

Ensaio para a propagação *in vivo* e *in vitro* de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*)¹

Karina Mayumi Higa², Claudimar Sidnei Fior³, Lia Rosane Rodrigues²

Resumo – Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) é uma cactácea escandente de grande porte, nativa em regiões tropicais e subtropicais do continente americano, desde a Flórida até o norte da Argentina. É importante recurso genético, apresentando múltiplos empregos na culinária brasileira, no paisagismo e na fitoterapia popular. A fim de testar a resposta morfogênica, experimentos de propagação *in vivo* e *in vitro* foram executados. Inicialmente, foi testado o enraizamento de três tipos de estacas de ramos, em três substratos, na ausência e na presença de nebulização intermitente. Após 17 dias, 91 % das estacas enraizaram, sem efeito significativo dos tratamentos sobre o número e o comprimento de raízes e a formação de gemas na parte aérea. Em seguida, sementes foram estabelecidas em substrato e *in vitro*. Posteriormente, foram testadas as condições para multiplicação e enraizamento em meio de cultivo *in vitro* e para aclimatização. A multiplicação *in vitro* foi significativamente superior em meio com 1 mg BAP L⁻¹ e o enraizamento viabilizou-se na ausência de fitorreguladores. Após seis meses de subcultivos, as plantas foram aclimatizadas com sucesso, apresentando 100 % de sobrevivência, com maior desenvolvimento sob nebulização. A espécie apresentou bom potencial morfogênico e condições para a propagação vegetativa foram definidas.

Palavras-chave: semente, micropropagação, estaquia.

Assays to *in vivo* and *in vitro* propagation of Barbados gooseberry (*Pereskia aculeata*)

Abstract – Barbados gooseberry (*Pereskia aculeata* Miller) is a woody cactaceous and scandent large-sized species, native in tropical and subtropical american zones, since Florida until Argentina. Is an important genetic resource, presenting multiple uses in Brazilian culinary, in landscaping and in the popular phytoterapy. In order to test morphogenic response in the *in vivo* e *in vitro* propagation, experiments was executed. Firstly, it was tested rooting from three types of cuts in three substrates with and without intermittent nebulization. After 17 days, 91 % of the cuts formed roots and no significant effects were recorded among treatments in root number, root length and shoot number in the aerial part. Next, seeds were established in substrate and *in vitro*. Subsequently, conditions to *in vitro* multiplication and rooting and to acclimatization were tested. *In vitro* multiplication was significantly higher in 1 mg BA L⁻¹ and *in vitro* rooting occurred in medium without phyto regulator. After six months in subcultures, the plants were successfully acclimatized with 100 % of survival, with greater development under nebulization. The species presents high morphogenic potential and conditions to vegetative propagation were recorded.

Key words: seed, micropropagation, cutting.

¹ Trabalho executado pelo convênio 020.122.2008 entre Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul e Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro) no período 2008-2011. Manuscrito recebido em 15/12/2011 e aceito para publicação em 05/09/2012.

² Fepagro. Rua Gonçalves Dias, 570, CEP: 90130-060, Porto Alegre, RS, lia-rodrigues@fepagro.rs.gov.br

³ Jardim Botânico, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. Rua Dr. Salvador França, 1427, CEP 90690-000, Porto Alegre, RS.

Introdução

Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller, Cactaceae) ocorre nativa em regiões tropicais e subtropicais do continente americano, desde a Flórida até o norte da Argentina (LEUENBERGER, 1986; MORAN e ZIMMERMANN, 1991). Trata-se de uma cactácea de aspecto atípico, com ramos escandentes longos e com espinhos. Apresenta folhas elípticas, planas e carnosas e flores abundantes, de pétalas branco-creme (BOKE, 1966). É denominada popularmente como ora-pro-nobis, carne de pobre, trepadeira limão, groselha de barbados e mori, dentre outros nomes (KINUPP, 2007). Tem amplo emprego na culinária brasileira e na fitoterapia popular e também tem uso ornamental. No Brasil, as folhas são aplicadas sobre inflamações e tumores devido às propriedades emolientes (MORTON, 1987).

O estudo da espécie justifica-se por vários aspectos. Um deles é a condição de ameaça de extinção no estado do Rio Grande do Sul, na categoria vulnerável (Rio Grande do Sul, 2002). Outro aspecto é o caráter invasor que a espécie apresenta na ausência dos inimigos naturais das regiões de origem, conforme amplamente estudado no continente africano (MORAN e ZIMMERMANN, 1991).

O cultivo sustentável de *P. aculeata* depende da conservação e da identificação da diversidade genética disponível na espécie. Uma vez que a propagação é uma etapa inicial essencial para a pesquisa de uma espécie em tal condição, uma sequência de estudos foi conduzida com o objetivo de testar o potencial morfogênico, tanto *in vivo*, a partir de sementes e estacas de ramos, quanto *in vitro*, a partir de sementes e brotações geradas em meio de cultivo.

Material e Métodos

Os trabalhos foram conduzidos nos laboratórios do Banco de Sementes do Jardim Botânico da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (JB/FZB) nos períodos de outubro de 2008 a setembro de 2010. Frutos e ramos foram colhidos de um dos dois exemplares disponíveis no parque do JB/FZB (latitude 30°03'S e longitude 51°10'W) (Figura 1A). O clima é classificado como Cfa, segundo a classificação de Köppen, com temperatura média anual de 19,5 °C. A precipitação média anual do local é de 1300 mm, bem distribuídos ao longo do ano.

No período primaveril de desenvolvimento vegetativo da planta matriz, porções terminais de, aproximadamente, 50 cm dos ramos foram coletadas,

lavados com escova macia e detergente, sob água corrente e cortadas para formar três tipos de estacas de, aproximadamente, 15 cm, denominadas conforme a posição no ramo original: apical, intermediária e basal (Figura 1B). Para evitar a desidratação dos tecidos, a preparação das estacas foi feita mediante frequentes aspersões de água destilada. Foram testados três substratos em células de 120 cm³ de dois canteiros móveis de poliestireno expandido, cada um com 72 células: areia lavada, casca de arroz carbonizada e pó de coco. Em cada célula, foi inserida uma estaca, tendo seu terço basal imerso no substrato. Os canteiros foram mantidos em uma casa de vegetação com 70 % de sombreamento. Um dos canteiros recebeu inicialmente nebulização com ciclos de irrigação de 15 seg a cada 1 h 30 min nos primeiros sete dias e o outro uma rega manual diária, no período da manhã. Passados sete dias, ambos foram mantidos apenas sob rega manual diária.

Após 40 dias, três células foram sorteadas por combinação de tratamentos (duas condições de nebulização x três tipos de estaca x três substratos) para amostragem das suas estacas visando à avaliação de massa fresca e massa seca, em gramas, contagem de estacas vivas e enraizadas, contagem do número de raízes e de brotações na parte aérea (gemas) e comprimento das raízes, em mm. A avaliação foi feita por amostragem por posição das células, por requerer a destruição de 54 amostras.

Ao final do inverno, frutos maduros foram coletados e divididos em dois lotes, sendo o primeiro processado no dia seguinte e o segundo armazenado por 5 dias a 12,5±1,5 °C. De cada lote, foram tomadas 39 sementes com morfologia típica e submetidas à desinfestação (lavagem com detergente em água corrente, imersão em etanol 70 % por 1 min e em NaOCl 1 % por 10 min) e triplo enxágue em água destilada autoclavada. Em câmara de fluxo estéril, 18 sementes foram estabelecidas individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) diluído a 50 %, sem fitorreguladores, com 30 g sacarose e 7 g ágar L⁻¹ e pH 5,8, os quais foram mantidos em sala climatizada (fotoperíodo de 16 h a 1600 lux, temperatura 27±1 °C) e avaliado aos 14, 28 e 42 dias. As outras 21 sementes foram estabelecidas em vasos contendo 250 mL de mistura de casca de arroz carbonizada e solo orgânico esterilizados por autoclavagem (1:1, v:v). Os vasos foram mantidos em casa de vegetação a temperatura ambiente, sob sistema de gotejamento e avaliado aos 14 e 28 dias. Dos dois lotes *in vitro* e *in vivo*, foram avaliadas as variáveis: proliferação de fungos, número

de sementes germinadas (*in vitro*) e emergidas (*in vivo*), medida da raiz e da parte aérea, em mm. Cada variável foi medida em todos os recipientes de sementeira.

Sementes frescas foram avaliadas quanto ao teor de água, determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C, durante 24 h, utilizando-se três repetições de, pelo menos, 1 grama de sementes (BRASIL, 1992).

Para o experimento de micropropagação, foram empregados segmentos nodais das plantas germinadas e subcultivadas em meio MS diluído a 50 % por 81 dias. Em câmara de fluxo estéril, a parte aérea dessas plântulas foi fracionada em segmentos nodais, contendo uma gema, com comprimento de 10 a 12 mm. Um total de 80 segmentos nodais foram estabelecidos em duplas em frascos *snap cap* contendo 33 mL de meio MS diluído a 50 % com 30 g sacarose e 7 g ágar L⁻¹ e pH 5,8. Os tratamentos foram variações na concentração das citocininas 6-benzilaminopurina (BAP) e 6-furfurilaminopurina (KIN) (0 = controle; 0,1 mg BAP; 0,1 mg KIN; 1 mg BAP e 1 mg KIN L⁻¹). O delineamento experimental foi completamente casualizado com oito frascos por tratamento, cada um contendo dois explantes. O experimento foi mantido em sala climatizada, nas condições já descritas. Aos 60 dias, foram avaliados a presença de contaminantes, o número de brotações e a presença de raízes. As plantas formadas foram mantidas *in vitro* e subcultivadas.

Para o experimento de aclimatização, foram selecionadas 120 plantas subcultivadas três a quatro vezes durante seis meses no meio MS diluído a 50 % com 30 g sacarose e 7 g ágar L⁻¹ e pH 5,8, sem fitorreguladores. As plantas foram removidas inteiras dos frascos, lavadas para remoção do meio de cultivo aderido às raízes, e separadas em 40 trios de tamanho similar para igual distribuição em três canteiros móveis de poliestireno expandido, com 40 células de 120 cm³ preenchidas com casca de arroz carbonizada esterilizada e umedecida. Os tratamentos foram 0, 7 e 14 dias de nebulização intermitente, conforme descrito acima, em delineamento experimental completamente casualizado, mantidos em casa de vegetação, no período de 11 a 28 de janeiro. Aos 17 dias, foram avaliadas as variáveis: número de plantas vivas, número de folhas por planta, comprimento da parte aérea e das raízes, em mm. As temperaturas e a umidade do ar do período foram registradas.

Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva, aos testes de normalidade e de igualdade da variância e à análise da variância paramétrica. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 % de probabilidade de erro.

Resultados

No acompanhamento da estaquia, observou-se que foram necessários 40 dias para a resposta definitiva aos tratamentos, ainda que as avaliações tenham sido feitas desde o vigésimo dia. Por isso, os dados avaliados aos 40 dias foram submetidos às análises estatísticas. Aos 20 dias, 6 % das estacas apresentavam apodrecimento a partir da base ou fungos saprófitos na parte aérea. Aos 40 dias, as estacas atacadas por fungos já estavam mortas.

Após 40 dias, 91 % das estacas apresentaram uma média de seis raízes com comprimento médio de 9 mm, variando 1 a 26 mm. Plantas vigorosas foram formadas a partir dessas estacas.

No canteiro que não recebeu nebulização, 100 % das estacas apicais, 67 % das estacas intermediárias e 89 % das estacas basais estavam enraizadas. No canteiro que recebeu nebulização por sete dias, 100 % das estacas apicais, 89 % das estacas intermediárias e 100 % das estacas basais estavam enraizadas. A análise de variância não detectou efeito significativo dos tratamentos sobre as variáveis mensuradas (Tabela 1) indicando que o número e o comprimento de raízes, bem como a formação de gemas na parte aérea, ocorreram independentemente da nebulização, do tipo de estaca e do substrato. O enraizamento de estacas apicais destacou-se por ocorrer em 100 % das amostras.

A massa fresca das estacas apicais correspondeu a 41 % da massa das estacas intermediárias e basais na instalação do experimento. A massa fresca das estacas apicais aumentou de 0,9 g para 1,3 g aos 20 dias e para 1,6 g aos 40 dias. Já a massa fresca de estacas intermediárias e basais não aumentou até o 20º dia, o que sugere uma translocação dos nutrientes do ramo para a formação de raízes nessas estacas.

A propagação de ora-pro-nobis foi viabilizada de modo satisfatório pela estaquia, independentemente do tipo de estaca, do substrato e da nebulização na fase inicial, uma vez que não houve diferença significativa entre tratamentos, sendo a média de 91 % de estacas enraizadas.

Em relação às sementes, foi determinado o teor de água $63,81 \pm 0,97$ %. Uma elevada proporção de sementes germinou de modo satisfatório, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, não sendo registrados efeitos do armazenamento de frutos por 5 dias a $12,5 \pm 1,5$ °C, por isso, os percentuais de germinação e emergência de ambos os lotes são apresentados conjuntamente na Tabela 2.

Após 14 dias, 81 % das sementes germinaram *in vitro* (sendo 89 % do lote 1 e 72 % do lote 2) e 93 %

Tabela 1. Análise estatística descritiva e de variância do desenvolvimento de estacas de três porções de ramos terminais de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) após 40 dias em três substratos (areia lavada, casca de arroz carbonizada e pó de coco), com e sem nebulização intermitente. Porto Alegre, 2010.

	Gemmas		Raízes	
	(número)	Comprimento médio (mm)	Número	
Média	1,608	10,073	6,020	
Desvio padrão	0,874	4,991	2,963	
Amplitude	0 a 4	0 a 26	0 a 14	
Transformação	Raiz(x+2)	Raiz(x+2)	Raiz(x+2)	
Significâncias:				
Blocos (nebulização)	0,2250	0,6059	0,7942	
Tipo de estaca	0,2953	0,0317	0,3534	
Substrato	0,5285	0,2901	0,5798	
Interação estaca x substrato	0,7704	0,1753	0,9447	
Coeficiente de variação	13,39	25,23	24,42	

Tabela 2. Germinação/emergência de sementes e características das plântulas de *Pereskia aculeata* *in vitro*, em meio de cultivo MS diluído a 50 %, e *in vivo*, em vasos contendo substrato constituído de casca de arroz carbonizada e solo orgânico em iguais proporções. Porto Alegre, 2009.

Condição	Percentual de germinados/emergidos			Comprimento da parte aérea (mm)			Comprimento de raízes (mm)		
	Lote 1	Lote 2	Média	Lote 1	Lote 2	Média	Lote 1	Lote 2	Média
14 dias									
In vitro	89	72	81	7,6	5,0	6,3	6,5	2,2	4,4
In vivo	90	95	93	17,0	23,9	20,4	22,1	26,5	24,3
28 dias									
In vitro	100	100	100	27,0	25,1	26,1	44,3	29,3	36,8
In vivo	100	95	98	39,7	39,6	39,7	59,0	58,7	58,9

germinaram em substrato (sendo 90 % do lote 1 e 95 % do lote 2). Após 28 dias, 100 % das sementes germinaram *in vitro* (em ambos os lotes) e 98 % germinaram em substrato (sendo 100 % do lote 1 e 95 % do lote 2). Ao final de 28 dias *in vitro*, as plântulas formaram parte aérea com comprimento médio de 26 mm e raízes de comprimento médio 37 mm. A desinfestação das sementes não foi totalmente eficiente, pois houve contaminação fúngica em quatro do total de 36 sementes *in vitro*.

In vivo, o desenvolvimento vegetativo foi maior, pois as plântulas formaram parte aérea com comprimento médio de 40 mm e raízes com 59 mm após 28 dias. Dessa forma, a emergência em substrato permitiu a obtenção de mudas mais desenvolvidas em menor tempo, as quais atingiram altura aproxi-

mada de 40 cm, com condições de transferência para campo, após seis meses. Por outro lado, a germinação *in vitro* permitiu a obtenção rápida de tecidos vegetais para experimentos de multiplicação. Após 28 dias, 98 % das sementes *in vivo* e 100 % das sementes *in vitro* originaram plantas completas.

No experimento de micropropagação (Figura 1C), os segmentos nodais emitiram de zero a três brotações após 60 dias em meio MS diluído a 50 % com variações nas citocininas (Tabela 3). A presença e a concentração de citocininas teve efeito significativo sobre o número de ramos emitidos por segmento nodal ($P < 0,001$) e sobre o número de segmentos nodais que emitiram raízes ($P = 0,004$). A proporção de segmentos nodais que emitiu raízes foi significativamente superior na ausência de fitoreguladores.

Tabela 3. Formação de brotos e raízes em segmentos nodais de *Pereskia aculeata* em meio de cultivo MS diluído a 50 % na ausência de fitoreguladores (controle) e com duas concentrações de duas citocininas após 60 dias. Porto Alegre, 2010.

Citocininas (mg L ⁻¹)	Brotações (número)	Número por Segmento	Raízes				Comprimento (mm)
			% nas categorias (mm)				
			≤5	5-10	10-20	>20	
Controle	1,50 b	0,69 a	12	6	47	35	29
0,1 KIN	1,19 b	0,56 ab	18	12	18	52	21
1 KIN	1,25 b	0,63 b	17	0	8	75	23
0,1 BAP	0,94 b	0,13 b	0	0	7	93	24
1 BAP	2,25 a	0,00 b	8	4	17	71	26
Média Geral	1,43		11	5	20	64	25

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan (5 %).

Tabela 4. Desenvolvimento de plantas de *Pereskia aculeata* após 17 dias *ex vitro* com 0, 7 e 14 dias de nebulização intermitente. Porto Alegre, 2010.

Dias sob nebulização intermitente	Número de folhas	Altura da parte aérea (mm)	Comprimento das raízes (mm)
0	11 b	50 b	71
7	13 ab	61 ab	83
14	14 a	68 a	88
Média	12	60	81
Coeficiente de variação	16,3	20,3	36,5
Significância de blocos	0,044	<0,001	0,273
Significância de tratamentos	0,030	0,012	0,431

O cultivo de segmentos nodais em presença de 1 mg BAP L⁻¹ favoreceu significativamente a formação de brotações, sendo que as demais concentrações de citocininas não induziram resposta diferente da obtida no meio controle. Em contraste, a presença de BAP desfavoreceu a formação de raízes e, na concentração mais elevada, impediu a rizogênese.

Após a avaliação e transferência para meio MS diluído a 50 % sem fitoreguladores, não foi registrada diminuição da taxa de multiplicação dos explantes mediante os subcultivos *in vitro*, ou seja, o potencial morfogênico das células de *P. aculeata* não reduziu após quatro ou cinco transferências.

Após seis meses *in vitro*, as plantas foram aclimatizadas com sucesso, apresentando 100 % de sobrevivência, com maior desenvolvimento ve-

getativo sob nebulização intermitente (Tabela 4). Ao final de 17 dias *ex vitro*, apresentavam 12±3 folhas, 60±2 mm de parte aérea e 81±3 mm de raízes e, em seis meses, desenvolvimento suficiente para transferência para campo (Figura 1D).

Discussão

Plantas do gênero *Pereskia* têm metabolismo fotossintético ancestral do tipo C₃, diferentemente das demais Cactaceae que apresentam padrão CAM típico (ALTESOR et al., 1992). A campo, apresentam rápido desenvolvimento vegetativo escandente. Na ausência de inimigos naturais, podem tornar-se invasoras agressivas, tanto de ecossistemas naturais, quanto de culturas agrícolas, conforme registrado na África do Sul no século XX (MORAN

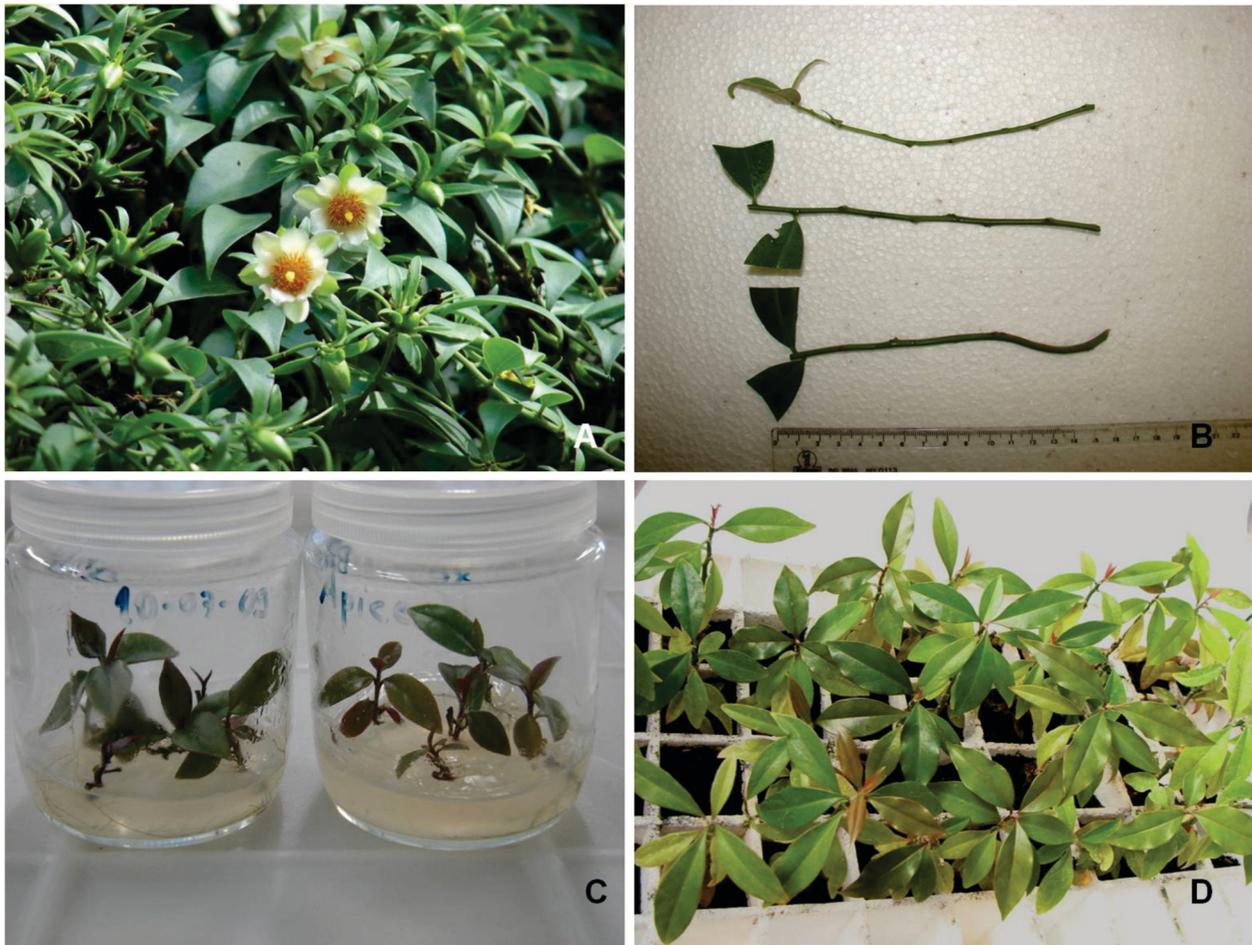


Figura 1. A. Exemplar do qual foram coletados frutos e ramos, florescendo em março de 2009. B. Aspecto dos três tipos de estacas, prontas para inserção no substrato: apicais (acima), intermediária e basal (abaixo). C. Multiplicação de segmentos nodais *in vitro*. D. Plantas aclimatizadas após seis meses em casa de vegetação.

e ZIMMERMANN, 1991). Neste trabalho, o desenvolvimento vegetativo vigoroso foi confirmado sob cultivo protegido.

A capacidade dos ramos de formarem raízes já é consagrada para a produção de mudas de orá-pro-nobis (LORENZI e SOUZA, 1999; KINUPP, 2007). Entretanto, ainda não tinha sido dimensionada a proporção de ramos que efetivamente originam novas plantas. O enraizamento de 100 % das estacas apicais pode se explicar pela maior presença de auxinas endógenas nas porções finais dos ramos, as quais acionam a rizogênese, e pela alta capacidade fotossintética dos tecidos mais jovens (HARTMANN et al. 2002; TAIZ e ZEIGER, 2004). Apesar de apresentarem menor massa fresca de parte aérea inicial (0,9 g), apenas as estacas apicais tiveram ganho de massa simultâneo à formação de raízes, indicando grande potencial morfológico e síntese de reservas nas porções apicais

dos ramos, típico de Cactaceae (RUBLUO, 1997; HUBSTENBERGER et al., 1992).

A resposta morfológica satisfatória na estquia, dispensando nebulização, indica ser possível o enraizamento de estacas diretamente a campo, para a geração de plantações, tanto para emprego paisagístico quanto para exploração alimentar ou industrial. A estquia direta a campo é prática comum na viticultura (REGINA, 1988) e dispensaria a etapa de produção e envasamento de mudas, diminuindo custos de produção. Entretanto, nesse caso, a planta matriz deve ter condições fitossanitárias excelentes para que não sejam disseminados microrganismos e partículas virais endógenos que interferem negativamente no metabolismo da planta, com diferentes graus de patogenia (HALLMAN et al., 1997).

A germinação *in vitro* e a emergência em substrato foram elevadas e ocorreram rapidamente,

indicando ausência de dormência. Segundo BASKIN e BASKIN (1998), enquadram-se como dormentes as espécies cuja germinação inicia em um prazo maior do que quatro semanas após a semeadura. Os resultados confirmam que sementes de *P. aculeata* são indiferentes à luz dentro de amplo limite de temperaturas (DAU e LABOURIOU, 1974; PEDRONI e SÁNCHEZ, 1997). Apesar de oriundas da autofecundação de um exemplar da espécie isolado (Figura 1A), todas as plântulas apresentaram morfologia e desenvolvimento típicos sem a expressão de genes defectivos cumulativos em espécies alógamas (BORÉM, 1998).

O elevado teor de água das sementes no ponto de coleta, associado à rápida germinação, sugere que as mesmas apresentam comportamento recalcitrante. As sementes de muitas espécies recalcitrantes germinam rapidamente após a dispersão, ou ainda, na planta matriz (VOZZO, 2002). Contudo, essas informações não são suficientes para confirmação de tal classificação (HONG e ELLIS, 1996). Trabalhos estão sendo conduzidos a fim de elucidar esse aspecto.

A espécie também apresentou eficiente morfogênese *in vitro*, confirmando o potencial de meristemas da parte aérea como explantes (MAUSETH, 1979). A multiplicação da parte aérea foi significativamente superior na presença de 1 mg de BAP L⁻¹, também empregado para a brotação da cactácea *Mammillaria glassii* (RUBLUO, 1997). O cultivo em KIN, anteriormente usado para a indução de brotações da cactácea *M. woodsii* (RUBLUO, 1997), não teve resposta diferente do cultivo na ausência de fitorreguladores, ou seja, essa citocinina não acionou a expressão de genes para a diferenciação de parte aérea em *P. aculeata*.

A formação de raízes vigorosas, mais longas e ramificadas, no meio sem fitorreguladores, indicou que ambas citocininas são efetivas na inibição ao enraizamento e que a ausência de fitorreguladores é condição adequada para conduzir a fase de enraizamento.

A sobrevivência de 100 % das plantas à aclimatização comprovou que os tecidos formados *in vitro* são funcionais e a espécie se readapta rapidamente à condição heterotrófica.

Dentre as espécies do gênero *Pereskia*, o cultivo *in vitro* de *P. bleo* foi o mais explorado, em experimentos direcionados a estudos metabólicos para o emprego medicinal. Jaafar-Sidik et al. (2009) obtiveram calos em meio MS com 2,26 µM 2,4-D, dos quais foram geradas suspensões celulares de rápida proliferação. Também foram obtidas raízes transgênicas por meio das cepas ATCC 15834, LBA 402, TR 105 e 8196 de *Agrobacterium rhizogenes*.

Para a pesquisa da atividade biológica natural dos tecidos de *P. aculeata*, serão necessários estudos para padronizar o material vegetal para a produção de metabólitos secundários em sistemas *in vitro* eficientes.

A propagação dos exemplares nativos de *P. aculeata* em condições controladas servirá a inúmeras finalidades. A principal é a conservação da biodiversidade brasileira, patrimônio de valor intangível. Outra finalidade é a disponibilização da variabilidade genética dos exemplares nativos para a pesquisa e seleção de variedades. A expansão de *P. aculeata* como planta cultivada depende da oferta de variedades com características importantes para a exploração econômica. Dentre essas características, destacam-se detalhes morfológicos de valor ornamental, elevado teor de proteínas e mecanismos embriológicos que inviabilizem a reprodução sexuada, principalmente para variedades a serem cultivadas em outros continentes. Plantios comerciais de variedades sem reprodução sexuada serão viabilizados pelas técnicas registradas neste trabalho.

Conclusões

A propagação de *P. aculeata* por estaquia viabilizou-se mesmo em ambiente sem controle de umidade do ar.

As sementes apresentam elevada viabilidade logo após a coleta, tendo sido possível a obtenção de índices de germinação e emergência próximos a 100 %.

A multiplicação *in vitro* foi efetiva em meio com 1 mg BAP L⁻¹ e o enraizamento dessas brotações dispensou fitorreguladores. Na aclimatização *ex vitro*, todas as plantas sobreviveram e o desenvolvimento vegetativo foi superior em ambiente com nebulização intermitente.

Foram identificadas as condições para a propagação dessa espécie, sendo possível a produção de mudas para os mais diversos interesses, visto a ampla empregabilidade da espécie para utilização humana.

Referências

- ALTESOR, A.; EZCURRA, R.; SILVA, C. Changes in the photosynthetic metabolism during the early ontogeny of four cactus species. **Acta Oecologica**, Montrouge, v. 13, n. 6, p. 777-85, 1992.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 1998. 666p.
- BOKE, N. H. Ontogeny and structure of flower and fruit of *Pereskia aculeata*. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 53, n. 6, p. 534-42, 1966.

- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 1998. 453p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- DAU, L.; LABOURIAU, L. G. Temperature control of seed-germination in *Pereskia aculeata* Mill. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 2, p. 311-22, 1974.
- HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 10, p. 895-914, 1997.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: Principles and Practices**. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880p.
- HUBSTENBERGER, J. F.; CLAYTON, P. W.; PHILLIPS, G. C. Micropropagation of Cacti (Cactaceae). In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.) **Biotechnology in Agriculture and Forestry 20: High-Tech and Micropropagation IV**. Berlin: Springer-Verlag, 1992, p. 49-68.
- JAAFAR-SIDIK, N.; NORIHAN, M. S.; SHAFII, K. *In Vitro* Culture of *Pereskia bleo*. **ISHS Acta Horticulturae**, Leuven, v. 829, p. 99-104, 2009.
- KINUPP, V. F. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. Porto Alegre, 2007. 562 p. Tese (Doutorado – Área de Concentração Fito-tecnia) – Departamento de Horticultura e Silvicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- LEUENBERGER, B. E. *Pereskia* (Cactaceae). **Memoirs of the New York Botanical Garden**, New York, v. 41, p. 1-141, 1986.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil, arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1999. 1088 p.
- MAUSETH, J. D. A new method for the propagation of cacti: sterile culture of axillary buds. **Cactus Succulent Journal**, Claremont, v. 51, p. 186-7, 1979.
- MORAN, V. C.; ZIMMERMANN, H. G. Biological control of cactus weeds of minor importance in South Africa. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 37, p. 37-55, 1991.
- MORTON, J.F. **Barbados Gooseberry. Fruits of warm climates**. Miami: Julia Morton, p. 349-51. 1987. Disponível em: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/barbados_gooseberry.html. Acesso em 10/08/2010.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-97, 1962.
- PEDRONI, F.; SÁNCHEZ, M. Dispersão de sementes de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae) num fragmento florestal no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 57, p. 479-86, 1997.
- REGINA, M. de A.; SOUZA, C. R. de; SILVA, T. das G.; PEREIRA, A. F. **A propagação da videira**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 20-27, 1988.
- RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual do Meio Ambiente. **Lista das espécies da flora ameaçadas de extinção do Rio Grande do Sul, 2002**. Disponível em: <http://www.fzb.rs.gov.br/downloads/flora_ameacada.pdf>. Acesso em: 23 out. 2010.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: IPGRI, 1996. 62p. (Technical Bulletin, 1). Disponível em: <http://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/137.pdf>. Acesso em: 26 out 2010.
- RUBLUO, A. Micropropagation of *Mammillaria* species (Cactaceae). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.) **Biotechnology in Agriculture and Forestry 40: High-Tech and Micropropagation IV**. Berlin: Springer-Verlag, 1997, p. 193-205.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Art-Med Editora, 2004. 719 p.
- VOZZO, J. A. **Tropical tree seed manual**. Washington: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Research Station, 2002. 899 p.