

## **Micropropagação e aclimatização de duas espécies de pitaya sob diferentes concentrações de reguladores de crescimento e substratos**

**Micropropagation and acclimatization of two pitaya species under different concentrations of growth regulators and substrates**

**Micropropagación y aclimatación de dos especies de pitaya bajo diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento y sustratos**

Recebido: 30/11/2022 | Revisado: 19/12/2022 | Aceitado: 21/12/2022 | Publicado: 24/12/2022

### **Terezinha Ramalho Neta**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5463-8112>  
Universidade Federal de Alagoas, Brasil  
E-mail: terezharneta@gmail.com

### **Dimas de Barros Santiago**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7118-8467>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: dimas.barros91@gmail.com.

### **Wellington Manoel dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3522-8596>  
Universidade Federal de Alagoas, Brasil  
E-mail: wellington.ea@hotmail.com

### **José Dailson Silva de Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8395-2856>  
Universidade Federal de Alagoas, Brasil  
E-mail: dailsonoliveira00@gmail.com

### **Cibele Merched Gallo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1128-1640>  
Prefeitura Municipal de Veranópolis  
E-mail: cibele.gallo@hotmail.com

### **Eurico Eduardo Pinto de Lemos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0299-5676>  
Universidade Federal de Alagoas, Brasil  
E-mail: eurico@ceca.ufal.br

### **Resumo**

Este trabalho objetivou analisar a técnica de micropropagação em duas espécies de pitaya sob diferentes concentrações de reguladores de crescimento e o efeito de diferentes substratos na aclimatização de suas plântulas. A pesquisa ocorreu no Laboratório de Biotecnologia Vegetal – BIOVEG - pertencente a Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL. Foram utilizadas sementes de frutos maduros de *H. undatus* e *H. megalanthus* oriundos de plantios comerciais nos Estados de Pernambuco e Ceará, respectivamente. Foram utilizadas duas espécies de pitaya (*H. undatus* e *H. megalanthus*) e quatro concentrações de AIB, quatro concentrações de 6- benzilaminopurina mais o controle (sem AIB ou BAP). Um experimento de enraizamento com os mesmos meios de cultura utilizados no experimento de multiplicação, mas utilizando microcladódios com apenas a parte da base removida. Os resultados mostraram que a citocinina BAP estimulou consideravelmente a produção de novas brotações nas duas espécies de pitaya quando comparado ao controle. A espécie *H. megalanthus* apresentou número de brotações e raízes do que a espécie *H. undatus*. Os substratos Bioplant e fibra de caroço de café apresentaram resultados de comprimento e número de raízes, assim como para massa fresca e seca superiores à vermiculita para as duas espécies estudadas, sendo indicados para a produção de mudas de pitaya. A variedade de pitaya roxa foi a que apresentou sempre as melhores respostas em brotações e raízes, tanto na fase in vitro quanto na fase extra vitro.

**Palavras-chave:** Micropropagação; Reguladores de crescimento; Fruticultura.

### **Abstract**

This work aimed to analyze the micropropagation technique in two pitaya species under different concentrations of growth regulators and the effect of different substrates on the acclimatization of their seedlings. The research took place at the Plant Biotechnology Laboratory – BIOVEG – belonging to the Federal University of Alagoas – CECA/UFAL. Seeds of mature fruits of *H. undatus* and *H. megalanthus* from commercial plantations in the states of Pernambuco and Ceará, respectively, were used. Two pitaya species (*H. undatus* and *H. megalanthus*) and four concentrations of IBA,

four concentrations of 6-benzylaminopurine plus the control (without IBA or BAP) were used. A rooting experiment with the same culture media used in the multiplication experiment, but using microcladodes with only the base part removed. The results showed that cytokinin BAP considerably stimulated the production of new shoots in both pitaya species when compared to the control. The species *H. megalanthus* presented number of sprouts and roots than the species *H. undatus*. The substrates Bioplant and cajá seed fiber presented results for length and number of roots, as well as for fresh and dry mass superior to vermiculite for the two studied species, being indicated for the production of pitaya seedlings. The purple pitaya variety was the one that always showed the best responses in shoots and roots, both in vitro and extra vitro.

**Keywords:** Micropropagation; Growth regulators; Fruit crop.

### Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo analizar la técnica de micropropagación en dos especies de pitaya bajo diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento y el efecto de diferentes sustratos en la aclimatación de sus plántulas. La investigación tuvo lugar en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal – BIOVEG – perteneciente a la Universidad Federal de Alagoas – CECA/UFAL. Se utilizaron semillas de frutos maduros de *H. undatus* y *H. megalanthus* de plantaciones comerciales en los estados de Pernambuco y Ceará, respectivamente. Se utilizaron dos especies de pitaya (*H. undatus* y *H. megalanthus*) y cuatro concentraciones de IBA, cuatro concentraciones de 6-bencilaminopurina más el control (sin IBA ni BAP). Un experimento de enraizamiento con los mismos medios de cultivo utilizados en el experimento de multiplicación, pero utilizando microcladodios con solo la parte de la base eliminada. Los resultados mostraron que la citoquinina BAP estimuló considerablemente la producción de nuevos brotes en ambas especies de pitaya en comparación con el control. La especie *H. megalanthus* presentó mayor número de brotes y raíces que la especie *H. undatus*. Los sustratos Bioplant y fibra de semilla de cajá presentaron resultados de longitud y número de raíces, así como de masa fresca y seca superiores a la vermiculita para las dos especies estudiadas, siendo indicados para la producción de plántulas de pitaya. La variedad pitaya morada fue la que siempre mostró mejores respuestas en brotes y raíces, tanto in vitro como extra vitro.

**Palabras clave:** Micropropagación; Reguladores del crecimiento; Fruta creciendo.

## 1. Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas e o 23º entre os países exportadores com um volume de 218,231 ton. no primeiro trimestre de 2019 (Abrafrutas,2019). Detentor de uma vasta extensão territorial e uma das mais diversificadas fruticulturas, associado a buscar por alimentos saudáveis e baixo teor calórico, novos grupos promissores de frutas não convencionais, como as cactáceas, estão sendo introduzidas, desenvolvidas, comercializadas e potencializados para exportação dos produtos processados e consumidos *in natura*. Além de serem utilizadas como plantas ornamentais, a pitaya já conquistou reconhecimento mundial por suas flores grandes, noturnas e perfumadas (Huang et al., 2022).

Dentro desse cenário impulsionado pelo interesse por espécies frutíferas não convencionais, destaca-se a Pitaya (*Hylocereus* spp.), mesmo com uma produção pequena, exportou no primeiro trimestre de 2019 o volume de 0,0208 ton. (Abrafrutas, 2019). Possui alto valor agregado do fruto exótico, consumidos *in natura* e/ou industrializados, com doces, bebidas (Silva, 2015), geleias, sucos, sorvetes (Ariffin *et al.*, 2009) e cosméticos. Alta demanda, bom preço no mercado local e internacional (Mizrahi, 2014), rápido retorno econômico (Junqueira et al, 2002), elevado potencial comercial e precocidade de produção (Dembitsky *et al.*, 2011; Duarte, 2013).

Amplamente cultivada e comercializada em mais de 20 países como Costa Rica, Venezuela, Brasil, Estados Unidos, Vietnã, Filipinas, Israel, Colômbia e México, os dois últimos são os principais produtores mundial (Mizrahi, 2014; Obenlandet *et al.*, 2016). As espécies com maior ênfase comercial são: *Hylocereus* spp. (Haw.) Britton; Rose e *Selenicereus megalanthus* (K. Schum ex Vaupel) (le Bellec *et al.*, 2006).

O aumento das áreas de cultivo eleva a demanda por mudas de qualidade, e para atingiro mercado interno e externo é importante ter material vegetal com atributos agrônômicos. A maior parte do material propagativo da pitaya provem do Vietnã, o maior exportador da fruta, porém, frutos de baixa qualidade, sem sabor e pouco aceitáveis pelo mercado, ocasionando resistência por produtores no mercado mundial (Mizrahi, 2014).

Os métodos mais comuns na propagação e multiplicação da pitaya são seminíferas, este inviável comercialmente, elevando o custo da produção de mudas por não atingir alta taxa de multiplicação, por ter longo período juvenil, atraso na produção em meses ou até em anos, o vegetativo é o mais utilizado, usam-se a enxertia e a micropropagação, e tem na estaquia como principal método, por sua precocidade na produção, praticidade e uniformidade no cultivo e tratamentos culturais (Le Bellec *et al.*, 2006; Chandra *et al.*, 2010; Silva, 2015; Züge, 2019). A tecnologia de cultura de tecidos é uma forma eficaz de solucionar as dificuldades de propagação de plantas (Dai *et al.*, 2020).

A propagação de pitaya pode ser melhorada com a tecnologia adequada e elevar a produção comercial das espécies de importância econômica. A propagação *in vitro*, é aplicação prática e eficiente da cultura de tecidos que abre caminhos para a biotecnologia convencional dos cactos (Clayton *et al.*, 1990). Permite elevar o número de plantas a partir de um pequeno fragmento da planta em curto espaço físico e de tempo, mudas isentas de patógenos e doenças, otimiza os sistemas de produção com rápido crescimento, em relação aquelas de sementes ou estaquia, rápida multiplicação clonal, seleção de clones e matrizes superiores e/ou robustas (Viñas *et al.*, 2012; Hua *et al.*, 2014).

Conhecer a produção e propagação de mudas é fundamental, uma vez que leva toda a carga genética da planta matriz. Para isso, dois fatores são importantes para o sucesso na obtenção de mudas de pitaya com bons atributos agrônomicos: os tipos de fitoreguladores (reguladores de crescimento) e os substratos utilizados.

Uma alternativa para promover e/ou melhorar a propagação é o uso de reguladores de crescimento. E indicar a quantidade desses reguladores, restabelecimento, multiplicação, enraizamento, aclimatização e os tipos de substratos ideais a serem utilizados deve ser em função de cada tipo de espécie, uma vez que, são diferentes e requerem estudos detalhados (Le Bellec *et al.*, 2006).

Dentro da classe de reguladores de crescimento encontraram-se a auxina e citocinina, quando isolados ou combinados, são responsáveis por estimular a divisão das células de desenvolvimento e crescimento do explante, formando raízes adventícias pela auxina ou a quebra da dominância apical e induzindo a brotação lateral pela citocinina (Bielach *et al.*, 2012). A auxina e citocinina mais utilizadas são o ácido indol-3-butírico (AIB) e 6-Benzilaminopurina (BAP), respectivamente.

A busca por novas pesquisas e conhecimentos técnicos sobre a propagação das espécies de pitaya, objetivou analisar a produção de mudas micropropagadas de espécies de pitaya (*Hylocereus* spp. (Haw.) Britton & Rose e *Selenicereus megalanthus* (K. Schum ex Vaupel)) em diferentes concentrações de reguladores de crescimento e o efeito de diferentes substratos na aclimatização de suas plântulas.

## 2. Material e Métodos

O trabalho experimental visando resultados sobre a produtividade e qualidade da pitaya, foi realizado no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020 no Laboratório de Biotecnologia Vegetal – BIOVEG - pertencente ao Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL, Campus Rio Largo, Região Metropolitana de Maceió/AL – Tabuleiros costeiros de Alagoas, com coordenadas geográficas 09° 28' 42" S e 35° 51' 12" W. O material vegetal utilizado foi sementes de frutos maduros de plantios comerciais de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus megalanthus* provenientes dos Estados de Pernambuco e Ceará, respectivamente. Os frutos ao chegarem ao laboratório passaram primeiro pelo processo de higienização externa com água corrente destilada e com auxílio de uma esponja e sabão neutro para a retirada das impurezas superficiais presentes na casca (Figura 1). Em seguida, os frutos lavados foram levados para realização da desinfestação externa. Sob agitação constante, os frutos foram imersos no álcool 70% durante um minuto, seguido de imersão em solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) acrescido de duas gotas de Tween 20® durante 15 minutos e, para finalizar, foram realizadas a tríplice lavagem com água esterilizada em capela de fluxo laminar.

**Figura 1** - Higienização de frutos de Pitaya (*Hylocereus* spp.) utilizado para remoção de impurezas externas.



Fonte: Autores (2022).

Após desinfestação dos frutos, em câmara de fluxo laminar e com auxílio de um bisturi(Nº 22), fez-se um corte transversal e utilizando pinças separou-se as sementes da polpa, sendoem seguida inoculadas em frascos de vidro contendo 20 mL de meio de cultura MS, suplementado com sacarose (30g L<sup>-1</sup>), mio-inositol (100mgL<sup>-1</sup>) e gelificado com ágar (7g L<sup>-1</sup>). A inoculação das sementes no meio de cultura foi feita com pinças esterilizadas a fogo, sendo distribuídas superficialmente sete sementes em cada recipiente. Os frascos inoculados com as sementes foram postos e mantidos na sala decrescimento com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 48 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fluxo de fótons.

**Figura 2** - Sementes da Pitaya (*Hylocereus* spp.) inoculadas superficialmente em meio decultura MS.



Fonte: Autores (2022).

## 2.1 Estabelecimento *in vitro* de *H. undatus* e *H. megalanthus*

Nesta etapa foram utilizados como explantes, brotações (cladódios) das plantas germinadas nos frascos com sete meses de idade conforme descrição anterior. Após a germinação das sementes, foi feita a retirada dos tegumentos e, em seguida as plantas recém- germinadas foram reintroduzidas em tubos de ensaio contendo meio de cultura 15 mL de meiode cultura MS, suplementado com sacarose (30g L<sup>-1</sup>), mio- inositol (100mg L<sup>-1</sup>), ágar (7g L<sup>-1</sup>) e o pH ajustado em 5,8 (Figura 3). Os explantes foram estabelecidos nos tubos crescendo por 60 dias para servirem como culturas doadoras de explantes para os experimentos de multiplicação. Antes da inoculação dos explantes os tubos com o meio de cultura foram vedados comfolha de papel alumínio e autoclavada a 120°C de temperatura e 1,5atm de pressão por 20 minutos. Os tubos inoculados foram postos e mantidos na sala de crescimento com temperaturade 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 48 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fluxo de

fótons. Ao longo de 60 dias de cultivo os explantes foram monitorados sendo avaliado o número de explantes saudáveis e contaminados.

**Figura 3** - Inoculação de explante de Pitaya (*Hylocereus* sp.) *in vitro*.



Fonte: Autores (2022).

## 2.2 Multiplicação *in vitro* de *H. undatus* e *H. megalanthus*

Após 60 dias de cultivo as microplantas germinadas das espécies de pitaya (*H. Undatus* e *H. megalanthus*) foram utilizadas para a instalação do experimento de multiplicação de brotações. Foi utilizado o meio de cultura básico de MS suplementado com 30g L<sup>-1</sup> sacarose, 100 mg L<sup>-1</sup> mio-inositol, 7g L<sup>-1</sup> ágar e o pH foi ajustado em 5,8. Foram colocados 30mL de meio MS por frasco de vidro com capacidade para 100mL, que após serem vedados com folha de alumínio, foram autoclavados a 120°C de temperatura e 1,5atm de pressão por 20 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde foram testadas quatro concentrações de ácido indolbutírico (AIB) mais controle (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e quatro concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) mais o controle (0; 0,5; 1,5; 3 e 6 mg L<sup>-1</sup>) com quatro repetições, onde cada repetição era composta por seis explantes inoculados individualmente em um tubo de ensaio, totalizando 24 tubos de ensaio por tratamento. De cada planta de pitaya foram retiradas a parte basal e apical do cladódio sendo inoculada em cada tubo apenas a porção mediana. Cada explante inoculado (cladódio) foi ajustado para ficar com seis gemas sendo duas em cada costela. Após a inoculação dos explantes, os frascos foram colocados em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 48 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fluxo de fótons por um período de 70 dias. Ao final do experimento as variáveis avaliadas foram: número e comprimento das brotações; e número e comprimento das raízes. Os comprimentos foram mensurados com o auxílio de um paquímetro digital.

## 2.3 Enraizamento *in vitro* de *Hylocereus megalanthus*

O experimento de enraizamento foi realizado com explantes das duas espécies de pitaya (*H. undatus* e *H. megalanthus*). Foram utilizadas brotações padronizadas com aproximadamente 1,5cm de comprimento, sendo retirada das mesmas apenas a parte basal. Para isto, foi utilizado o meio de cultura básico de MS suplementado com 30g L<sup>-1</sup> sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> mio-inositol, 7g L<sup>-1</sup> ágar, com o pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem a 120°C por 20 minutos a 1,5 atm. Utilizou-se 15mL de meio MS por frasco de vidro com capacidade para 100mL. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde foram testadas quatro concentrações de ácido indolbutírico (AIB) mais controle (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e quatro concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) mais o controle (0; 0,5; 1,5; 3 e 6 mg L<sup>-1</sup>) com quatro repetições, onde cada repetição era composta por seis explantes inoculados individualmente em um tubo de ensaio, totalizando 24 tubos de ensaio por tratamento. Os frascos com os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas

de escuro e  $48\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de fluxo de fótons. Após 70 dias de cultivo, as variáveis avaliadas foram número e comprimento de raiz, número e comprimento de brotações.

#### 2.4 Aclimatização das microplantas e produção de matéria seca das mudas de *H. undatus* e *H. megalanthus* em diferentes substratos

Para este experimento foram utilizadas mudas enraizadas *in vitro* Laboratório de Biotecnologia Vegetal – BIOVEG - Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, conduzido em esquema fatorial  $2 \times 3$ , sendo os fatores dois genótipos de pitaya (*H. undatus* e *H. megalanthus*) e três substratos (fibra de caroços de cajá, vermiculita expandida de granulometria fina e substrato comercial Bioplant). Cada tratamento foi constituído por cinco repetições, com três plantas por repetição. As mudas enraizadas *in vitro*, foram retiradas dos frascos e suas raízes lavadas com água destilada para a retirada do meio de cultura e padronizadas, deixando-se, em média, de três a cinco raízes por planta e apenas o cladódio principal (com ao menos uma brotação lateral). Após a lavagem em água corrente as mudas foram plantadas em bandejas de polietileno (31,5 x 11,5 x 6,5 cm) com 300g de substrato de acordo com os tratamentos (Figura 4 e 5). As bandejas contendo as mudas foram transferidas para bancadas (90cm de altura, 80cm de largura e 180cm de comprimento) em sala de aclimatização com temperatura controlada de  $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ . As mudas foram cobertas com tampa plástica transparente nos 15 primeiros dias para evitar a desidratação, sendo realizada a abertura gradual da tampa para entrada de ar natural até a total liberação das tampas. A cada dois dias foram realizadas irrigações de forma manual com o auxílio de uma pisseta, utilizando-se 20mL de água esterilizada por bandeja. Após 60 dias de aclimatização avaliou-se o número de novas brotações, comprimento da maior raiz, massa de matéria fresca e matéria seca da parte aérea e das raízes. O comprimento da parte de raiz foi mensurado com paquímetro digital e a massa de matéria seca de parte aérea e raiz com balança analítica de precisão após secagem do material por 72 horas em estufa a  $60^{\circ}\text{C}$  com ventilação forçada.

**Figura 4** – (a) Lavagem de raiz; (b) Cladódio de pitaya *H. undatus* e *H. megalanthus* na fase de aclimatização no substrato.



Fonte: Autores (2022).

**Figura 5** - Mudas pitaya *H. undatus* e *H. megalanthus* aclimatizada em diferentes substratos.



Fonte: Autores (2022).

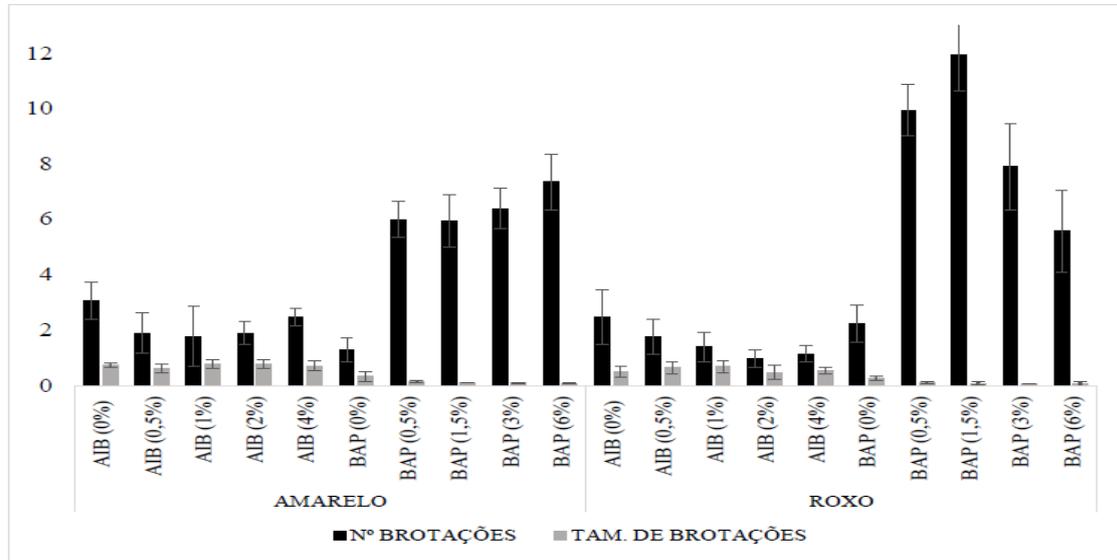
### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Experimento de multiplicação de brotações dos explantes

De uma maneira geral, os explantes cultivados com diferentes concentrações da auxina AIB apresentaram número de brotações significativamente inferiores àqueles cultivados com a citocinina BAP, independente da concentração utilizada. Por outro lado, o comprimento médio das brotações foi significativamente superior na presença da auxina do que na presença da citocinina em todas as concentrações utilizadas (Figura 6).

Os dois genótipos de pitaya estudados (*H. undatus* – pitaya amarela e *H. megalanthus* – pitaya roxa) apresentaram comportamentos ligeiramente distintos entre si frente às respostas de brotações e crescimento aos reguladores de crescimento (AIB e BAP) utilizados. Pode-se notar que o genótipo *H. megalanthus* (roxo) apresentou números de brotações significativamente superiores ao controle (sem BAP) que apresentou média de 3 brotações por explante, ao passo que quando se utilizou o BAP (0,5; 1,5; 3 e 6 mg.L<sup>-1</sup>) os explantes produziram média de 10, 12, 8 e 6 brotações por explante, respectivamente. Observa-se que a concentração de 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP foi a que apresentou a melhor resposta dentre todas as demais, sendo, portanto, recomendada para o processo multiplicativo *in vitro* da pitaya roxa *H. megalanthus* (Figura 6).

**Figura 6** - Número e tamanho de brotações de dois genótipos de pitaya amarela (*H. undatus*) e pitaya roxa (*H. megalanthus*) sob diferentes concentrações de reguladores de crescimento (AIB e BAP).



Fonte: Autores (2022).

Neste experimento os resultados mostraram que a variável número de brotações foi influenciada pela aplicação individual da citocinina BAP. Na presença desse regulador de crescimento, conhecido como estimulador da multiplicação meristemática (Taiz et al., 2017), as duas variedades apresentaram significativamente mais brotações do que o tratamento controle (sem BAP). Na ausência de BAP o número de brotações foi em média de 1,7 e 2,1 para as variedades amarela e roxa, respectivamente. Nos tratamentos com BAP a variedade amarela (*H. undatus*) apresentou número médio de brotações entre 6,1 e 7,2 por explante, mostrando claramente um estímulo na divisão celular sobre os meristemas das gemas pré-existentes nas auréolas dos espinhos dos explantes. Já para a variedade roxa (*H. megalanthus*) o número de brotações excedeu em muito o número de gemas pré-existentes nas auréolas dos explantes chegando a médias entre 6,3 e 12,1 gemas por explante. A concentração que mais estimulou o número médio de brotações foi 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP mostrando que para a espécie roxa essa poderia ser a concentração utilizada para um grande estímulo multiplicativo em tais meristemas.

Fan et al. (2013) afirmam que o tipo e a dose de citocinina tem efeito significativo na emissão de brotos, exercendo também efeito na altura da parte aérea e no diâmetro durante a multiplicação. Hua et al. (2014) mostraram que a formação de brotos adventícios em pitaya é regulada por interações entre citocinina e auxinas. Já a crescente adição do hormônio AIB mostra uma variação baixa de brotações quando comparado com a testemunha (0% de concentração de AIB).

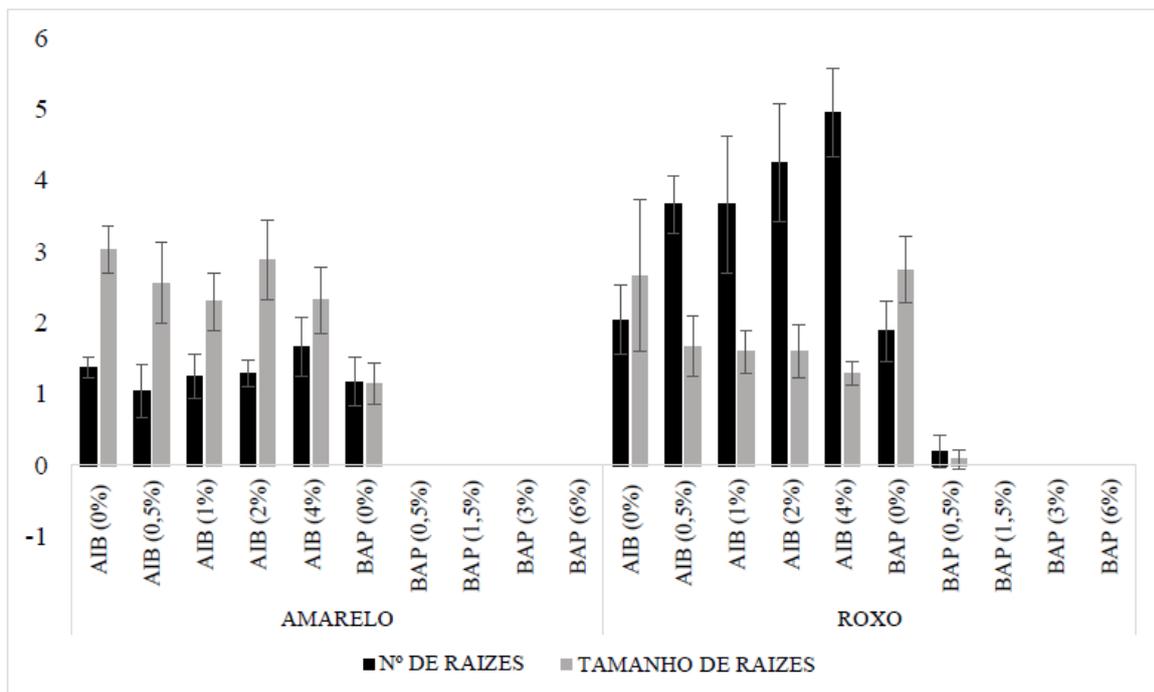
Uma vez que a citocinina BAP se trata de um dos reguladores de crescimento mais utilizados na micropropagação, devido ser responsável pela divisão celular, auxiliando na indução de brotos adventícios a partir de meristemas pré-formados ou calos, podendo ser utilizados para indução de multibrotação de gemas axilares ou apicais (Kerbaui, 2012). Entretanto, em alguns experimentos pode-se perceber a influência da concentração de citocininas endógenas, na inibição do número de brotos (Arruda et al., 2018). Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram obtidos por Lopes et al. (2017) que observaram que doses superiores a 1mg L<sup>-1</sup> de BAP apresentou melhores respostas para o número de brotações por explante em pitaya amarela (*H. undatus*), com 12,2 brotos. E, de acordo com Viñas et al. (2012), o BAP foi essencial para emissão de brotos de *Hylocereus costaricensis* cultivados in vitro. A brotação de gemas meristemáticas pré-existentes e adormecidas são claramente relacionadas com a capacidade dos tecidos meristemáticos de sofrerem rápidas divisões celulares, liberando as gemas da dominância apical. As citocininas naturais endógenas ou sintéticas aplicadas exogenamente tais como a 6-benzilaminopurina (BAP) são capazes de

estimular as divisões celulares e, em consequência, aumentar o número de gemas brotadas (Botin, 2015; Carvalho, 2006). No experimento aqui descrito, houve um grande estímulo às divisões celulares dos tecidos meristemáticos adormecidos nas auréolas dosespinhos da espécie roxa (*H. megalanthus*) promovendo o aparecimento de não apenas uma, mas várias gemas em cada meristema.

### 3.2 Experimento de enraizamento dos explantes

De uma maneira geral a adição da citocinina BAP no meio de cultura em qualquer concentração inibiu a produção de raízes nos explantes dos dois genótipos de pitaya amarela (*H. undatus*) e roxa (*H. megalanthus*) (Figura 7). Na ausência da citocinina, o tratamento controle (0% de BAP), todos os explantes apresentaram raízes. O genótipo roxo (*H. megalanthus*) apresentou número de raízes significativamente superior ao genótipo amarelo (*H.undatus*) considerando-se cada uma das concentrações de AIB utilizadas no experimento (Figura 7). De maneira análoga, quando consideramos o comprimento das raízes diferenças significativas também foram observadas entre os genótipos estudados em todas as concentrações de AIB, todavia, as diferenças entre genótipos foram menores do que em relação ao número de raízes (Figura 7)

**Figura 7** - Número e tamanho de raízes dos acessos de pitaya amarela (*H. undatus*) e roxa (*H. megalanthus*) sob diferentes concentrações de reguladores de crescimento AIB e BAP.



Fonte: Autores (2022)

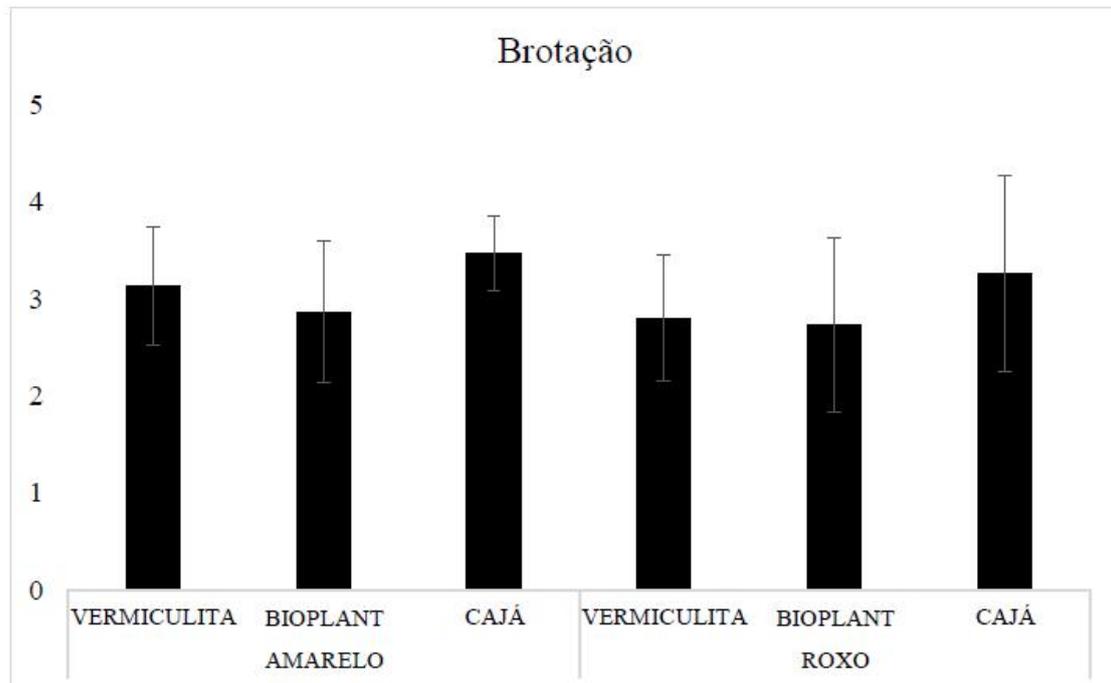
Quando se considera apenas o genótipo amarelo (*H. undatus*), o número de raízes ficou em média entre 1 e 2 para cada tratamento com a auxina AIB ou para o controle (sem AIB). O uso da citocinina BAP inibiu o aparecimento de raízes em todas as concentrações aplicadas. Para o genótipo roxo (*H. megalanthus*), o número de raízes variou entre 2 e 5 aumentando não significativamente à medida em que a concentração da auxina AIB aumentou. Neste genótipo, na menor concentração da citocinina BAP utilizada (0,5 mg.L<sup>-1</sup>), houve o aparecimento de raízes em pequeno número e tamanho mostrando a propensão desse genótipo roxo para a produção de raízes (Figura 7).

A ação de citocininas em culturas in vitro tem sido discutida desde os seus primórdios. O seu efeito multiplicador de gemas meristemáticas tem sido comprovado em diferentes espécies vegetais. Da mesma maneira, a sua ação inibitória de raízes é conhecida em plantas, principalmente em relação à citocinina BAP que é considerada a citocinina mais utilizada em cultivos in vitro (Taiz et al., 2017). A forte inibição na produção de raízes observada na presença de BAP nas duas variedades de pitaya utilizadas neste estudo confirma esse padrão inibitório. Todavia, considerando a reação da variedade roxa (*H. megalanthus*) apresentando um pequeno número de raízes na menor concentração utilizada (5 mg.L<sup>-1</sup> BAP) demonstra a facilidade dessa variedade para produção de raízes in vitro. Tal condição é claramente confirmada com a boa produção de raízes na ausência de BAP. E mais ainda na presença da auxina AIB, conhecido regulador de crescimento para estimular raízes em plantas. Reações semelhantes foram observadas em explantes de manjeriço, pois eles enraizaram facilmente in vitro na ausência de BAP, mas na sua presença tiveram as raízes inibidas (Costa et al., 2015). A citocinina BAP inibiu o enraizamento nas duas variedades de pitaya (amarela e roxa), tanto no número de raízes quanto no tamanho das mesmas, concordando com os resultados encontrados por Menezes et al. (2012) na micropropagação de pitaya vermelha e por Monfort et al. (2012) no cultivo in vitro de *Ocimum selloi*. Esses estudos mostraram que na ausência da citocinina BAP houve maior número e comprimento das raízes, indicando que não há necessidade da aplicação desse regulador de crescimento no meio de cultura na fase de enraizamento in vitro podendo, inclusive, apresentar efeito fitotóxico sobre os explantes ao afetar o balanço hormonal entre citocininas e auxinas, sendo que a baixa da auxina afeta diretamente o comprimento das raízes (Monfort et al., 2012).

### **3.3 Experimento de aclimatização das microplantas de pitaya amarela (*H. undatus*) e roxa (*H. megalanthus*)**

De acordo com os dados observados na Figura 8, os substratos utilizados na aclimatização das microplantas de pitaya das duas espécies estudadas não diferiram significativamente entre si. Todas as plantas aclimatizadas em todos os substratos testados apresentaram número médio de brotações superiores a três (Figura 8) com uma leve inclinação para o substrato de caroços de cajá triturados que apresentou um número de brotações equivalente a 3,5 e 3,3 respectivamente para as espécies amarela e roxa. O substrato Bioplant foi o que menos favoreceu a brotação da espécie chegando a valores de 2,8 e 2,6 para os diferentes acessos, amarelo e roxo, respectivamente.

**Figura 8** - Número de brotações em genótipos de pitaya amarela (*H. undatus*) e roxa (*H. megalanthus*) sob diferentes tipos de substratos.

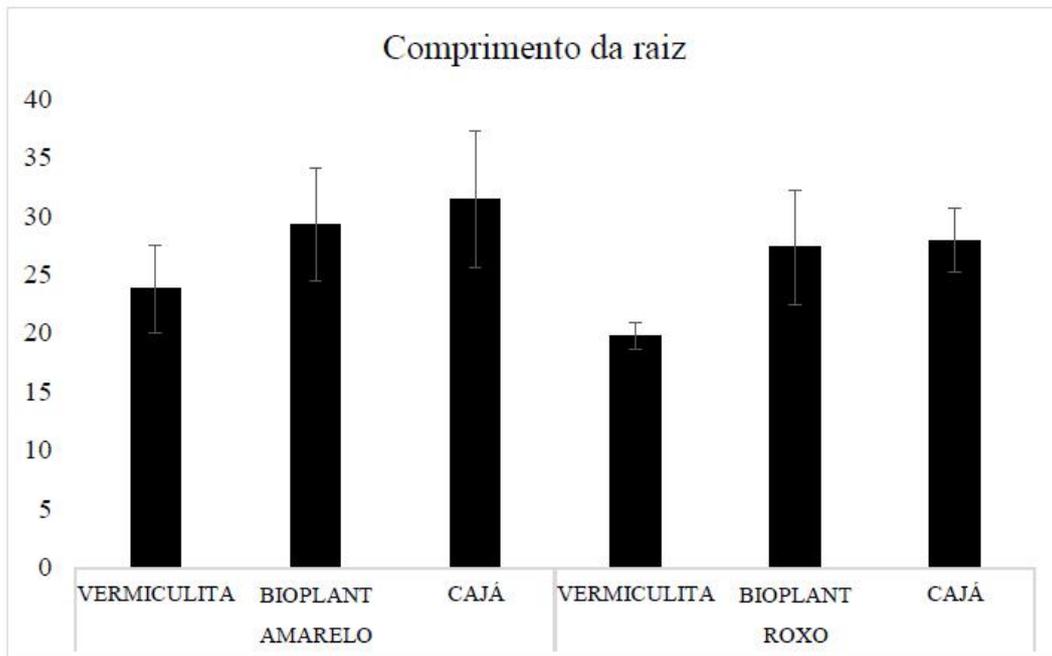


Fonte: Autores (2022).

O substrato formado de caroços de cajá tem sido pouco estudado, possivelmente pela baixa oferta do mesmo, no entanto, tem sido utilizado para produção de orquídeas e bromélias, uma vez que, é inerte, retém umidade, mas ao mesmo tempo é bastante poroso e oferece uma excelente drenagem. Essas características se adequam à definição de Costa *et al.*, 2015, em que um bom substrato deve apresentar propriedades físicas e químicas favoráveis ao desenvolvimento das plantas, boa retenção de umidade, aeração e porosidade adequadas e isenção de microrganismos patogênicos.

Os resultados referentes à variável comprimento das raízes podem ser observados na Figura 9. O substrato oriundo de caroços de cajá triturados se mostrou significativamente superior (32 e 29 cm), principalmente quando comparados à vermiculita (24 e 20 cm) que apresentou os menores valores. Já o substrato comercial Bioplant apresentou um padrão intermediários não diferindo estatisticamente dos demais (Figura 9).

**Figura 9** - Comprimento da raiz em acessos de pitaya amarela (*H. undatus*) e pitaya roxa (*H. megalanthus*) sob diferentes tipos de substratos.



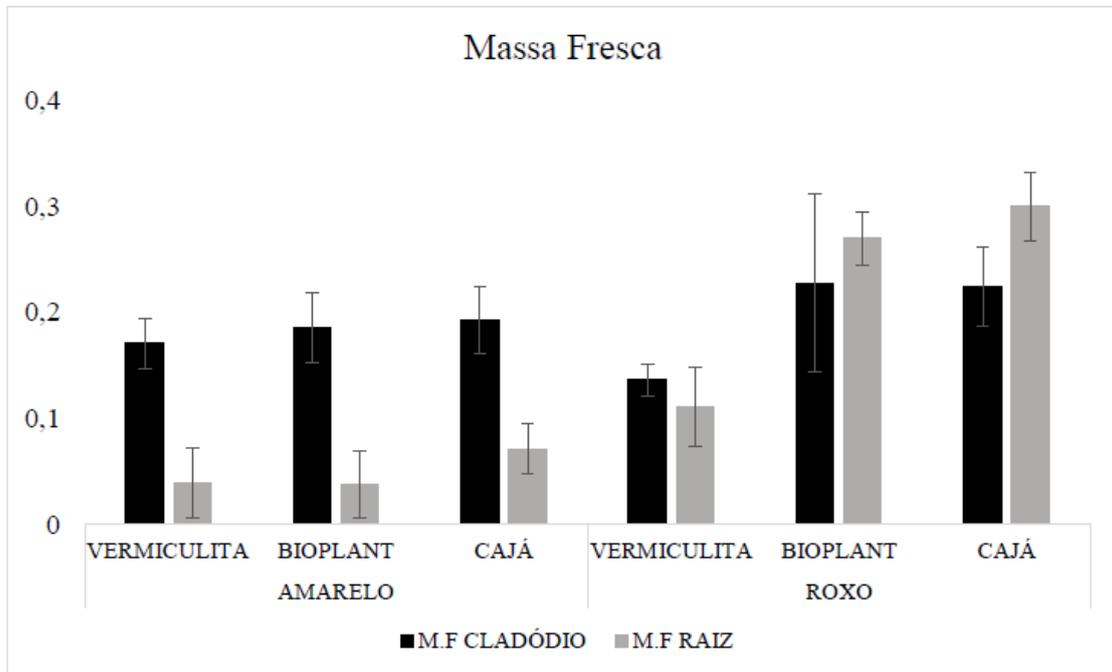
Fonte: Autores (2022).

Essas pequenas variações entre os substratos, principalmente Bioplant e de cajá, pode ser explicada em função da sua composição, já que ambos tendem a acumular menos água do que a vermiculita favorecendo o desenvolvimento das raízes dessas cactáceas. Leal et al. (2007) afirmam que o substrato exerce influência sobre o sistema radicular e que precisa ter a capacidade de reter umidade e de não se compactar excessivamente, evitando comprometer a drenagem da água durante as irrigações. Tal afirmação remete à vermiculita, pois é tida como um substrato que embora seja bastante leve e utilizado na composição de muitos substratos comerciais, inclusive do Bioplant, observa-se que quando utilizada pura ela retém mais água do que outros substratos, o que reduz a aeração daquele ambiente, dificultando assim o desenvolvimento das raízes das plântulas.

Para massa fresca dos cladódios e da raiz contida na figura 8, é notório mais uma vez que o substrato de cajá foi superior para o acesso amarelo apresentando 0,21 g para cladódios e 0,07 g para massa fresca da raiz. No entanto, quando observado os três tipos de substratos, não há uma diferença significativa para massa fresca de cladódios, entretanto para massa fresca da raiz, o cajá é superior aos demais, já a o bioplant e vermiculita foram semelhantes apresentando 0,04 g para ambos os tratamentos.

De uma maneira geral, os resultados obtidos para a massa fresca dos cladódios e raízes foram significativamente afetados pela espécie de pitayas muito mais do que os diferentes substratos estudados. A espécie roxa (*H. undatus*) apresentou massa fresca dos cladódios (parte aérea) e das raízes significativamente inferiores à espécie amarela (*H. megalanthus*) (Figura 10). Na espécie roxa, a massa fresca das raízes, independente do substrato usado na aclimatização das plântulas, apresentou valores significativamente inferiores aos da parte aérea (cladódios). Já na espécie roxa, as raízes se desenvolveram tanto que suas massas frescas superaram as massas frescas das raízes nos melhores substratos utilizados (Bioplant e Carçostriturados de cajá). A massa fresca de raízes da espécie amarela foi sempre abaixo de 0,1 g enquanto da espécie roxa foi sempre superior a esse valor chegando a ser quatro vezes maior nos melhores substratos.

**Figura 10** - Massa fresca dos acessos de pitaya amarela (*H. undatus*) e pitaya roxa (*H. megalanthus*) sob diferentes tipos de substratos.



Fonte: Autores (2022).

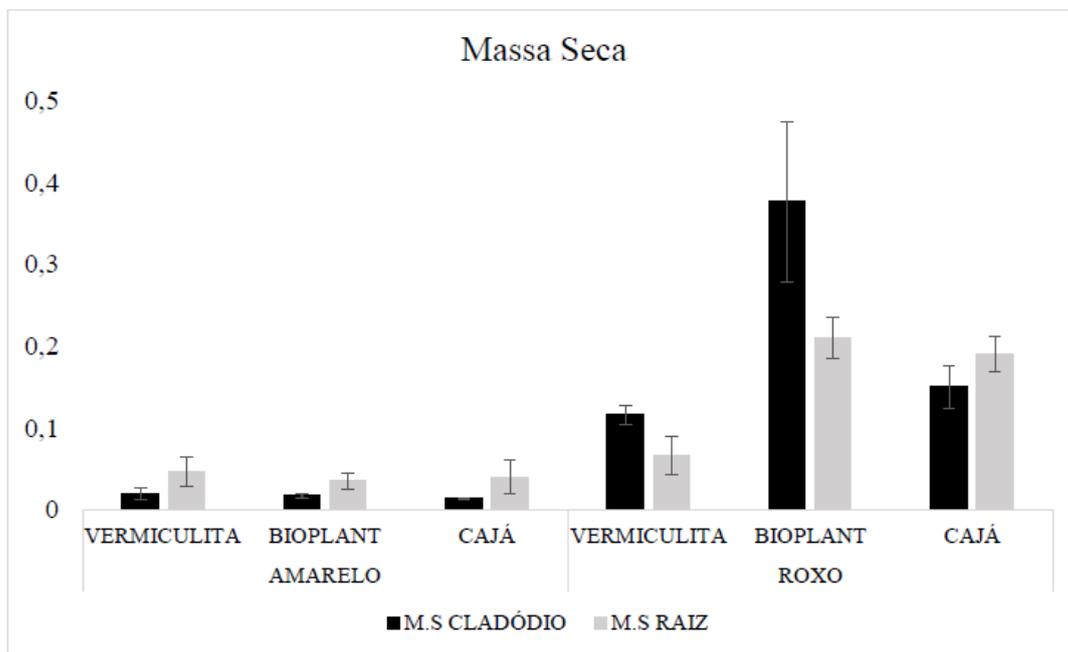
Se a tendência das raízes in vitro da espécie roxa era de serem maiores conforme mostrada anteriormente (Figura 10), essa mesma tendência se manteve na fase de aclimatização, mostrando de *H. megalanthus* é uma espécie mais vigorosa e, possivelmente, mais bem adaptada às nossas condições climáticas. Todavia, somente experimentos em campo serão capazes de confirmar essa tendência observada na multiplicação in vitro e ex vitro.

Lima *et al.*, 2013 trabalhando com massa fresca de cladódios de raiz concluiu que o substrato vermiculita apresentou melhor desempenho perante outros substratos testados, porém, o tipo de vermiculita (granulação média a grande), o tempo e a forma em que esses cladódios foram produzidos podem ter contribuído para que se chegasse a essa conclusão em sua pesquisa. A vermiculita utilizada na forma pura no trabalho aqui descrito tinha granulação fina que favorece uma maior compactação e aumento na retenção de água o que pode ter contribuído para um menor desenvolvimento de raízes dessas cactáceas.

A variável massa seca das raízes seguiu, obviamente a mesma tendência da variável massa fresca, uma vez que foi retirada apenas a água das amostras de cladódios e raízes (Figura 11). Portanto, a espécie roxa de pitaya (*H. megalanthus*) apresentou de uma maneira geral, maior massa seca do que a pitaya amarela (*H. undatus*), principalmente nas plantas aclimatizadas nos substratos Bioplant e Fibra de caroço de cajá, conforme comentado anteriormente para a massa fresca. Pode-se destacar que as massas frescas dos cladódios, não obstante terem sido semelhantes nos substratos vermiculita e Bioplant, apresentaram valores significativamente maiores para os cladódios na matéria seca, indicando que estes acumularam maior teor de matéria seca na parte aérea das mudas do que nas raízes. As mudas aclimatizadas no substrato de fibra de caroço de cajá mantiveram a proporção observada antes nos valores obtidos com a matéria fresca dos cladódios e raízes.

Por outro lado, para a pitaya amarela (*H. undatus*), os substratos não apresentaram diferenças significativas para os diferentes substratos, mas a massa seca das raízes sempre apresentaram valores superiores aos da massa seca dos cladódios (parte aérea), mostrando que o acúmulo de matéria seca foi maior nas raízes do que na parte aérea que estava plena de água (Figuras 10 e 11).

**Figura 11** - Massa seca dos genótipos de pitaya amarela (*H. undatus*) e pitaya roxa (*H. megalanthus*) sob diferentes tipos de substratos.



Fonte: Autores (2022).

#### 4. Conclusões

A aplicação de diferentes concentrações da citocina BAP (6-benzilaminopurina) em culturas in vitro resultou em número significativamente maior de brotações para dos genótipos de pitaya amarela (*H. undatus*) e roxa (*H. megalanthus*).

A espécie de pitaya roxa foi a que apresentou melhores respostas ao BAP em relação ao número de brotações.

As duas espécies de pitaya estudadas neste trabalho foram positivamente influenciadas na fase enraizamento pela aplicação da auxina AIB, mostrando maior número e comprimento de raízes em relação ao controle.

A citocinina BAP, quando utilizada inibiu completamente o aparecimento de raízes nas duas espécies estudadas, não sendo recomendado nesta fase in vitro.

O uso de AIB, embora importante para a fase de enraizamento apresenta efeito inibidorn a multiplicação das gemas.

A auxina AIB estimula o aparecimento nas duas espécies de pitaya estudadas, mas foi particularmente mais efetivo no genótipo roxo (*H. megalanthus*).

O substrato Bioplant apresentou os melhores resultados para comprimento e número de raízes, assim como para massa fresca, sendo o mais indicado para a produção de mudas de pitaya.

Devido a pitaya ser uma fruta com sabor suave e doce, seu mercado é bastante visível atualmente, com isso aprofundar-se em estudos relacionados a mesma com objetivos de se obter multiplicações da planta, favorecendo assim, o abastecimento do mercado interno e externo. Trabalhos sobre formas de multiplicações auxiliados por técnicas de adubações da pitaya estão nos planos dos autores, com a finalidade de se obter um retorno produtivo.

#### Referências

ABRAFRUTAS (2019). *Estatística De Exportações De Frutas No Primeiro Trimestre De 2019*. (2019) <https://abrafrutas.org/2019/05/09/Estatistica-De-Exportacoes-De-Frutas-No-Primeiro-Trimestre-De-2019/>.

Ariffin, A. A., Bakar, J., Tan, C. P., Rahman, R. A., Karim, R., & Loi, C. C. (2009). Essential Fatty Acids Of Pitaya (Dragon Fruit) Seed Oil. *Food Chemistry*, 114(2), 561-4.

- Arruda, A. L., Silva, P. S., Grimaldi, F., Richter, A.F., Rufato, L., & Kretzchmar, A.A. (2018). Multiplicação In Vitro Do Porta Enxerto De Macieira G.202. *Revista Científica Rural*. Bagé. 20 (2).
- Bielach, A., Duclercq, J., Marhavý, P., & Benková, E. (2012). Genetic Approach Towards The Identification Of Auxincytokinin Crosstalk Components Involved In Root Development. *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London*, 367 (1595), 1469-78.
- Botin, A.A., & De Carvalho, A. (2015). Reguladores De Crescimento Na Produção De Mudas Florestais. *Revista De Ciências Agroambientais*, Alta Floresta, Mt, 13 (1), 83-96.
- Carvalho, J. M. F. C., Pimentel, N. W., Aires, P. S. R., & Pimentel, L. W. (2006). *Considerações Gerais Sobre Organogênese*. Campina Grande, Embrapa Algodão. Documentos 150, P. 26.
- Chandra, S., Bandopadhyay, R., Kumar, V., & Chandra, R. (2010). Acclimatization Of Tissue Cultured Plantlets: From Laboratory To Land. *Biotechnology Letters*, 32 (9), 1199-1205.
- Clayton, P. W., Hubstenberger, J. F., Phillips, G. C., & Butler-Nance, S. A. (1990). Micropropagation Of Members Of The Cactaceae Subtribe Cactinae. *Journal Of The American Society For Horticultural Science*, 115 (2), 337-343.
- Costa, E., Mesquita, V.D.A.G., Leal, P.A.M., Fernandes, C.D., & Abot, A.R. (2015). Formação De Mudas De Mamão Em Ambientes De Cultivo Protegido Em Diferentes Substratos. *Ceres*, 57 (5), 679-85.
- Dai, C. W., Yan, Y. Y., Liu, Y. M., Liu, Y. M., Deng, Y. W., & Yao, H. Y. (2020). The regeneration of *Acer rubrum* L. "October Glory" through embryonic callus. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1-11.
- Dembitsky, V. M., Poovarodom, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Vearasilp, S., Trakhtenberg, S., & Gorinstein, S. (2011). The Multiple Nutrition Properties Of Some Exotic Fruits: Biological Activity And Active Metabolites. *Food Research International*, 44 (7), 1671-1701.
- Duarte, M. H. (2005). *Armazenamento E Qualidade De Pitaia *Hylocereus Undatus* (Haw.) Britton & Rose, Submetida À Adubação*. Lavras, 2013. 113p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal De Lavras, Lavras. *Ecotoxicology And Environmental Safety*. 60, 324-349.
- Fan, Q. J., Zheng, S. C., Yan, F. X., Zhang, B. X., Qiao, G., & Wen, X. P. (2013). Efficient Regeneration Of Dragon Fruit (*Hylocereus Undatus*) And An Assessment Of The Genetic Fidelity Of In Vitro-Derived Plants Using Issr Markers. *The Journal Of Horticultural Science And Biotechnology*, 88 (5), 631-37.
- Hua, Q., Chen, P., Liu, W., Ma, Y., Liang, R., Wang, L., Wang, Z., Hu, G., & Qin, Y. (2014). A Protocol For Rapid In Vitro Propagation Of Genetically Diverse Pitaya. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 120, 741-45.
- Huang, W., Yang, G., Liu, D., Li, Q., Zheng, L., & Ma, J. (2022). Análise metabolômica e transcriptômica do crescimento in vitro em mudas de pitaya com diferentes tratamentos de espectros de luz LED. *Culturas e produtos industriais*, 186, 115237.
- Junqueira, K. P., Junqueira, N. T. V., Ramos, J. D., & Pereira, A. V. (2002). Informações Preliminares Sobre Uma Espécie De Pitaya Do Cerrado. Planaltina: Embrapa, 18 P.
- Kerbaui, G. B. (2012). *Fisiologia Vegetal*. (2a ed.), Guanabara Koogan. 431 P.
- Le Bellec, F., Vaillant, F., & Imbert, E. (2006). Pitahaya (*Hylocereus Spp.*): A New Fruit Crop, A Market With A Future. *Fruits*, France, 61 (4), 237-250
- 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 (3), 277-280.
- Lima, C. A., Faleiro, F. G., Junqueira, N. T. V., Cohen, K. D. O., & Guimarães, T. G. (2013). Características Físico-Químicas, Polifenóis E Flavonoides Amarelos Em Frutos De Espécies De Pitaia Comerciais E Nativas Do Cerrado. *Revista Brasileira De Fruticultura*. 35 (2), 565-570.
- Lopes, C. A., Dias, G. M. G., Silveira, F. A., Rodrigues, F. A., Pio, L. A. S., & Pasqual, M. (2017). Propagação In Vitro De Pitaia Vermelha. *Plant Cell Culture Micropropagation*, 13 (1), 21-27.
- Menezes, T. P., Gomes, W. A., Pio, L. A. S., Pasqual, M., & Ramos, J. D. (2012). Micropropagação E Endoreduplicação Em Pitaia Vermelha, *Hylocereus Undatus* Haw - *Bioscience Journal*, Uberlândia, 28 (6), 868-876.
- Mizrahi, Y. (2014). Vine-Cacti Pitayas: The New Crops Of The World. *Revista Brasileira De Fruticultura*, Jaboticabal, 36 (1), 124-138.
- Monfort, L.E.F., Pinto, J.E.B.P., Bertolucci, S.K.V., Rossi, Z.T.T., & Santos, F.M. (2012). Efeito Do Bap No Cultivo In Vitro De *Ocimum Selloi* Benth. *Revista Bras. Pl. Med.*, Botucatu, 14 (3), 458-463.
- Obenland, D., Cantwell, M., Lobo, R., Collin, S., Sievert, J., & Arpaia, M. L. (2016). Impact Of Storage Conditions And Variety On Quality Attributes And Aroma Volatiles Of Pitahaya (*Hylocereus Spp.*). *Scientia Horticulturae*, 199, 15-22.
- Silva, A. C. C., Cavallari, L. L., Sabiao, R.R., & Martins, A. B. G. (2015). Fenologia Reprodutiva Da Pitaia Vermelha Em Jaboticabal, Sp. *Ciência Rural*, Santa Maria, 45, 585-590.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia E Desenvolvimento Vegetal*. Artmed Editora, (6a ed.).
- Viñas, M., Fernández-Brenes, M., Azofeifa, A., & Jiménez, V.M. (2012). In Vitro Propagation Of Purple Pitahaya (*Hylocereus Costaricensis* [Fac Weber] Britton & Rose) Cv. Cebra. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 48 (5), 469-477.
- Züge, P. G. U. (2019). Produção De Mudas De Pitaya Através Da Micropropagação. Dissertação De Mestrado. Universidade Federal De Pelotas. F. 69.