianópolis – região centro-oeste (Fig.1). O material vegetal do estudo consistiu de frutos das espécies epífitas da família Cactaceae: *Rhipsalis neves-armondii* K. Schum. (Fig. 2), *R. teres* (Vell.) Steud. (Fig. 3) e *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq. (Fig. 4). As sementes foram extraídas dos frutos e secas em bancada de laboratório, em temperatura ambiente, durante 72 horas. Em seguida, as sementes permaneceram armazenadas por dois anos, até o início dos experimentos, sob refrigeração à $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e foram utilizadas para estudos de germinação e desenvolvimento. No momento da coleta também foram separados caules das espécies de *R. neves-armondii.*, *R. teres* e *L. cruciforme* crescidos no ambiente natural, para estudos anatômicos.



Figura 1. Mapa do Estado de Santa Catarina, destacando os municípios de coletas dos frutos das espécies de Cactaceae epífitas e suas respectivas coordenadas geográficas: Itajaí, latitude $26^{\circ} 54' 28''$ Sul e longitude $48^{\circ} 40' 6''$ oeste a 6 metros de altitude; e Florianópolis, latitude $27^{\circ} 36' 9''$ sul e longitude $48^{\circ} 31' 32''$ oeste a 19 metros de altitude. Fonte: modificado das fontes: <http://www.mapainterativo.ciasc.gov.br>, acesso em julho de 2012)

Exsicatas foram preparadas, identificadas e depositadas no Herbário Flor – UFSC sob os respectivos números: *Rhipsalis neves-armondii* 53.126, 53.127, 53.128, 53.130, 53.131, 53.132 e 53.134; *R. teres* 53.129 e 53.133; e *Lepismium cruciforme* 53.135. A identificação foi realizada pela Profa. Dra Alice de Moraes Calvente Versieux da UFRN. Foi utilizada a nomenclatura botânica segundo a Flora do Brasil. As lâminas permanentes produzidas foram depositadas no Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVEG) – UFSC.



Figura 2. Indivíduo adulto de *Rhipsalis neves-armondii* em seu ambiente natural.



Figura 3. Indivíduo adulto de *R. teres* em seu ambiente natural.



Figura 4. Indivíduo adulto de *Lepismium cruciforme* em seu ambiente natural.

2.1.1. Viabilidade das sementes

As sementes selecionadas foram classificadas pelo tamanho em relação ao seu comprimento conforme Barthlott & Hunt (2000): extremamente grande (4,0-4,8 mm); muito grande (3,0-3,9 mm); grande (2,0-2,9 mm); média (1,2-1,9 mm); pequena (0,9-1,1 mm) e muito pequena (0,3-0,8 mm). Foi medido somente o comprimento que foi maior dimensão da semente.

Para determinar a viabilidade das sementes e rápida obtenção de resultados foram utilizadas sementes de 10 genótipos de cactáceas epífitas, sendo cinco sementes por genótipo. Os genótipos, localizados em diferentes pontos da área de coleta, foram numerados: 1 e 2 - *Rhipsalis neves-armondii*; 3 a 9 - *R. teres*; e 10 - *Lepismium cruciforme*. Antes do teste de viabilidade foram removidos os tegumentos com a ajuda de uma agulha de dissecação e pinça, expondo os tecidos do embrião para permitir melhor absorção da solução de tetrazólio e facilitar a avaliação. Os embriões foram mantidos em placa de Petri umedecida com água destilada, até que todas as amostras estivessem preparadas.

Para testar a viabilidade das sementes, os embriões foram submetidos ao Teste de Tetrazólio, sendo completamente imersos em solução de cloreto de 2,3,5- trifeniltetrazólio (TTC) Merk, a 1% e mantidos no escuro, em temperatura ambiente (aproximadamente 20° C). Foram considerados três períodos de imersão para a avaliação: após três horas, após 6 horas e após 12 horas.

A viabilidade das sementes foi classificada conforme as regras de análise de sementes, com base no uso do Teste de Tetrazólio (Brasil 2009): I) sementes viáveis - embriões com coloração vermelha ou rosada, uniformemente ou com grandes áreas coradas; ou II) sementes não viáveis – embriões sem coloração ou com a maior parte da superfície não corada.

2.1.2. Germinação das sementes

Para os experimentos de germinação, tanto em água quanto em meios de cultura, as sementes armazenadas sob refrigeração durante dois anos foram superficialmente esterilizadas em imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1% durante 1 minuto; em seguida, foram lavadas três vezes em água destilada, esterilizadas em autoclave e filtradas em uma peneira com 3 cm de diâmetro. A vidraria utilizada, bem os meios nutritivos, foram previamente esterilizados, em autoclave, por 20

minutos, a uma temperatura de 120°C. Todos os procedimentos de assepsia de sementes e semeadura foram realizados em Câmara de Fluxo Laminar.

Sementes de *R. neves-armondii*, *R. teres*, *L. cruciforme* foram submetidas ao processo de assepsia e posterior inoculação em Agar e 1 ml de água destilada esterilizada, esta formando uma fina lâmina d'água sobre o meio. Foram inoculadas 80 sementes de cada espécie, sendo uma semente por frasco. Somente as plântulas obtidas neste tratamento foram utilizadas nos estudos morfoanatomicos.

Os experimentos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de aproximadamente 60%, fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro em sala de vegetação e iluminação obtida por lâmpadas fluorescentes brancas com densidade de fluxo de fótons de $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. As avaliações foram realizadas 30 e 60 dias, após a inoculação em água ou nos meios de cultura. Foi considerada germinada aquela semente que apresentava a protrusão da raiz. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos de cada experimento foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O programa utilizado para as análises de variância foi o VARPC, desenvolvido pelo professor Dr. Ladaslav Sodek, do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas.

2.2. CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DAS PLÂNTULAS

Para a realização de análises de crescimento e desenvolvimento de plântulas, foi utilizado o método de germinação em água (conforme descrito acima), pois este apresentou melhor porcentagem de germinação nos testes preliminares.

Para estas análises foram selecionadas aleatoriamente 140 sementes por espécie, de *R. neves-armondii*, *R. teres* e *L. cruciforme*, as quais foram acondicionadas em quatro placas de Petri, contendo 35 sementes cada. As coletas de amostras foram feitas 60 dias após a semeadura. O número amostral das análises de desenvolvimento foi de 10 plântulas. Foi considerado o comprimento da parte aérea (CPA) e de raiz primária (CR), o número de raízes (NR), a massa fresca total (MFT), a massa fresca da parte aérea (MFP) e a massa fresca das raízes (MFR). O comprimento da parte aérea foi obtido pela medida a partir do colo da plântula até o ápice do cotilédone. O comprimento do sistema radicular foi obtido considerando o ápice da maior raiz até o colo.

Ambas as medidas foram feitas com auxílio de um paquímetro universal Kingtools 500150 (São Paulo, Brasil). A massa fresca da plântula foi obtida em balança eletrônica de precisão Gehaka BG 200 (São Paulo, Brasil). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre as espécies pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O programa utilizado para as análises de variância foi o VARPC, desenvolvido pelo professor Dr. Ladaslav Sodek, do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas.

O teor de clorofilas e carotenoides em plântulas frescas, 60 dias após a sementeira, foi determinado através do método colorimétrico descrito por Lichtenthaler (1987). Foram utilizadas três amostras de 10 plantas de cada espécie para cada período de avaliação (15, 30 e 60 dias). A extração, em acetona 100%, foi realizada em gral e pistilo. Em seguida o extrato foi filtrado em papel de filtro, em balão volumétrico (25 mL), devidamente revestido por papel alumínio. Posteriormente, o gral e filtro foram lavados com acetona 100% e o volume do balão foi completado até 25 mL. Os teores de clorofilas e carotenoides foram lidos em espectrofotômetro, usando três alíquotas de cada amostra ($n=9$), sendo uma amostra para cada período de avaliação. Foi determinada a absorvância nos comprimentos de onda de 470 nm para a leitura de carotenóides e 645 e 662 nm para leitura das clorofilas. As clorofilas e carotenóides foram calculados a partir das seguintes equações:

$$Ca = 11,24 A_{662} - 2,04 A_{645}$$

$$Cb = 20,13 A_{645} - 4,19 A_{662}$$

$$C \text{ total} = 7,05 A_{662} + 18,09 A_{645}$$

$$\text{Carotenóides} = [(1000 A_{470} - 1,9 Ca - 63,14 Cb) / 214]$$

2.3. ANÁLISES MORFOANATÔMICAS

Para determinar o tamanho das sementes, amostras contendo de 10 sementes de cada espécie foram avaliadas quanto o comprimento e a largura, usando paquímetro universal Kingtools 500150 (São Paulo, Brasil) e microscópio estereoscópico Leica EZ4D (Wetzlar, Alemanha). A massa das sementes (massa fresca) foi determinada em balança eletrônica de precisão Gehaka BG 200 (São Paulo, Brasil).

A captura de imagens das sementes foi realizada no mesmo microscópio estereoscópico referido acima, equipado com câmara

digital Sony DSCW80 (Shenzhen, China) e foram observados: forma, estrutura da testa, cor, hilo, micrópila, apêndices e embrião.

Para o estudo da morfoanatomia comparada foram selecionadas três plântulas de cada espécie de *R. teres* e *L. cruciforme* desenvolvidas em água e em Agar e caules de plantas adultas crescidas na natureza destas duas espécies.

O material foi fixado em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas. Em seguida o material foi lavado, por três vezes, em tampão fosfato de sódio e desidratado em série etílica gradual e conservado em etanol 70^oGL. Para infiltração em hidroxietilmetacrilato (*Jung's historesin* – marca Leica), o material foi desidratado até etanol 96^oGL, mantido por pelo menos 12 horas, em solução de pré-infiltração, e 2 horas em solução de infiltração. Após esta etapa, o material foi transferido para a solução endurecedora, conforme instrução do fabricante, a partir da qual os blocos foram formados. Os blocos foram submetidos ao seccionamento transversal em micrótomo de rotação Leica –RM 2125 RT (Nussoch, Alemanha), com espessura de 5µm. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40^oC). Após a secagem das lâminas, o material foi corado com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1965). As análises e registro de imagens foram capturadas em Microscópio DM 2500 (Leica, Wetzlar, Alemanha), equipado com câmera DFC 295 (Heerbrugg, Alemanha) e software (Leica Application Suite 3.7.0, Suíça). Foram feitas secções transversais de raízes e parte aérea das plântulas e secções transversais do caule de plantas adultas. Foi analisada a região intermediária das plântulas entre a região mais basal próxima ao colo e a região mais apical próxima ao nó cotiledonar.

Para análises em MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura) de plântulas e caule adulto, as amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas. Em seguida o material foi lavado, por três vezes, em tampão fosfato de sódio e desidratado em série etílica gradual até etanol 100^oGL. As amostras foram secas, conforme procedimento de Horridge & Tamm (1969), em ponto crítico de CO₂ Leica EM CDP 300 (Wetzlar, Alemanha). As amostras secas foram colocadas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono de dupla face, e cobertas com 20nm de ouro, em metalizador Leica modelo EM SCD 500 (Wetzlar, Alemanha). A análise e documentação foram efetivadas em Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM-6390 LV (Tokio, Japão) no Laboratório Central de Microscopia (LCME) da UFSC.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. SEMENTES

As sementes das espécies estudadas relaram-se pequenas e, seguindo a classificação Barthlott & Hunt (2000), com distintas formas: ovóide, em *Rhipsalis neves-armondii* (Fig. 5A) e *R. teres* (Fig. 5B), e cônica, em *L. cruciforme* (Fig. 5C). Nas três espécies, a testa mostrou-se rígida, de cor marrom-escuro a preta, com aspecto liso e brilhante. Com base nas médias das dimensões (comprimento e largura) e massa fresca total (MF), constatou-se que as sementes de *L. cruciforme* são maiores do que as sementes de *R. neves-amondii* e *R. teres*, que foram semelhantes entre si em forma e tamanho (Tab. 1).



Figura 5. Aspecto geral das sementes das espécies Cactaceae epifíticas. Legenda: A. *Rhipsalis neves-armondi*, B. *R. teres* e C. *Lepismium cruciforme*. Legenda: t. testa, Znm. zona hilo-micropilar . Barras: 0,5 mm.

Tabela 1. Dimensões e massa fresca (MF) de sementes de Cactaceae epifíticas.

Espécie	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Massa fresca (mg)
<i>R. neves-amondii</i>	0,95±0,10 B	0,41±0,05 B	0,23±0,02 B
<i>R. teres</i>	0,96±0,05 B	0,47±0,05 B	0,23±0,02 B
<i>L. cruciforme</i>	1,07±0,63 A	0,53±0,13 A	0,26±0,02 A

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %. n = 10.

3.1.1. Viabilidade das sementes

O teste de tetrazólio (TTC), usado para avaliar a viabilidade das sementes, demonstrou que todas as sementes armazenadas estavam viáveis após dois anos de armazenamento sob refrigeração. Após três horas de exposição dos embriões ao TTC observou-se coloração rosada em 100% das amostras nas três espécies. Entretanto, a coloração vermelha uniforme só foi obtida após 12 horas (Fig. 6).

Para as espécies que requerem um longo período de pré-esfriamento, e onde o teste de germinação não pode ser completado dentro de dois meses, são recomendados testes rápidos de viabilidade, como o Teste de Tetrazólio (Brasil 2009). Ainda, conforme esta publicação, que estabelece regras para a análise de sementes, o TTC objetiva determinar rapidamente a viabilidade de sementes, particularmente, nos casos de dormência em espécies recalcitrantes, de germinação lenta com testes de rotina ou, ainda, de alta porcentagem de sementes não germinadas no final do teste de germinação. As sementes de muitas espécies de cactos são predominantemente ortodoxas, podendo manter altas taxas de germinação após longos períodos de armazenamento (Barbedo *et al.* 2002). Algumas espécies podem aumentar a taxa de germinação, quando armazenadas em condições adequadas, mantendo-se viáveis por períodos de até 24 meses. Após o armazenamento por longo período, as sementes de cactos ainda são capazes de germinar e produzir plantas normais. Entretanto, o acondicionamento das sementes em ambientes com variações de temperatura ou a presença de componentes químicos, durante o processo de embebição, podem interferir na porcentagem de germinação (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000, Flores & Jiménez-Bremont 2008, Brasil 2009). As sementes das espécies estudadas neste trabalho mantiveram-se viáveis durante dois anos de armazenamento sob refrigeração e produziram plântulas, porém não foi registrada a germinação das sementes recém coletadas.

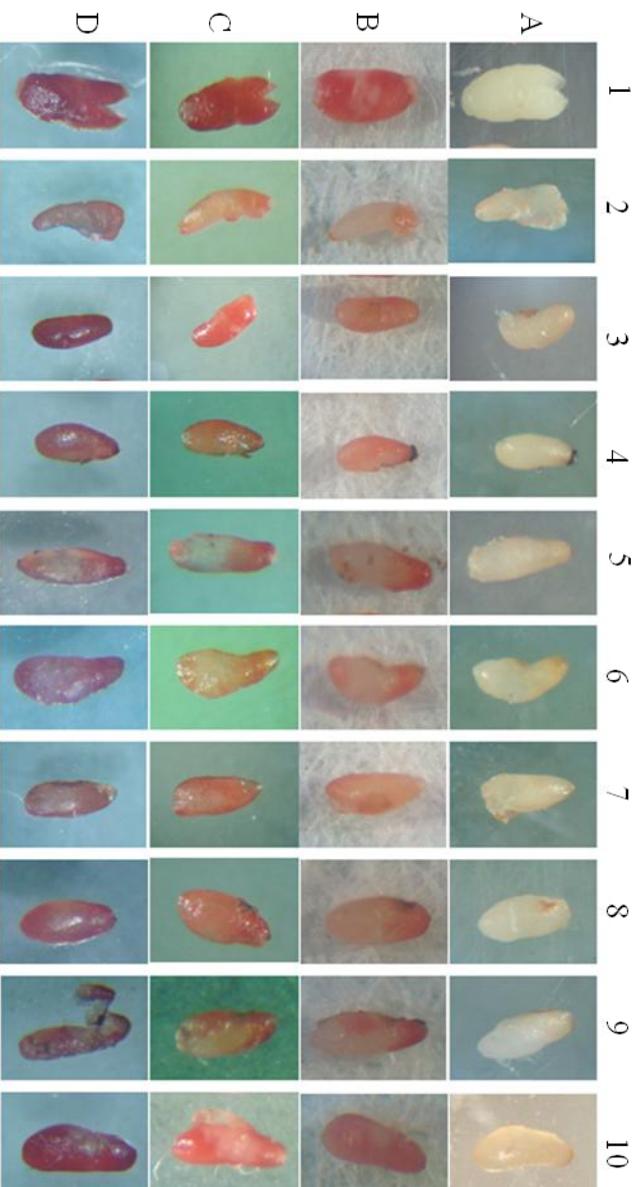


Figura 6. Teste de viabilidade dos embriões zigóticos de Cactaceae epíficas, após imersão em solução de cloro 2,3,5 trifenil tetrazólio (TTC) a 1%. Legenda: A. Embriões zigóticos antes da imersão (testemunha); B. Embriões zigóticos 3h após a imersão; C. Embriões zigóticos 6h após a imersão; D. Embriões zigóticos 12h após a imersão. 1e 2. Genótipos de *Rhipsalis nevres-amondi*; 3 a 9. genótipos de *R. teres* e 10. Genótipos de

3.2. GERMINAÇÃO

O teste de germinação de sementes das espécies de Cactaceae epífíticas armazenadas durante dois anos mostrou diferenças entre as espécies, tanto na velocidade quanto na porcentagem de germinação (Fig. 7). *R. teres* apresentou 57% de sementes germinadas, após 15 dias, enquanto em *R. neves-armondi* e *L. cruciforme* atingiram 50% e 40 % de germinação, respectivamente, somente aos 30 dias. *Rhipsalis teres*, após 30 dias, já havia atingido 71,5%. Após 60 dias de cultivo, a germinação das sementes de *R. teres* atingiu 100% e *L. cruciforme* chegou a 80%. *Rhipsalis neves-armondi* estabilizou a germinação aos 30 dias, mantendo apenas 40% das sementes germinadas. Para *Lepismium cruciforme* aos 60 dias, a germinação ainda não havia estabilizado.

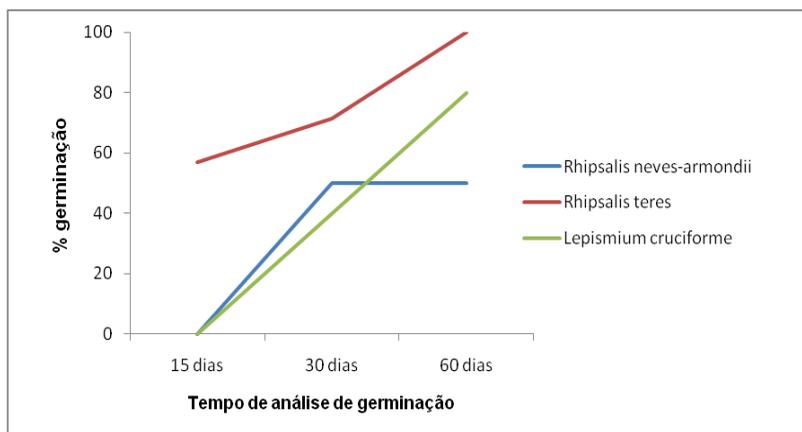


Figura 7. Percentagem de germinação de sementes de Cactaceae epífíticas, cultivadas em água, após 60 dias, em câmara de crescimento. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade do ar aproximadamente 60%, com fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro, luz branca fria fluorescente, com intensidade de $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. N= 5.

As plântulas morreram após 60 dias de cultivo em água, indicando que as reservas se exauriram, havendo a necessidade de transferência dessas plântulas para substratos antes desse período. Estudos sobre a sobrevivência de plântulas de Cactaceae indicaram que após uma semana de cultivo em água, seu transplante para meios ou

substratos que disponibilizem nutrientes e água, é fundamental para seu estabelecimento (Cota-Sanchez & Abreu 2007, Almeida *et al.* 2013). Na germinação e desenvolvimento de plântulas de *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae), as duas primeiras semanas mostraram-se críticas na sobrevivência das plântulas, pois ocorreu uma elevada incidência de mortalidade (50%), indicando a vulnerabilidade das fases iniciais de desenvolvimento (Almeida *et al.* 2013). Sendo assim, o presente estudo mostrou que as substâncias de reserva das sementes haviam se exaurido ao término do período de cultivo.

3.3. ANÁLISES DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS GERMINADAS EM ÁGUA

A análise do crescimento das plântulas de *R. neves-armondii*, *R. teres* e *Lepismium cruciforme* a partir das sementes germinadas em água mostrou diferenças entre as espécies após 60 dias de cultivo (Tab. 2). O comprimento da parte aérea (CPA) e a massa fresca das raízes (MFR) de *R. teres* mostraram-se semelhantes às outras duas espécies, que foram distintas entre si. *R. neves-armondii* apresentou maior comprimento da parte aérea e mais massa fresca de raízes do que *L. cruciforme*. Os valores de massa fresca total (MFT) e da parte aérea (MFPA) foram maiores em *R. neves-armondii*.

Os resultados obtidos para massa fresca estão relacionados com a luminosidade e capacidade de utilização de determinada espécie na fotossíntese, pois a eficiência desse processo tem consequência na incorporação de massa pelas plantas (Barber & Anderson, 1992). Conforme Cota-Sanchez & Abreu (2007), as taxas de mortalidade e a vulnerabilidade do desenvolvimento nos estágios iniciais estão relacionados com a seleção de substrato, fornecimento de nutrientes e disponibilidade de água. Estudos feitos em plântulas de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw., uma Cactaceae epifítica, por Almeida *et al.* (2013), e em plântulas de *Trichocereus candicans* (K. Schum.) Britton & Rose, Cactaceae terrestre (Cenizo *et al.* 2013), mostraram que essas plantas apresentaram crescimento mais significativo da parte aérea até os 60 dias de desenvolvimento. Assim como nos resultados destes autores, nas espécies aqui estudadas o estabelecimento de plântulas e seu desenvolvimento nos 60 dias cultivo é crítica, pois foi constatada a vulnerabilidade e a mortalidade nas fases iniciais de desenvolvimento.

Os maiores teores de Clorofilas a, b, totais e carotenóides foram observados em *Rhipsalis teres*, seguidos de *Lepismium cruciforme* e *R.*

neves-armondii (Tab. 5). Os conteúdos de carotenoides foram diferentes entre as três espécies.

Tabela 2. Análises do crescimento e desenvolvimento de plântulas cultivadas em água de espécies de Cactaceae epifíticas 60 dias após as sementes serem colocadas para germinar, em câmara de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade do ar de $\cong 60\%$, com fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro, luz branca fria fluorescente, com intensidade de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$: medidas do Comprimento da Parte Área (CPA), Comprimento da Raiz (CR) e Número de Raízes (NR); produção de biomassa em massa fresca total (MFT), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca das raízes (mg) (MFR); Concentração de Clorofila a, b e total e Carotenóides (μg do pigmento/mg de Massa Fresca).

Parâmetros avaliados	Espécies		
	<i>Rhipsalis neves-armondii</i>	<i>Rhipsalis teres</i>	<i>Lepismium cruciforme</i>
CPA (mm)	3,60 \pm 0,94 A	3,05 \pm 0,37 AB	2,70 \pm 0,26 B
NR	1,50 \pm 0,71 A	1,00 \pm 0,00 A	1,40 \pm 0,52 A
CR (mm)	7,20 \pm 2,26 A	6,80 \pm 4,37 A	6,65 \pm 3,65 A
MFT(mg)	5,51 \pm 1,37 A	2,95 \pm 1,33 B	3,88 \pm 1,59 B
MFPA (mg)	5,12 \pm 1,33 A	2,64 \pm 0,32 B	3,45 \pm 0,33 B
MFR (mg)	0,43 \pm 0,14 A	0,31 \pm 0,20 AB	0,20 \pm 0,12 B
Clorofila a (μg Ca/mg MF)	0,11 \pm 0,03 C	0,48 \pm 0,02 A	0,32 \pm 0,03 B
Clorofila b (μg Cb/mg MF)	0,23 \pm 0,02 C	0,90 \pm 0,01 A	0,62 \pm 0,01 B
Clorofila total (μg Ct/mg MF)	0,34 \pm 0,02 C	1,39 \pm 0,02 A	0,94 \pm 0,01 B
Carotenóides (μg Carot./mg MF)	0,01 \pm 0,00 C	0,06 \pm 0,02 A	0,03 \pm 0,01 B

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %. n = 10.

Os resultados obtidos para massa fresca estão relacionados com a luminosidade e capacidade de utilização de determinada espécie na fotossíntese, pois a eficiência desse processo tem consequência na incorporação de massa pelas plantas (Barber & Anderson 1992). Conforme Cota-Sanchez & Abreu (2007), as taxas de mortalidade e a vulnerabilidade do desenvolvimento nos estágios iniciais estão relacionados com a seleção de substrato, fornecimento de nutrientes e disponibilidade de água. Estudos feitos em plântulas de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw., uma Cactaceae epifítica, por Almeida *et al.* (2013), e em plântulas de *Trichocereus candicans* (K. Schum.) Britton & Rose, Cactaceae terrestre (Cenizo *et al.* 2013), mostraram que essas plantas apresentaram crescimento mais significativo da parte aérea até

os 60 dias de desenvolvimento. Assim como nos resultados destes autores, nas espécies aqui estudadas o estabelecimento de plântulas e seu desenvolvimento nos 60 dias cultivo é crítica, pois foi constatada a vulnerabilidade e a mortalidade nas fases iniciais de desenvolvimento.

Os maiores teores de Clorofilas a, b, totais e carotenóides foram observados em *Rhipsalis teres*, seguidos de *Lepismium cruciforme* e *R. neves-armondii* (Tab. 2). Os conteúdos de carotenoides foram diferentes entre as três espécies.

As plântulas de *R. neves-armondii*, *R. teres* e *L. cruciforme*, provenientes de sementes que germinaram na água, apresentaram coloração verde uniforme, hipocótilo suculento, cilíndrico e com diâmetro gradativamente maior em direção aos cotilédones, justamente pela expansão lateral destes. Os cotilédones apresentaram ápices pontiagudos (Fig. 8A-C, 9A-C e 10A-C). As plântulas de *R. neves-armondii* e *R. teres* após a germinação em água apresentam o epicótilo evidente já no 15.º de cultivo (Fig. 8A;9A), enquanto nas plântulas de *L. cruciforme* não havia desenvolvido após 60 dias de cultivo (Fig. 10C).

Os filocládios de *R. neves-armondii* já eram evidenciados aos 15 dias, após serem colocados para germinar, desenvolvendo-se mais nos períodos seguintes (Fig. 8). Os filocládios mostraram-se providos de espinhos emergentes de aréolas. Embora em *R. teres* já podia ser visto o epicótilo, este manteve-se pouco desenvolvido mesmo aos 60 dias (Fig 9C), não exibindo ainda a presença de espinhos. Em *L. cruciforme* (Fig. 10C) não ocorreu o desenvolvimento de epicótilo, porém a emergência de raros espinhos, na região do nó cotiledonar pode ser constatada aos 60 dias. O hipocótilo das três espécies apresentou-se suculento. Características semelhantes também são descritas por Secorun & Souza (2011) para hipocótilos em plântulas de Cactaceae com 50 dias de desenvolvimento. Nas espécies estudadas pelos autores, as plântulas apresentam epicótilo suculento (filocládio), aréolas com longos espinhos pontiagudos e tricomas curtos. A raiz primária ramificou-se a partir dos 15 dias em todas as espécies estudadas (Fig. 8A, 9A, 10A). O colo foi evidente e de coloração esbranquiçada (Fig. 8, 9 e 10).

Os hipocótilos de *R. teres* (Fig. 11A-F) e *L. cruciforme* (Fig. 12A-F) apresentaram epiderme unisseriada, com cutícula espessa, e hidrênquima constituindo o córtex. Nas duas espécies aqui estudadas, as características correspondem aquelas descritas por Terrazas & Arias (2003) para espécies de Cactoideae. A cutícula espessa e o hidrênquima (Fig. 11A, B; 12A), presente no hipocótilo das plântulas das espécies estudadas, constituem características xéricas que favorecem a economia

hídrica, pois como epífitas, embora protegidas de excessiva irradiação solar, tem limitação de disponibilidade de água. Loza-Cornejo & Terrazas (2003) ressaltam que a cutícula fornece uma interface de proteção importante para a planta-ambiente.

Delimitando internamente o córtex do hipocótilo de *R. teres* (Fig. 11C) e *L. cruciforme* (Fig. 12E) foi evidenciada a endoderme contornando o cilindro central. No cilindro central, o sistema vascular mostrou-se constituído por feixes vasculares colaterais (Fig. 11C e 12B). Durante o período de desenvolvimento analisado, não foi observada a presença de fibras associadas aos feixes vasculares do hipocótilo das espécies estudadas, o que também não foi registrado pro Secorun & Souza (2011) para *Rhipsalis cereuscula*, *R. floccosa* subsp. *hohenauensis* e *Lepismium cruciforme*.

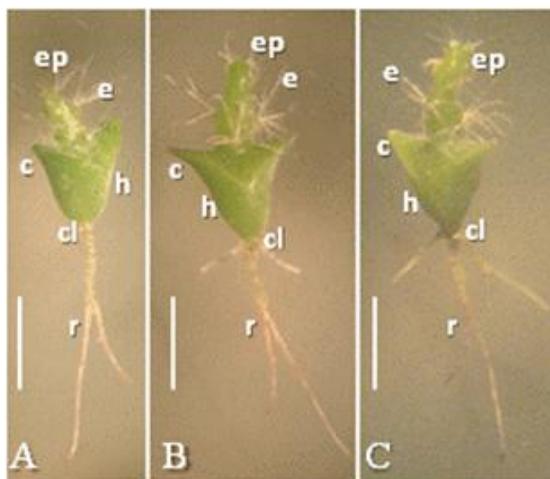


Figura 8. Plântulas de *Rhipsalis neves-armondii* germinadas em água. A. Aos 15 dias; B. Aos 30 dias; C. Aos 60 dias. Legenda: e.espinhos; ep. epicótilo; c. cotilédones; cl. colo; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2mm.

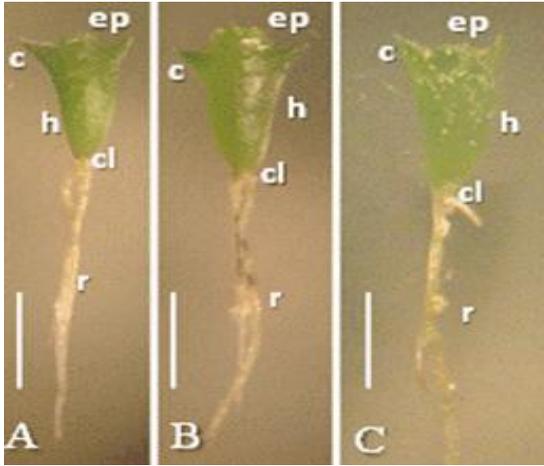


Figura 9. Plântulas de *R. teres* germinadas em água. A. Aos 15 dias; B. Aos 30 dias; C. Aos 60 dias. Legenda: ep. epicótilo; c. cotilédones; cl. colo; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2mm.

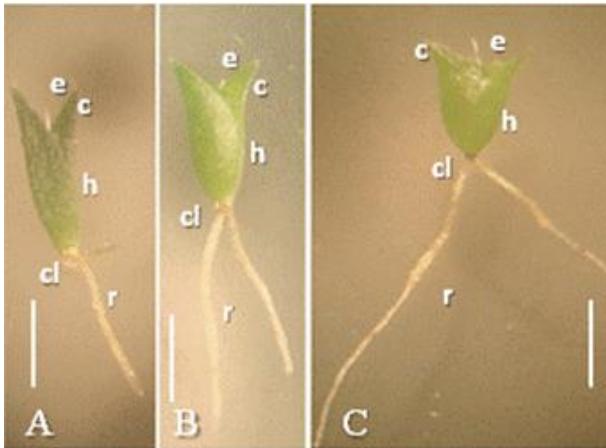


Figura 10. Plântulas de *Lepismium cruciforme* germinadas em água. A. Aos 15 dias; B. Aos 30 dias; C. Aos 60 dias. Legenda: e. espinhos; c. cotilédones; cl. colo; h. hipocótilo; r. raiz. Barras = 2mm.

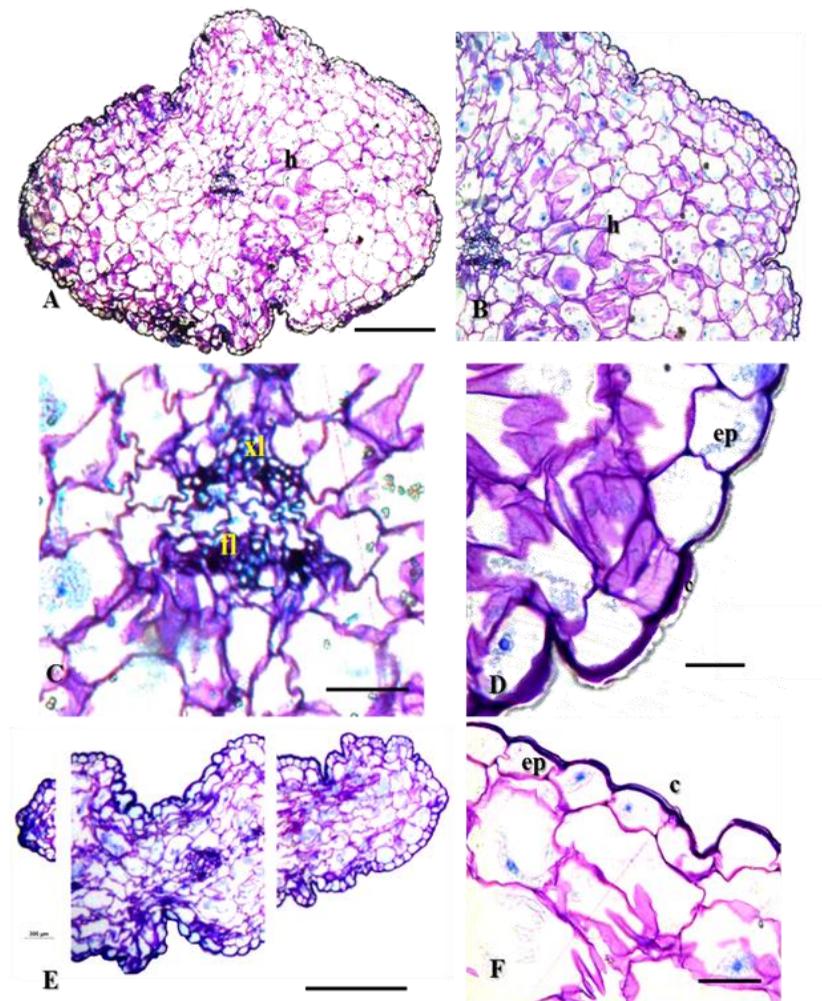


Figura 11. Seções transversais do hypocótilo da plântula de *Rhipsalis teres*, 60 dias de desenvolvimento em água, em microscopia óptica. A. Vista geral região mediana hypocótilo. B. Detalhe dos tecidos, destacando a epiderme e o córtex. C. Cilindro central da região mediana. D. Detalhe dos tecidos periféricos. E. Vista geral dos tecidos da região apical. F. Detalhe dos tecidos periféricos, detacando a epiderme. Legenda: c. cutícula; ep. epiderme; fl. floema; h. hidrênquima; xl. xilema. Barras: A, B e E = 100 μm ; C = 50 μm ; D e F = 20 μm .

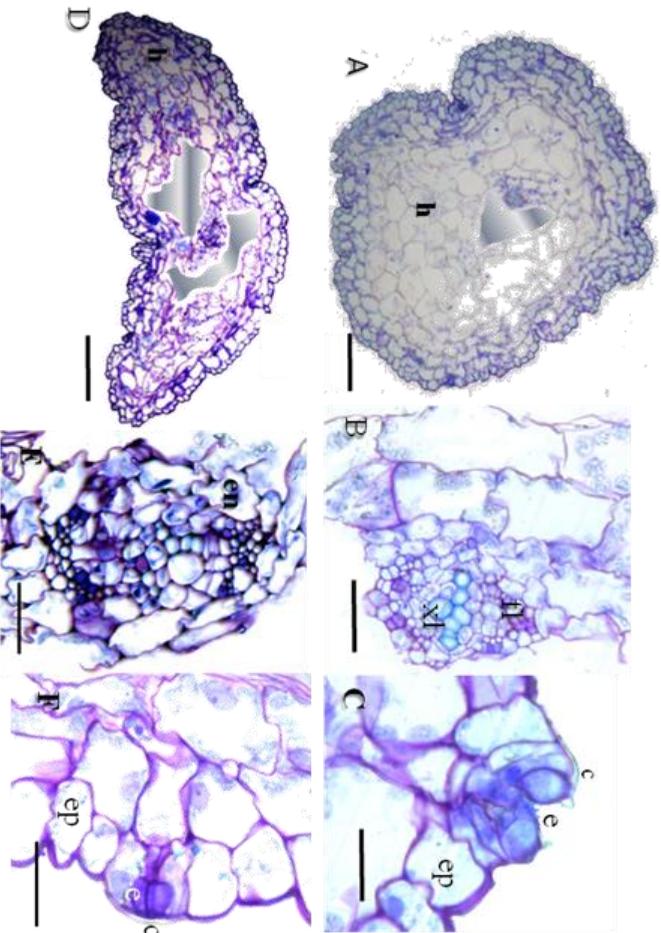


Figura 12. Vista, em microscópio óptico, de seções transversais do hipocórito da plântula de *Lepidium cruciforme*, aos 60 dias de desenvolvimento em água. A. Vista geral região basal (região com preenchimento artificial nos espaços onde as células romperam devido a fragilidade do tecido); B. Detalhe cilindro central; C. Detalhe da epiderme, estômato e cutícula; D. Vista geral região mediana (região com preenchimento artificial nos espaços onde as células romperam devido a

3.4. ANÁLISES DE DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS EM ÁGAR

A germinação de *R. neves-armondii*, *R. teres* e *L. cruciforme*, foi do tipo fanerocotiledonar. Segundo Souza (2003), a germinação das sementes pode ser criptocotiledonar, na qual os cotilédones permanecem no interior do diásporo, ou fanerocotiledonar com a exposição dos cotilédones. Bregman & Bouman (1983) caracterizam a germinação com hipocótilo de reserva, pois a nutrição inicial da plântula suprída pelo hipocótilo, uma vez que os cotilédones apresentam-se rudimentares, como é característico de outras espécies de cactos.

Foram realizadas análises de desenvolvimento em ágar, apenas nas plântulas de *R. teres* e *L. cruciforme*, pois as sementes de *R. neves-armondii* não germinaram neste substrato. As plântulas de *R. teres* (Fig. 13A,B) e *L. cruciforme* (Fig. 14A,B), aos 30 dias, mostraram-se constituídos por raiz e hipocótilo, com início de formação de cotilédones, porém aos 60 dias ainda não podia ser evidenciado o desenvolvimento do epicótilo. O hipocótilo apresentou-se verde e suculento, alargando-se acropetamente, devido à formação dos cotilédones, estes com extremidade pontiaguda. Estas características morfológicas observadas são semelhantes ao registrado por Loza-Cornejo *et al.* (2003), Almeida *et al.* (2009) e Secorun & Souza (2011), para espécies de Cactaceae. Conforme os autores, as plântulas mostram uma redução considerável do comprimento e um aumento na suculência quando comparados com as eudicotiledôneas.



Figura 13. Plântula de *Lepismium cruciforme* com desenvolvimento em ágar. A. Com 30 dias após a inoculação. B. 60 dias. Legenda: c. cotilédone; h. hipocótilo; r. raíz. Barras = 2,5 mm.

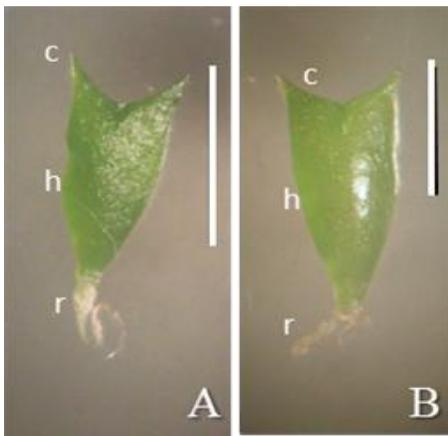


Figura 14. Plântula de *Rhipsalis teres* com desenvolvimento em ágar. A. Com 30 dias após a inoculação. B. 60 dias. Legenda: c. cotilédone; h. hipocótilo; r. raíz. Barras = 2,5 mm.

Resultados relativos às características histológicas do hipocótilo de *R. teres* aos 30 dias (Fig. 15 e 16) e aos 60 dias (Fig. 17 e 18), após as sementes serem colocadas para germinar em ágar, revelaram algumas variações estruturais com o desenvolvimento. Nas plântulas de *R.teres*, aos 30 dias de cultivo, constatou-se que a parede periclinal externa das células epidérmicas mostrava-se convexa região basal do hipocótilo (Fig. 15A,B; 16) e plana na região média (Fig. 15D,E). Aos 60 dias de cultivo, a convexidade foi observada ao longo de todo hipocótilo. A cutícula mostrou-se espessa nos hipocótilos aos 30 e 60 dias (Fig. 15B; 17D). Os estômatos, do tipo paracítico, apresentaram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 16B,C; 17E,F). Estômatos do tipo paracítico, pode ocorrer uma ou mais células subsidiárias flanqueando o estômato paralelamente ao eixo longitudinal das células-guarda (Mauseth 1998, Dickson 2000, Beck 2005). O tipo de estômatos paracíticos foi observado para a subfamília Cactoideae (Terrazas & Arias 2003) o que também foi observado neste estudo nas espécies de Cactaceae epifíticas.

O córtex, no hipocótilo de *R. teres*, apresentou-se constituído por hidrênquima clorofilado, com células de tamanhos semelhantes e formatos isodiamétricos, ampliando o número de camadas com o desenvolvimento do hipocótilo (Fig. 15A,D; 17A,B). Com relação a estas células, aos 60 dias, foi constatado que na região basal e média do hipocótilo (Fig. 17A,B), o formato tornou-se mais arredondado que a região mais apical do hipocótilo (Fig. 17C), indicando que provavelmente retém maior volume de água nos vacúolo na base, pois no ápice os estômatos estão em maior atividade, assim como há maior consumo das reservas devido ao investimento no desenvolvimento dos cotilédones e epicótilo em formação. No cilindro central do hipocótilo evidenciou-se o sistema vascular (Fig. 15C,F; Fig. 17G,H,I).

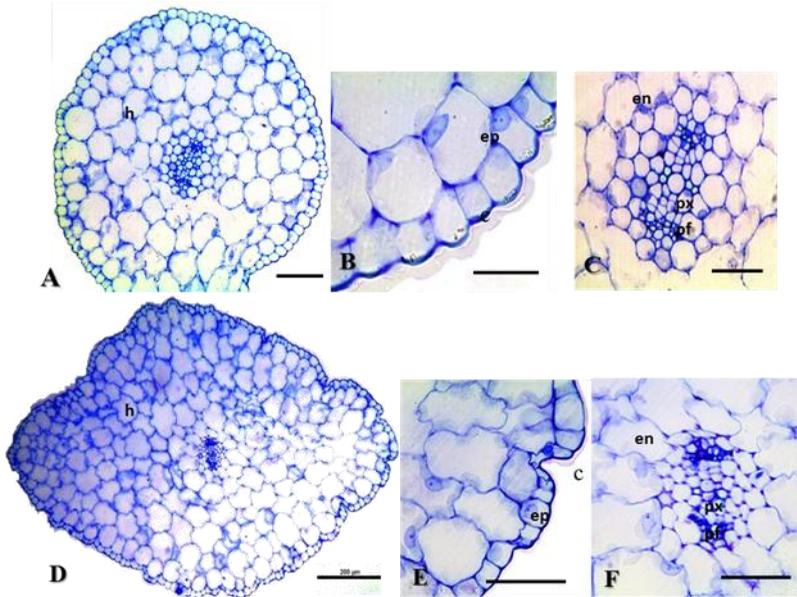


Figura 15. Secções transversais, em microscópio óptico, do hypocótilo da plântula de *Rhipsalis teres* com desenvolvimento em ágar 30 dias após a inoculação. A. Vista geral região basal hypocótilo; B. Detalhe da epiderme da região basal com presença de cutícula espessa; C. Cilindro central da região basal; D. Vista geral região mediana do hypocótilo, entre a região basal e apical; E. Detalhe da epiderme da região basal com presença de cutícula espessa; F. Cilindro central da região mediana. Legenda: c. cutícula; en. endoderme; ep. epiderme; h. hidrênquima; pf. protofloema; px. protoxilema; Barras: A, B, E e F = 50 μm ; D = 200 μm .

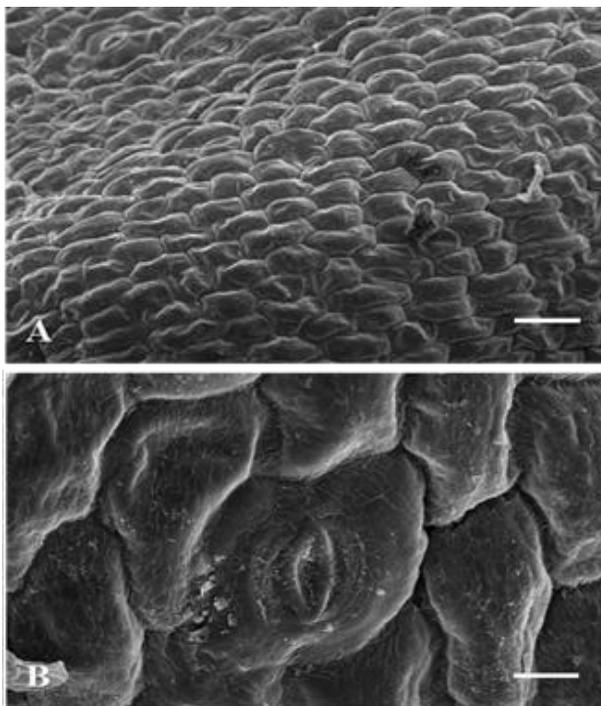


Figura 16. Vista frontal, em Microscópio Eletrônico de Varredura, da epiderme do hipocótilo da plântula de *Rhipsalis teres* com desenvolvimento em ágar 30 dias após a inoculação. A. Aspecto geral da superfície epidérmica; B. Detalhe dos estômatos no mesmo nível da epiderme; C. Estômatos do tipo paracítico; Barras: A = 50 μm ; B e C = 10 μm .

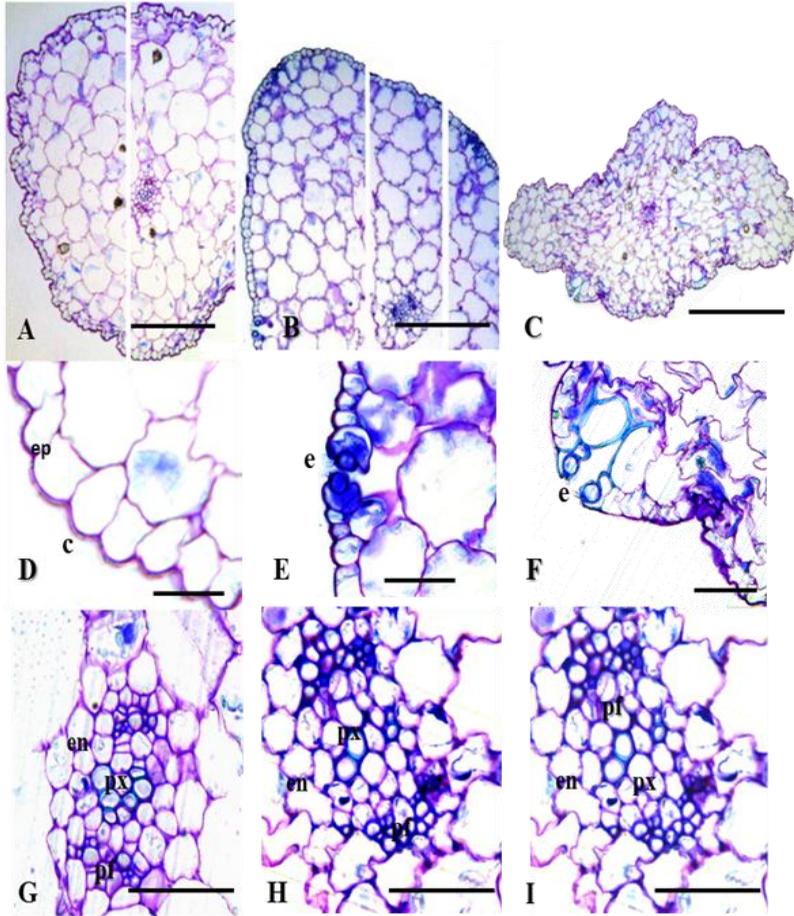


Figura 17. Secções transversais, em microscópio óptico, do hypocótilo da plântula de *Rhipsalis teres* com desenvolvimento em ágar 60 dias após a inoculação. A. Vista geral região basal; B. Vista geral região mediana; C. Vista geral região apical; D. Detalhe da epiderme com presença de cutícula espessa; E e I. Epiderme evidenciando estômatos no mesmo nível das demais células epidérmicas; G. Detalhe do cilindro central da região basal; H. Detalhe do cilindro central da região mediana; I. Detalhe do cilindro central da região apical. Legenda: c. cutícula; e. estômato; em. endoderme; ep. epiderme; pf. protofloema; px. protoxilema; Barras: A = 30 μm ; B, C = 300 μm ; D e E = 50 μm ; F, G, H e I = 100 μm .

Análises, em microscopias óptica e eletrônica de varredura, do hipocótilo de *L. cruciforme*, aos 30 dias (Fig. 19 e 20) e aos 60 dias (Fig. 21 e 22), após as sementes serem colocadas para germinar em ágar, revelaram algumas variações estruturais com o desenvolvimento. A epiderme do hipocótilo de *L. cruciforme* apresentou-se unisseriada (Fig. 19A, D; 21A, C), porém parede periclinal externa das células, aos 30 dias, era plana (Fig. 19D,E; 20), tornando-se convexa aos 60 dias (Fig. 21B; 22). A cutícula mostrou-se espessa (Fig. 19B; 21C). Em vista frontal da superfície epidérmica, em microscopia eletrônica de varredura, foi constatada a deposição de ceras epicuticulares (Fig. 20A). Os estômatos, do tipo paracítico, mostraram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 19E; 20B, C). O córtex apresentou-se preenchido por hidrênquima clorofilado, cujas células apresentaram formato mais isodiamétrico, aos 30 dias (Fig. 19A, D) e mais irregular, aos 60 dias (Fig. 21A, C). Entretanto, de maior destaque foi a morfologia do hipocótilo em secções transversais, que mostrou forma circular aos 30 dias (Fig. 19A, D) passando a formato achatado aos 60 dias (Fig. 21A, C). Esta variação de formato foi determinada pela expansão lateral para a formação dos cotilédones, pois o diâmetro do hipocótilo no sentido perpendicular aos cotilédones praticamente não alterou-se. O sistema vascular, ainda primário se sem presenças de fibras acompanhando os feixes vasculares colaterais, manteve posição centralizada (Fig. 19A, C, D, F; 21A, C, D).

Nas plântulas das duas espécies estudadas, *R. teres* e *L. cruciforme*, as análises anatômicas aos 30 e 60 dias após as sementes serem colocadas para germinar em ágar, apresentam características anatômicas similares aquela observadas em outras Cactaceae estudadas por Barthlott & Hunt (1993) e Cactoideae por Terrazas & Arias (2003). Os autores apontam epiderme uniestratificada, estômatos paralelocíticos e presença de hidrênquima no córtex. Nos estudos de Terrazas & Arias (2003), é relatado para Rhipsalideae a diferenciação de fibras adjacente ao floema, entretanto isto não foi constatado no presente estudo até a fase do desenvolvimento analisado. Barthlott & Hunt (1993) e Mauseth (2006) apontam a presença de hipoderme colequimatosa sob a epiderme do caule de Cactaceae. Porém, neste trabalho, optou-se por denominar de hidrênquima devido às suas características celulares, pois não foi realizada a ontogênese, embora possivelmente trata-se de uma hipoderme. O hidrênquima é um tecido parenquimático caracterizado, conforme Lambers *et al.* (1998), entre outros autores, por constituir-se de células de paredes delgadas, com ou sem cloroplastos, provido de amplos vacúolos contendo água e geralmente mucilagem. Este tecido,

conforme os autores, tem grande importância para a economia hídrica de uma planta por ser um reservatório de água. Este certamente é o caso destas espécies epífitas que tem maior dificuldade quanto à disponibilidade hídrica por estarem distantes do solo, mas ao alcance da irradiação solar sobre o forófito.

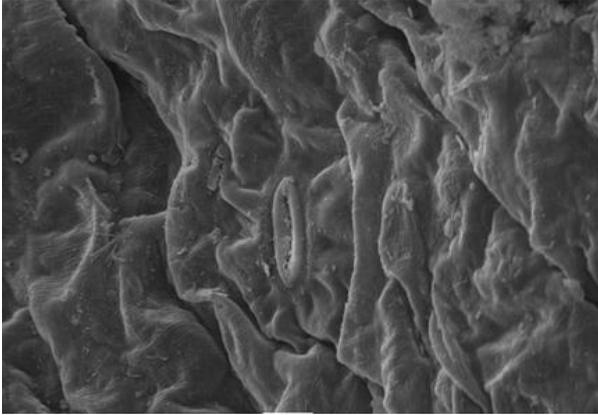


Figura 18. Vista frontal, em microscopia eletrônica de varredura, da epiderme do hipocótilo da plântula de *Rhopsalis teres* com desenvolvimento em ágar aos 60 dias após a inoculação. Barra: 20 μm .

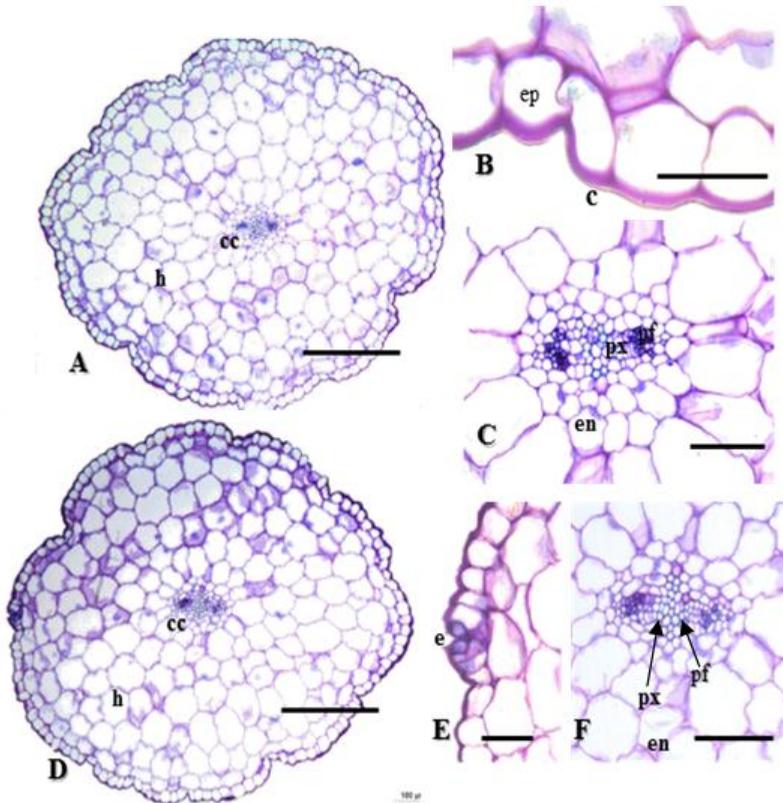


Figura 19. Secções transversais, em microscópico óptico, do hypocótilo da plântula de *Lepismium cruciforme* com desenvolvimento em ágar, aos 30 dias após a inoculação. A. Vista geral em direção a região basal; B. Cutícula espessa; C. Cilindro central na região basal; D. Vista geral região mediana do hypocótilo; E. Estômato no mesmo nível da epiderme; F. Cilindro central da região mediana e córtex. Legenda: c. cutícula; e. estômato; en. endoderme; ep. epiderme; h. hidrênima; pf. protofloema; px. protoxilema; Barras: A e D = 300 μ m; B, C e F = 100 μ m; E = 50 μ m.

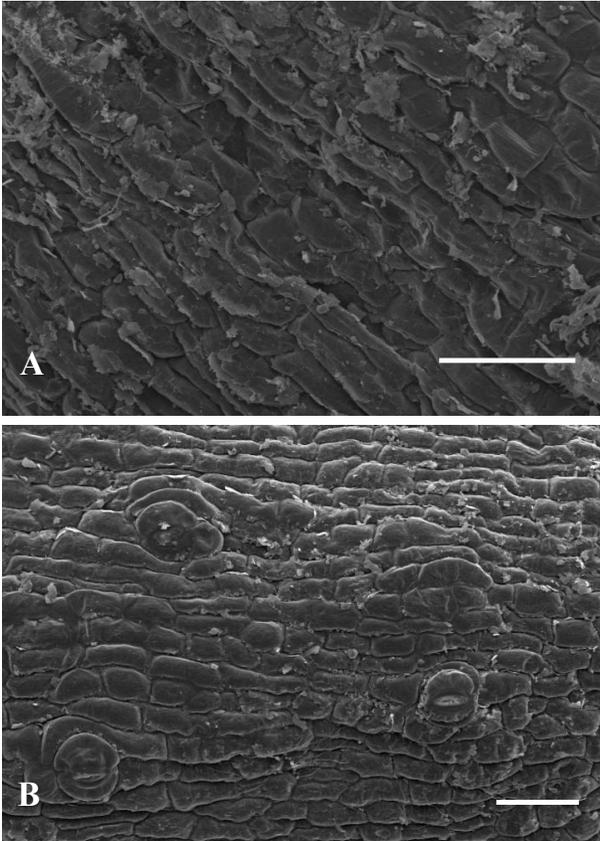


Figura 20. Vista frontal da epiderme do hipocótilo de *Lepismium cruciforme* com desenvolvimento em ágar 30 dias após a inoculação, em Microscópio Eletrônico de Varredura. A. Células da epiderme retangulares e filiformes com presença de ceras; B. Disposição dos estômatos na epiderme; C. Estômatos do tipo paracítico; Barras: A e B = 50 μm ; C = 20 μm .

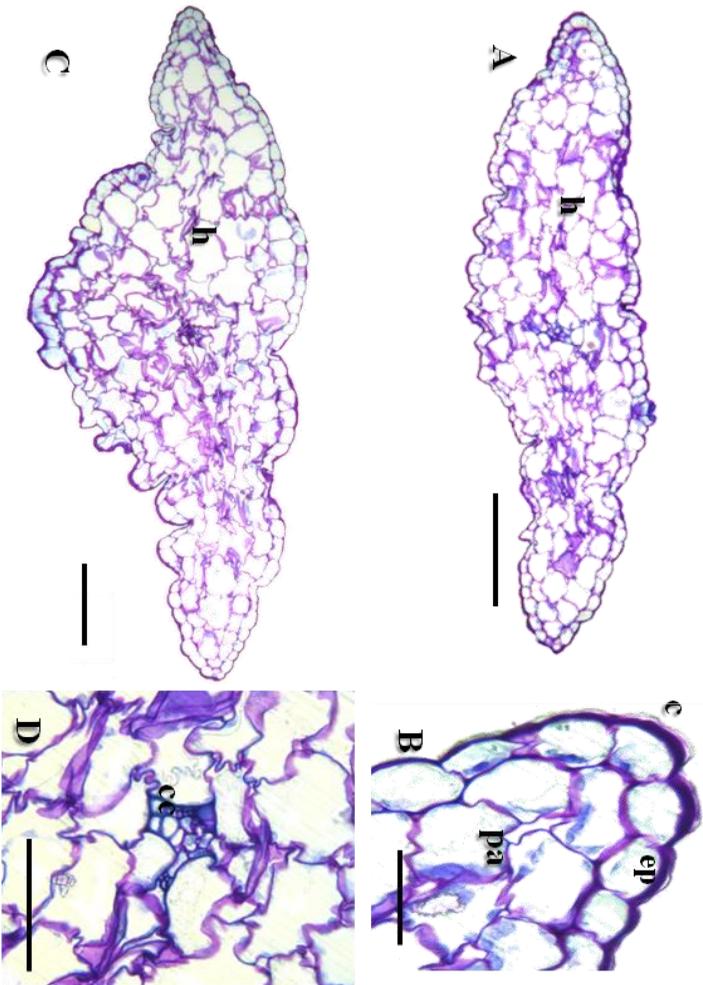


Figura 21. Seções transversais do hipocótilo da plântula de *Lepidium cruciforme* 60 dias de desenvolvimento em ágar. A. Vista geral região mediana; B. Detalhe da epiderme e cutícula; C. Vista geral região apical; D. Cilindro central reduzido e córtex da região mediana. Legenda: c. cutícula; e. epiderme; cc. cilindro central; h. hidrênquima; Barras: A e C = 300 μm ; B e D = 50 μm .

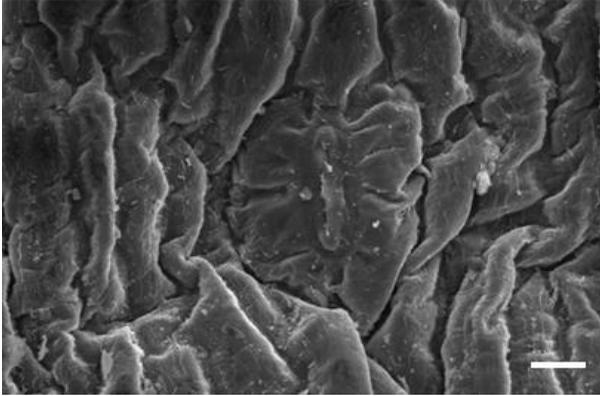


Figura 22. Vista frontal da epiderme do hipocótilo da plântula de *Lepismium cruciforme* com 60 dias de desenvolvimento em ágar, em Microscópio Eletrônico de Varredura. Distribuição dos estômatos no mesmo nível da epiderme. Barra = 10 μ m;

3.5. COMPARAÇÃO ENTRE PLÂNTULAS CULTIVADAS EM ÁGUA E EM ÁGAR

As três espécies germinaram em água, enquanto no ágar *R. neves-armaondii* não germinou. Embora *R. teres* tenha germinado em ágar, as plântulas mostraram desenvolvimento mais limitado, sem chegar a formar epicótilo como observado nas plântulas desenvolvidas em água. Os resultados sugerem que o cultivo apenas em água seja mais adequado que em ágar, pois favoreceu a germinação e desenvolvimento das plântulas de *Rhypsalis neves-armondii*, *R. teres* e *Lepismium cruciforme*.

3.6. MORFOANATOMIA DE CAULE DE PLANTAS ADULTAS DE RHYPHALIS TERES E LEPISMIUM CRUCIFORME

Os caules, do tipo filocládio, de ambas as espécies estudadas de *R. teres* e *L. cruciforme* são pendentes e semi-erectos (Fig. 23) e apresentaram coloração verde e suculência conforme também observado por Anderson (2001).

Os indivíduos adultos de *R. teres* (Fig. 23A, B) apresentaram forma do caule cilíndrica com ramificação apical (partindo da ponta do ramo) e lateral, segmentos monomórficos filiformes e flexíveis. Artículos mostraram coloração verde-escura. O caule mostrou-se glabro,

com aréolas laterais, contendo flores inseridas com petalóides de cor branca. O fruto foi do tipo baga de cor rosada quando maduro.

Os indivíduos adultos de *L. cruciforme* (Fig. 23C, D) apresentaram ramificação estritamente lateral com segmentos caulinares flexíveis. O crescimento foi indeterminado com alas triangulares. Caule apresentou coloração verde-escuro, com aréolas na borda das costelas. Gemas ascendentes em ângulos com escamas e com alguns espinhos estavam inseridos nas aréolas dos caules.

Em *R. teres*, o caule mostrou-se ser constituído por epiderme uniestratificada, com cutícula espessa e células retangulares, quando vistas em secção transversal (Fig. 24A,C). Os estômatos apresentaram-se do tipo ciclocítico, com células-guarda circundadas por células subsidiárias (Fig. 24D), e posicionados em leve depressão em relação à superfície epidérmica (Fig. 24D, E). O córtex estava constituído por amplo hidrênquima (Fig. 24A), clorofilado, com traços foliares (Fig. 24B, setas) e idioblastos com drusas (Fig. 24C). O cilindro vascular estava formado por um anel feixes vasculares, caracterizando uma eustele (Fig. 24A). Os feixes vasculares apresentaram-se do tipo colateral, com calota de fibras delimitando externamente o floema (Fig. 24B). Internamente ao cilindro vascular registrou-se a presença de região medular, preenchida por tecido parenquimático (Fig. 24A).

O caule de *L. cruciforme* mostrou-se com forma triangular, em secção transversal (Fig. 25A), decorrente da formação das três expansões laterais (alas) que percorrem o caule longitudinalmente. A epiderme apresentou-se uniestratificada (Fig. 25A, B) e revestida por cutícula espessa (Fig. 25C). Os estômatos estavam posicionados no mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 25C), sendo do tipo ciclocítico (Fig. 25E). O córtex constitui-se de colênquima subepidérmico (Fig. 25C) e hidrênquima (Fig. 25A, B), clorofilado e com feixes de fibras dispersos entre as células do hidrênquima (Fig. 25B – setas). O cilindro central, mesmo em regiões mais jovens, já exibia a presença de estrutura vascular secundária, com anel contínuo de xilema e floema, intercalados por câmbio vascular, e fibras acompanhando externamente o floema (Fig. 25D). A medula mostrou-se composta por células parenquimáticas isodiamétricas (Fig. 25D).

As espécies de *R. teres* e *L. cruciforme*, apresentaram epiderme coberta por cutícula espessa, uma característica da subfamília Cactoideae (Mauseth *et al.* 2002, Calvente *et al.* 2008, Dettke & Milaneze-Gutierrez 2008). Presença de estômatos com arranjo no mesmo nível ou aprofundados em relação às demais células epidérmicas são referidos por Terraza & Arias (2003) para a subfamília Cactoideae, tal

como observado na superfície do caule das duas espécies analisadas. As fibras associadas ao floema são caracteres já registrados para a subfamília Cactoideae (Gibson & Nobel 1986, Loza-Cornejo & Terrazas 2003, Terraza & Arias 2003, Mauseth 2006). O cilindro vascular bem desenvolvido com estruturação secundária é característico de Cactaceae (Mauseth 2006), entretanto, em *R. teres* isto não foi constatado, possivelmente por terem sido usadas amostras caulinares de regiões mais apicais.

O tecido subepidérmico de caules de Cactaceae tem sido descrito como hipoderme colenquimatosa (Gibson & Nobel 1986; Loza-Cornejo & Terrazas 2003). Nos caules adultos de *L. cruciforme* uma camada de células colenquimatosas sob a epiderme, porém isto não foi evidenciado em *R. teres*, talvez pela mesma razão de não constatação de estruturação vascular secundária, podendo em regiões mais distantes do ápice ser evidenciado. O tecido não foi tratado como hipoderme, embora possivelmente corresponda, por não ter sido objeto do presente estudo a ontogênese histológica.



Figura 23. Aspectos morfológicos de espécies de Cactaceae. A. *Rhipsalis teres*, planta adulta em seu hábitat natural. B. Detalhe de caule e frutos de *R. teres*. C. *Lepismium cruciforme*, planta adulta em seu hábitat natural. D. Detalhe de caule e frutos de *L. cruciforme*. Barras: B = 5 cm e C = 1,5 cm;

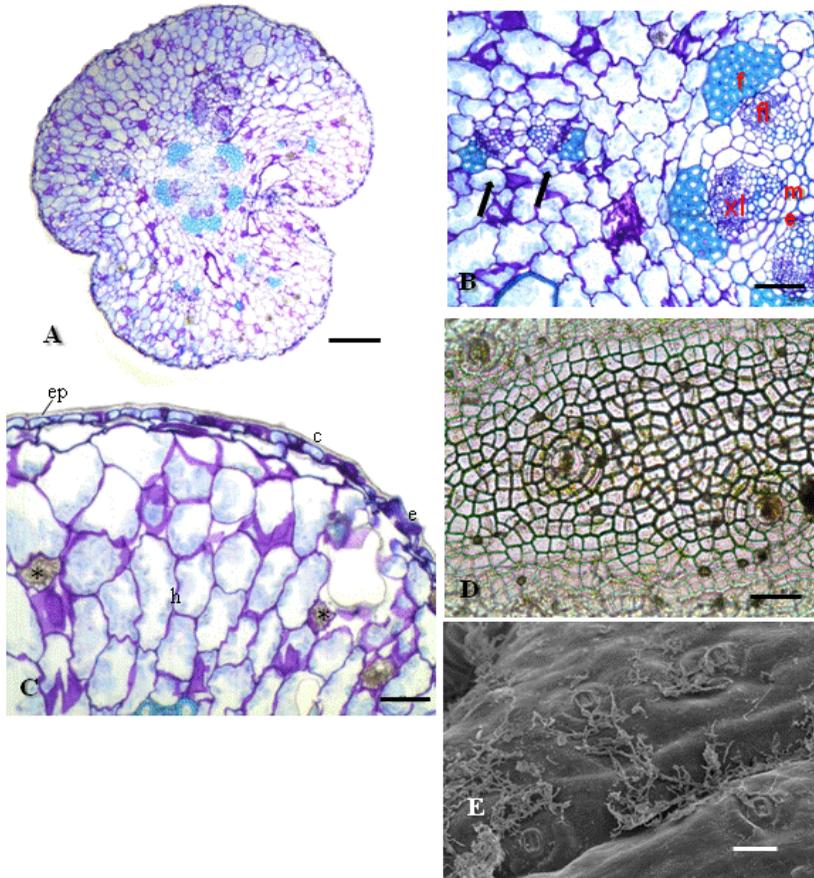


Figura 24. Secções transversais do caule de *Rhipsalis teres*. A. Forma cilíndrica do caule; B. Parte do cilindro vascular e córtex; C. Detalhe da epiderme com presença de estômato e hidrênquima com presença de drusas; D. Secção paradérmica evidenciando estômatos ciclocíticos; E. Vista frontal da epiderme do caule de *Rhipsalis teres*, em Microscópio Eletrônico de Varredura. Legenda: c. cutícula; e. estômato; ep. epiderme; f. fibras; fl. floema; h. hidrênquima; me. medula; xl. xilema; setas. feixes corticais; * (asterisco). drusas. Barras: A = 300 μm ; Barra B, C e D = 100 μm e Barra E = 50 μm .

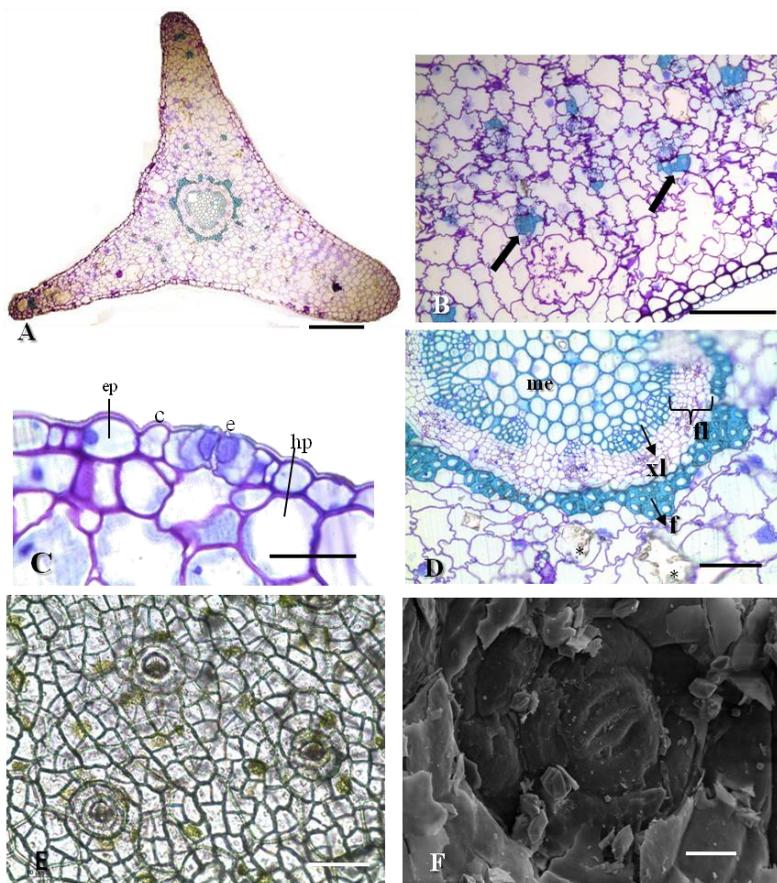


Figura 25. A-D. Seções transversais do caule de *Lepismium cruciforme*, em microscópico óptico. A. Aspecto geral do caule; B. Detalhe dos tecidos periféricos; C. Detalhe da epiderme com presença de estômato no mesmo nível da epiderme; D. Parte do cilindro vascular e córtex; E. Seção paradérmica, em microscópico óptico, evidenciando estômatos ciclocíticos. F. Vista frontal da superfície do caule, em Microscópico Eletrônico de Varredura, com ceras epicuticulares circundando estômato. Legenda: c. cutícula; e. estômato; ep. epiderme; f. fibras; fl. floema; h. hidrênquima; me. medula; xl. xilema; setas. Fibras; * (asterisco). estruturas secretoras de mucilagem; Barras: A = 300 μm ; B, C, D e E = 100 μm e Barra F = 20 μm .

3.7. MORFOANATOMIA COMPARADA DE HIPOCÓTILO E CAULES ADULTOS DE *R. TERES* E *L. CRUCIFORME*

As espécies *R. teres* e *L. cruciforme* apresentaram diferenças morfológicas e anatômicas entre o hipocótilo da plântula e o caule adulto. Por estar na fase inicial do desenvolvimento, não apresenta desenvolvimento de feixes vasculares secundários. A morfologia das plântulas é totalmente diferente com caule adulto. O hipocótilo apresenta-se glabro e curto, sem a presença de aréolas e espinhos como ocorrem em caules de plantas adultas. Também não apresenta colunas ou podários como conhecidos nos caules em Cactaceae. Cactaceae apresenta dimorfismo, produzindo diferentes tipos de anatomia ou morfologia em diferentes estádios de suas vidas. Vários gêneros de Cactoideae apresentam uma mudança de fase morfogênética totalmente diferente do corpo adulto para o corpo juvenil (Mauseth 2006).

Já referente a parâmetros anatômicos, a presença de cutícula espessa em plântulas e caule adulto são características marcantes de Cactaceae. São consideradas características de espécies de ambientes xéricos (Loza-Cornejo & Terrazas 2003, Terrazas & Arias 2003, Mauseth 2006). A presença da cutícula espessa desde a fase de plântula até a fase adulta favorece o equilíbrio hídrico interno, o que também é proporcionado pela presença de hidrênquima.

O tecido de revestimento apresentou epiderme unisseriada tanto em plântulas como em caules adultos das espécies estudadas. Células epidérmicas apresentaram-se com parede periclinal externa convexa, característica comum em Cactaceae (Loza-Cornejo & Terrazas 2003). Conforme autores, a forma da parede celular periclinal convexa na epiderme, ajudam evitar a perda de água, uma vez que aumentam a distância entre o ambiente externo e os tecidos subjacentes. As duas espécies estudadas apresentam estômatos paracíticos nos hipocótilos e paralelocíticos nos caules adultos. Estes dois tipos estomáticos são referidos para espécies de Cactaceae epífitas por Terrazas & Arias (2003) e Mauseth (2006). Cabe, entretanto ressaltar a maior complexidade da estrutura estomática na planta mais desenvolvida, o que deve estar relacionado com uma maior eficiência funcional.

O hipocótilo das plântulas e o caule das Cactaceae epífitas mostram-se suculentos, com presença de hidrênquima clorofilado no córtex (Calvente *et al.* 2008, 2010). Em *R. teres* e *L. cruciforme*, também foi observado hipocótilo suculento e hidrênquima clorofilado na região cortical, confirmando as características em plântulas de Cactaceae epífitas estudadas por outros autores anteriormente. A

forma do hipocótilo entre as espécies estudadas apresentaram-se semelhantes, com formato cilíndrico na região mais basal alargando em direção aos cotilédones na região apical. O caule adulto de *R. teres* apresentou forma cilíndrica, diferente em *L. cruciforme* que apresentou forma trilobada ou colunar como também observado nos estudos de algumas espécies dos gêneros de *Rhipsalis* e *Lepismium* feitos por Mauseth (2006) e Calvente *et al.* (2008). As plântulas *R. teres* e *L. cruciforme* tem a sua forma muito parecidas até os 60 dias de análises de desenvolvimento, porém quando as espécies adultas o caule é totalmente distinto.

O hidrênquima observado na região cortical do hipocótilo e do caule apresentaram formato isodiamétrico, que conforme Taiz & Zeiger (2009), esta forma ajuda a captura melhor a luz difusa de através da reflexão e refração dentro dos tecidos e aumentar as chances de absorção. Observou-se que a suculência dos tecidos estão ligados ao armazenamento de água e a presença de cutícula com a proteção contra a perda de água tanto em plântulas quanto em caules dos indivíduos adultos de *R.teres* e *L.cruciforme*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresentou diferença em padrões estratégicos germinativos das sementes de Cactaceae epífitas. As sementes de *Rhipsalis neves-armondi* e *R. teres* levaram mais tempo para germinar apenas em água que sementes de *Lepismium cruciforme*. Já em germinação em meios de cultivo as sementes de *L. cruciforme* germinaram mais rapidamente. O presente estudo confirmou que a água promove a germinação destas espécies de Cactaceae, mas há a necessidade da transferência das plântulas para um meio nutritivo ou substrato para o desenvolvimento.

Nas espécies de Cactaceae epifíticas estudadas, tanto hipocótilos como caules de plantas adultas apresentam características típicas de Cactaceae, destacando-se a presença de cutícula espessa e amplo hidrênquima no córtex, características importantes para a economia hídrica destas espécies.

REFERÊNCIAS

- Abreu, D.D.S de. 2008. Germinação e Morfo-Anatomia do desenvolvimento em *Melocactus ernestii* Vaupel e *M. Paucispinus* Heimen & R.J. Paul (Cactaceae). **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. p. 1-18.
- Abud, H.F., Gonçalves, N.R., Pereira, M.S., Pereira, D.S., Reis, R.G.E & Bezerra, A.M.E. 2012. Germination and morphological characterization of the fruits, seeds, and seedlings of *Pilosocereus gounellei*. **Brazilian Journal of Botany** **35**:11-16.
- Almeida, O.J.G. de; Paoli, A.A.S.; Souza, L.A. & Hugo Cota-Sánchez, J.H. 2013. Seedling morphology and development in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae: Hylocereeae). **Journal of the Torrey Botanical Society** **140**: 196–214.
- Almeida, O.J.G. de; Souza, L.A. de & Moscheta, S.I. 2009. Morfoanatomia da plântula de indivíduos somaclones de *Cereus hildmannianus* Schumann (Cactaceae). **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe Cactáceas y otras Suculentas** **6**: 29-35.
- Alquini, Y., Bona, C., Boeger, M.R.T., Costa, C.G. & Barra, C.F. 2006. In: Apezatto-da-Glória, B. & Carmello-Guerreiro, S.M.(eds.). Caule. **Anatomia Vegetal**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- Anderson, E.F. 2001. **The Cactus Family**. Timber Press. Oregon, USA.
- Arruda, E., Melo-de-Pinna, G.F., & Alves, M. 2005. Anatomy of the vegetative organs of Cactaceae of the caatinga from Pernambuco. **Brazilian Journal of Botany** **28**: 589-601.
- Barbedo, C.J., Bilia, D.A.C. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. 2002. Tolerância a dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Revista Brasileira de Botânica** **25**: 431-439.
- Barber, J. & Anderson, B. 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. **Trends in Biochemical Science** **17**: 61-66.
- Barthlott, W. & Hunt, D.R. 1993. In: K. Kubitzki, J.G. Rohwer & V. Bittrich (eds.). Cactaceae. The families and genera of vascular plants. Flowering plants. **Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families**. Springer-Verlag, Berlin, p. 161-197.

Barthlott, W. & Hunt, D.R. 2000. In: Hunt, D. (ed.). Seed-diversity in the Cactaceae subfam. Cactoideae. **Succulent Plant Research**. Milborne Port ,England.

Barthlott, W. 1983. Biogeography and evolution in Neo and Paleotropical Rhipsalinae (Cactaceae). **Dispersal and Distribution: An International Symposium, Sonderbande des Naturwissenschaftlichen Vereins, Hamburg 7**: 241–248.

Barthlott, W., & Taylor, N. P. 1995. Notes towards a monograph of Rhipsalideae (Cactaceae). Notas hacia una monografía de Rhipsalideae (Cactaceae). **Bradleya 13**: 43-79.

Bartke, S. 2012. Epiphytes: a study of the history of forest canopy research. **The Plymouth Student Scientist 5**: 253-268.

Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 2001. Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. **Nordic Journal of Botany 20**: 598.

Beck, C.B. 2005. **An Introduction to Plant Structure and Development**: Plant Anatomy for the Twenty-First Century. Cambridge University Press. Cambridge. UK.

Benzing, D.H. 1990. **Vascular Epiphytes: General biology and related biota**. Cambridge, Cambridge University Press.

Benzing, D.H. 2000. **Bromeliaceae: profile of na adaptative radiation**. Cambridge University Press. New York.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry 72**: 248-254.

Brasil. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS.

Bregman, R. & Bouman, F. 1983. Seed germination in Cactaceae. **Botanical journal of the Linnean Society 83**: 357-374.

Calvente, A.; Regina, H.P.; Andreato, R.H.P. & Vieira, R.C. 2008. Stem anatomy of *Rhipsalis* (Cactaceae) and its relevance for taxonomy. **Plant Systematics and Evolution 276**: 1–7.

- Calvente, A.M. 2010. Filogenia molecular, evolução e sistemática de *Rhipsalis* (Cactaceae). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Cenizo, V.J., Mazzola M.B., Corró Molas, B.M. & Kin, A.K. 2013. Características morfológicas y anatómicas de las plântulas de *Trichocereus candicans* (Cactaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 48** : 443-451. Editor: Joshua L. Heazlewood, Lawrence Berkeley.
- Cota-Sanchez, J.H. & Abreu D.D. 2007. Vivipary and offspring survival in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). **Journal of Experimental Botany 58**: 3865–3873.
- De La Barrera, E. & Nobel, P.S. 2003. Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis*. **Journal of Arid Environments 5**: 297-306.
- desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). Maringá. **Acta Scientiarum. Biological Sciences 25**: 415-428.
- Dettke, G.A., & Milaneze-Gutierrez, M. A. 2008. Anatomia caulinar de espécies epífitas de Cactaceae, subfamília Cactoideae. **Hoehnea 35**: 583-595.
- Dickson, W.C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Academic Press. London, UK.
- Eggl, U. 1984. Stomatal types of Cactaceae. **Plant Systematics and Evolution 146**: 197- 214.
- Erwin, J. 2009. Cacti: Studies on introducing a new group of ornamental plants. **Acta Horticulturae 813**: 359-364.
- Farias, V.F.S. 2013. Avaliação do desenvolvimento, qualidade e capacidade antioxidante em brotos de palma (*Opuntia sp.*) para o consumo humano. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Campina Grande. Paraná.
- Flores, J.; Jurado,E. & Jiménez-Bremont, J.F. 2008. Breaking seed dormancy in specially protected *Turbinicarpus lophophoroides* and *Turbinicarpus pseudopectinatus* (Cactaceae). **Plant Species Biology 23**: 43-46.
- Gallegos-Vázquez, C.; Scheinvar, L.; Núñez-Colín, C.A., & Mondragón-Jacobo, C. 2012. Morphological diversity of xocostles

(*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: a Mexican contribution to functional foods. **Fruits** **67**: 109-120.

Garcia, S.L.F.P. 2011. Morfologia funcional de duas espécies epífitas de Cactaceae. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal Do Paraná. Paraná.

Gibson, A.C. & Nobel, P.S. 1986. **The cactus primer**. Haward University Press, Cambridge.

Godínez-Álvarez, H., Valverde, T. & Ortega-Baes, P. 2003. Demographic trends in the Cactaceae. **The Botanical Review** **69**: 173-203.

Griffith, M.P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New Molecular Evidence. **American Journal of Botany** **91**: 1915–1921.

Hoppe, J. M., Genro, C.J.M., Vargas, C.O., Floriano, E.P, Reis, E.R., Fortes, F.O., Müller, I., Farias, J.A., Calegari, L. & Dacosta, L.P.E. 2004. **Produção de sementes e mudas florestais**. Caderno Didático 1. Santa Maria, Rio Grande do Sul. Brasil.

Horridge, G.A. & Tamm, S.L. 1969. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science** **163**: 817-818.

Hunt, D.; Taylor N. & Charles, G. 2006. **The new cactus lexicon**. DH Books, Milborne Port.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. & Donoghue, M.J. 2009. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Editora Artmed. Porto Alegre, RS.

Klein, R.M. 1979. Ecologia da Flora e Vegetação do Vale do Itajaí. Itajaí, SC. **Sellowia** **31**: 11-164.

Kress, W.J. (1986). The systematic distribution of vascular epiphytes: An update. **Selbyana** **9**: 2–22.

Lambers, J., Chapin, F.S. & Pons, T.L. 1998. **Plant physiological ecology**. Springer Verlag. New York.

Leal, L., Biondi, D., & Nunes, J.R.S. 2007. Propagação por sementes de *Schlumbergera truncata* (Haw.) Moran (flor-de-maio) em diferentes substratos. Acta Scientiarum. **Biological Sciences** **29**: 277-280.

- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembrane. **Methods in Enzymology** **148**: 350-382.
- Lone, A.B.; Molo, C.X.; Takahashi, L.S.A. & Unemoto, L.K. 2009. Seeds germination of *Rhipsalis* in different substrates. **Scientia Agrária** **10**: 419 -422.
- Lone, M., Kungl, T., Koper, A., Bottenberg, W., Kammerer, R., Klein, M. & Prokop, A. (2010). The nuclear protein Waharan is required for endosomal-lysosomal trafficking in *Drosophila*. *Journal of cell science*, 123(14), 2369-2374.
- Loza-Cornejo, S. & Terrazas, T. 2003. Epidermal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). **Journal of Plant Research** **116**: 27-35.
- Loza-Cornejo, S., Terrazas, T., López-Mata, L. & Trejo, C. 2003. Características morfo-anatómicas y metabolismo fotosintético en plántulas de *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae): su significado adaptativo. **Interciencia** **28**: 83-89.
- Lüttge, U. 1997. **Physiological ecology of tropical plants**. Springer, New York.
- Marcos, F.J. 2005. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba, Brasil.
- Martin, A.C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. **The American Midland Naturalist Journal** **36**: 513-660.
- Martins, L.S.T. 2007. Germinação de sementes de *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byl. & Row (Cactaceae) de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- Mauseth, J. D. 1999. Anatomical adaptations to xeric conditions in *Maihuenia* (Cactaceae), a relictual, leaf-bearing cactus. **Journal of Plant Research** **112**: 307-315.
- Mauseth, J.D. 1993. Medullary bundles and the evolution of cacti. **American Journal of Botany** **80**: 928-932.
- Mauseth, J.D. 1998. **Plant anatomy**. The Benjamin.Cummings Publishing Company, Inc. Menlo Park, California. USA.
- Mauseth, J.D. 2006. Structure-Function Relationships in Highly Modified Shoots of Cactaceae. **Annals of Botany** **98**: 901-926.

Mauseth, J.D.; Kiesling, R. & Ostolaza, C.N. 2002. **A Cactus Odyssey. Journey in the Wilds of Bolivia, Peru, and Argentina.** Timber Press. Oregon, USA.

Nobel, P.S. 2002. **Cacti: biology and uses.** University of California, Berkeley, California, USA.

Nunes, C.S. 2011. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. **Revista Verde 6:** 58-66.

O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E. 1964. Polyehromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma 59:** 368-373.

Ortega-Baes, P. & Rojas-Aréchiga, M. 2007. Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): light, temperature and gibberellic acid effects. **Journal of Arid Environments 69:** 169-176.

Padrón-Pereira, C.A.; Moreno-Álvarez, M.J.; Montes-Hernández, A.I. & Oropeza-González, R.A. 2009. Obtention of enzymatically hydrolyzed flour from epiphytes cactus phyllocladia (*Epiphyllum hookeri* (Link and Otto) Kimm.). **African Journal of Food Science 3:** 262-269.

Randi, A.M. & Felipe, G.M. 1988c. Mobilization of storage reserves during *Cyathea delgadii* spore germination. **The Botanical Magazine, Tokyo 101:** 529-532.

Reis, M.V.; Pêgo, R.G.; Oliveira Paiva, P.D.; Artioli-Coelho, F.A. & Paiva, R. 2012. Germinação *in vitro* e desenvolvimento pós-seminal de plântulas de *Pilosocereus aurisetus* (Werderm.) Byles & G.D. Rowley (Cactaceae). Viçosa. **Ceres 59:** 739-744.

Rojas-Aréchiga, M. & Vázquez-Yanes, C. 2000. Cactus seed germination: a review. Instituto de Ecologn & a, UNAM, México. **Journal of Arid Environments 44:** 85-104.

Rosa, S.M. & Souza, L.A. 2003. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum 25:** 415-428.

Sajo, M.G. & Castro, N.M. 2006. In: Apezzato-da-Glória, B. & Carmello-Guerreiro, S.M.(eds.). Caule. **Anatomia Vegetal.** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.

Scheinvar, L. & Klein, R.M. 1985. In: R. Reitz, Cactáceas. **Flora Ilustrada Catarinense.** HBR. Itajaí.

- Secorun, A.C. & Souza, L.A. de. 2011. Morphology and anatomy of *Rhipsalis cereuscula*, *Rhipsalis floccosa* subsp. *hohenauensis* and *Lepismium cruciforme* (Cactaceae) seedlings. **Revista Mexicana de Biodiversidad** **82**: 131-143.
- Simão, E., Socolowski, F. & Takaki, M. 2007. The epiphytic Cactaceae *Hylocereus setaceus* (Salm-Dick ex DC.) Ralf Bauer seed germination is controlled by light and temperature. **Brazilian Archives of Biology and Technology** **50**: 655-662.
- Souza, L.A. & Oliveira, J.H.G. 2004. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex Dc.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences** **26**: 217-226.
- Souza, L.A. 2003. **Morfologia e Anatomia Vegetal** (Célula, tecidos, órgãos e plântula). Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.
- Souza, L.A. 2009. Morfologia da plântula e do tirodendro. **Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação**. In: Souza, L.A.(org.). Toda Palavra. Ponta grossa, PR.
- Souza, L.A., Moscheta, I.S., Mourão, K.S.M., Albiero, L.M., Montanher, D.R. & Paoli, A.A.S. 2009. Morfologia da plântula e do tirodendro. **Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação**. In: Souza, L.A.(org.). Toda Palavra. Ponta grossa, PR.
- Souza, V.C., & Lorenzi, H. 2005. **Botânica sistemática**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2009. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 4° ed.
- Taylor, N.P. & Zappi, D.C. 2004. **Cacti of Eastern Brazil**. **Royal Botanic Gardens**. Kew. UK.
- Terrazas, S.T.& Mauseth, J.D. 2002. Shoot anatomy and morphology. In: Nobel, P.S. ed. **Cacti: biology and uses**. University of California, Berkeley, California, USA.
- Terrazas, T. & Arias, S. 2003. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. **The Botanical Review** **68**: 444 – 473.

Wallace, R.S. & Gibson, A.C., in Nobel P.S. 2002. Evolution and Systematics, ed. **Cacti: biology and uses**. University of California. Press, Berkeley, California, USA.

Zaidan, L.B.P. & Barbedo, C.J. 2004. Quebra de dormência em sementes. In: Ferreira, A.G. & Borghetti, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Artmed.Porto Alegre.

Zappi, D., Taylor, N., Ribeiro-Silva, S., Machado, M., Moraes, E.M. de, Calvente, A., Cruz, B., Correia, D., Larocca, J., Assis, J.G., Aona, L., Menezes, M.O.T. de, Meiado, M., Marchi, M.N., Santos, M.R., Bellintani, M., Coelho, P., Nahoum, P.I & Resende, S. 2011. **Plano de ação nacional para a conservação das Cactáceas**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Icmbio.