

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**  
**Área Fruticultura de Clima Temperado**

**Dissertação**



**Produção de Muda de Pitaya Através da Micropropagação**

**Patrícia Graosque Ulguim Züge**

**Pelotas, 2019**

**Patrícia Graosque Ulguim Züge**

**Produção de Mudas de Pitaya Através da Micropropagação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área Fruticultura de Clima Temperado da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Dra. Márcia Wulff Schuch  
Co-orientadora: Dra. Zeni Fonseca Pinto Tomaz  
Co-orientadora: Dra. Adriane Marinho de Assis

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

U36p Ulguim, Patrícia Graosque

Produção de mudas de pitaya através da micropropagação / Patrícia Graosque Ulguim ; Márcia Wulff Schuch, orientadora ; Zeni Fonseca Pinto, Adriane Marinho de Assis, coorientadoras. — Pelotas, 2019.

69 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. *Hylocereus undatus*. 2. *Hylocereus polyrhizus*. 3. Cultivo in vitro. 4. Reguladores de crescimento. 5. Substratos. I. Schuch, Márcia Wulff, orient. II. Pinto, Zeni Fonseca, coorient. III. Assis, Adriane Marinho de, coorient. IV. Título.

CDD : 634

Patrícia Graosque Ulguim Züge

Produção de Mudas de Pitaya Através da Micropropagação

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 25/03/2019

Banca examinadora:

.....  
Dra. Márcia Wulff Schuch (Orientadora)  
Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel)

.....  
Dra. Elisane Schwartz  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-Grandense (Campus CAVG)

.....  
Dr. Carlos Rogério Mauch  
Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel)

.....  
Dr. Valdecir Carlos Ferri  
Universidade Federal de Pelotas (Departamento de Ciência dos Alimentos/UFPel)

.....  
Dra. Solange Machado Tonietto  
Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel)

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente ao meu melhor amigo e companheiro Diomerson Andriago Züge pelo apoio incondicional durante toda essa jornada.

A minha orientadora Professora Márcia Wulff Schuch que me acolheu, me incentivou e sempre me tratou com carinho. Obrigada pela confiança e orientação nos trabalhos.

As minhas coorientadoras, Professora Adriane Marinho que conseguiu os genótipos para condução desta pesquisa e sempre me auxiliou quando precisei e Zeni Fonseca Pinto Tomaz pelos ensinamentos e ajuda na condução dos experimentos.

Aos meus amigos Leticia Leal de Mello e Robson Rosa de Camargo, que transformaram essa experiência mais leve. Obrigada pelo carinho, pela amizade, pelos momentos divertidos, por me darem a segurança de que sempre quando eu precisasse eu teria com quem contar, obrigada por terem me escolhido!

Gratidão a equipe do Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da UFPel (Mariana Larrondo, Laura Sommer, Andrio Copatti, Juliana Padilha, Jacqueline Barcelos, Raphaella Lobo, Filipe de Oliveira Lessa, Thomaz Burgueño, Tais Dalla Nora Cardoso e Bruna Oliveira), pelos ensinamentos, por serem sempre prestativos e por me ajudarem com os experimentos.

Agradeço a todos os colegas pela amizade e ajuda com as disciplinas, principalmente a Andressa Schiavon e Thamara Foster.

Obrigada a Universidade Federal de Pelotas, os professores do Programa de Pós Graduação em Agronomia e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por conceder bolsa de estudos.

Por fim, agradeço a banca pelas considerações feitas na dissertação.

## Resumo

ZÜGE, Patrícia Graosque Ulguim. **Produção de Mudas de Pitaya Através da Micropropagação**. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área Fruticultura de Clima Temperado, Faculdade Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, 2019.

Objetivou-se com este estudo, desenvolver protocolos de produção de mudas de pitaya por meio da micropropagação. Primeiramente foram realizados cinco experimentos, o objetivo foi gerar um protocolo de produção de mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*, com as etapas de estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização. No segundo trabalho, objetivou-se avaliar as porções do cladódio e 6-benzilaminopurina na multiplicação de *Hylocereus undatus*. Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da Universidade Federal de Pelotas. Cladódios foram segmentados e enraizados em floreiras, as brotações foram utilizados para o estabelecimento. O meio de cultura em todas as etapas foi o MS (Murashige & Skoog) e o pH ajustado em 5,8. No estabelecimento, o experimento foi em esquema fatorial 2x5 (dois genótipos e doses de 6-benzilaminopurina (0, 1, 2, 3 e 4mg L<sup>-1</sup>)), com uma aréola por explante. Após 90 dias, foram avaliados o número de brotações e a porcentagem de explantes regenerados. Na multiplicação foram dois experimentos; o primeiro conduzido em esquema fatorial 2x5 (genótipos e doses de Zeatina (0, 0,2, 0,4, 0,6 e 0,8mg L<sup>-1</sup>) e após 60 dias foram avaliados: número e comprimento de brotações, taxa de multiplicação, número e comprimento de raízes e massa de matéria seca total. No segundo estudo, foi esquema fatorial 2x4 (dois genótipos e doses de 6-benzilaminopurina (0, 0,3, 0,6 e 0,9mg L<sup>-1</sup>)), após 60 dias foram avaliados: número de brotações e taxa de multiplicação. Na etapa de enraizamento foram testadas doses de ácido indolbutírico (0, 0,2, 0,4 e 0,6mg L<sup>-1</sup>) em *Hylocereus undatus*, após 60 dias foram avaliados: número e comprimento de raízes e número e comprimento de brotações. Para aclimatização, foram testados, dois genótipos e os substratos casca de arroz carbonizada, vermiculita, fibra de coco e turfa® fértil. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com temperatura controlada, 25°C ± 2°C. Após 60 dias foram avaliadas o comprimento de parte aérea, número de aréolas, número de raízes primárias e secundárias, comprimento de raiz e massa de matéria seca de raiz e parte aérea. Em outro experimento, foi testada a influência das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e doses de 6-benzilaminopurina (0, 1, 2, 3 e 4mg L<sup>-1</sup>) na multiplicação de *Hylocereus undatus*. No estabelecimento a dose de 2mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina para *Hylocereus polyrhizus* e 4mg L<sup>-1</sup> para *Hylocereus undatus* promovem a indução de brotações e número de brotos. Não é necessário o uso de ácido indolbutírico no enraizamento de *Hylocereus undatus*. A Zeatina apresentou efeito negativo na multiplicação, com 6-benzilaminopurina o maior número de brotos e taxa de multiplicação ocorreu entre as doses 0,6 e 0,9mg L<sup>-1</sup>. Para a aclimatização a casca de arroz carbonizada e vermiculita favoreceram o desenvolvimento das raízes dos dois genótipos. As porções mediana e basal apresentam maior número de brotações e a dose 2mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina são indicadas para multiplicação de *Hylocereus undatus*.

**Palavras-Chave:** *Hylocereus undatus*; *Hylocereus polyrhizus*; cultivo in vitro; reguladores de crescimento; substratos.

## Abstract

ZÜGE, Patrícia Graosque Ulguim. **Production of Pitaya seedlings through micropropagation**. 69f. Dissertation (Master of Science) – Post-Graduate Program in Agronomy, Fruticulture Area of Temperate Climate, Faculty Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Capão do Leão, 2019.

The objective of this study was to develop protocols for the production of pitaya seedlings through micropropagation. First, five experiments were carried out. The objective was to generate a protocol for seedling production of *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*, with the establishment, multiplication, rooting and acclimatization stages. In the second work, we aimed to evaluate the cladode and 6-benzylaminopurine portions in *Hylocereus undatus* multiplication. The works were developed in the Laboratory of Propagation of Fruit Plants of the Federal University of Pelotas. Cladodes were segmented and rooted in flowerbeds, the shoots were used for the establishment. The culture medium at all stages was MS (Murashige & Skoog) and pH adjusted to 5.8. At the establishment, the experiment was in a 2x5 factorial scheme (two genotypes and doses of 6-benzylaminopurine (0, 1, 2, 3 and 4mg L<sup>-1</sup>)), with one areola per explant. After 90 days, the number of shoots and the percentage of regenerated explants were evaluated. In the multiplication were two experiments; the first one was conducted in a 2x5 factorial scheme (genotypes and doses of Zeatin (0, 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8mg L<sup>-1</sup>) and after 60 days were evaluated: number and length of shoots, multiplication rate, number and length of roots and mass of total dry matter. In the second study, a 2x4 factorial scheme (two genotypes and doses of 6-benzylaminopurine (0, 0.3, 0.6 and 0.9mg L<sup>-1</sup>), after 60 days were evaluated: number of shoots and multiplication rate. In the rooting stage, doses of indolebutyric acid (0, 0.2, 0.4 and 0.6mg L<sup>-1</sup>) were tested in *Hylocereus undatus*, after 60 days were evaluated: number and length of roots and number and length of shoots. For acclimatization, two genotypes and the substrates were bark of charred rice, vermiculite, coconut fiber and peat ® Fertil. The experiment was conducted in a greenhouse with controlled temperature, 25 °C ± 2 °C. After 60 days, shoot length, number of areolas, number of primary and secondary roots, root length and dry mass of root and shoot were evaluated. In another experiment, the influence of the cladode portions (apical, median and basal) and doses of 6-benzylaminopurine (0, 1, 2, 3 and 4mg L<sup>-1</sup>) on the multiplication of *Hylocereus undatus* were tested. In the establishment the dose of 2mg L<sup>-1</sup> of 6-benzylaminopurine to *Hylocereus polyrhizus* and 4mg L<sup>-1</sup> to *Hylocereus undatus* promoted the induction of shoots and number of shoots. It is not necessary to use indolebutyric acid in the rooting of *Hylocereus undatus*. Zeatin presented a negative effect on multiplication, with 6-benzylaminopurine the highest number of shoots and multiplication rate occurred between doses 0.6 and 0.9mg L<sup>-1</sup>. For the acclimatization the bark of charred rice and vermiculite favored the development of the roots of the two genotypes. The median and basal portions present a higher number of shoots and the dose 2mg L<sup>-1</sup> of 6-benzylaminopurine are indicated for multiplication of *Hylocereus undatus*.

**Keywords:** *Hylocereus undatus*; *Hylocereus polyrhizus*; in vitro culture; growth regulators; substrates.

## Lista de Figuras

### Origem, Principais Características e Importância Econômica da Cultura da Pitaya

|          |                                                                                              |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 | Raízes aéreas de pitaya fixadas no tutor.....                                                | 17 |
| Figura 2 | A: Cladódio de <i>Hylocereus polyrhizus</i> ; B: Cladódio de <i>Hylocereus undatus</i> ..... | 18 |
| Figura 3 | A: Botões florais. B: Flor de pitaya.....                                                    | 19 |
| Figura 4 | A: Fruto de <i>Hylocereus polyrhizus</i> , B: Fruto de <i>Hylocereus undatus</i> .....       | 20 |

### Capítulo 1 Protocolo para micropropagação de *Hylocereus* sp

|          |                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 | A: Estacas de pitaya ( <i>Hylocereus</i> sp.) cultivadas em floreira com areia. B: Brotações emitidas utilizadas para estabelecimento in vitro.....                                                                                                           | 26 |
| Figura 2 | Tubo com explante em forma de cunha para estabelecimento in vitro...                                                                                                                                                                                          | 27 |
| Figura 3 | Regressão quadrática do número de brotações por explante de <i>Hylocereus polyrhizus</i> e cúbica para <i>Hylocereus undatus</i> estabelecidos em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....     | 32 |
| Figura 4 | Regressão cúbica da porcentagem de explantes regenerados de <i>Hylocereus polyrhizus</i> e quadrática para <i>Hylocereus undatus</i> estabelecidos em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 33 |

|           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 5  | Regressão quadrática do comprimento de brotações de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                 | 35 |
| Figura 6  | Regressão quadrática da taxa de multiplicação de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                    | 36 |
| Figura 7  | A: Regressão linear do número de raízes de <i>Hylocereus</i> sp. multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. B: Regressão quadrática do comprimento de raízes de <i>Hylocereus</i> sp. multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 36 |
| Figura 8  | A: Regressão quadrática massa seca total (raiz e parte aérea) de <i>Hylocereus</i> sp. em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                                                     | 37 |
| Figura 9  | Regressão quadrática do número de brotações em função da dose de BAP. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                                                                                                                          | 37 |
| Figura 10 | Regressão cúbica da taxa de multiplicação de <i>Hylocereus</i> sp. em função da dose de BAP. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                                                                                                   | 38 |
| Figura 11 | Regressão linear do número de brotações no enraizamento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS.....                                                                                                                                                         | 40 |
| Figura 12 | Regressão cúbica do número de raízes primárias no enraizamento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                           | 41 |
| Figura 13 | Regressão quadrática do número de raízes secundárias no enraizamento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                     | 41 |

|           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 14 | Regressão cúbica do tamanho de raízes secundárias no enraizamento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                                                                                                                                                                                   | 42 |
| Figura 15 | Explantos de <i>Hylocereus undatus</i> enraizados sem a adição de AIB ao meio MS (A), com 0,2mg L <sup>-1</sup> (B), 0,4mg L <sup>-1</sup> (C) e 0,6mg L <sup>-1</sup> (D) de AIB adicionado ao meio MS.....                                                                                                                                                                                                                         | 41 |
| Figura 16 | Mudas aclimatizadas em diferentes substratos de <i>Hylocereus polyrhizus</i> . A: Casca de arroz carbonizada; B: Fibra de coco; C: Turfa; D: Vermiculita.....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 47 |
| Figura 17 | Mudas aclimatizadas em diferentes substratos de <i>Hylocereus undatus</i> . A: Casca de arroz carbonizada; B: Fibra de coco; C: Turfa; D: Vermiculita.....                                                                                                                                                                                                                                                                           | 47 |
| Figura 18 | Planta Matriz, cladódios utilizados para estacas, estacas enraizadas em floreiras, brotações emitidas nas estacas, estabelecimento em meio MS+2mg L <sup>-1</sup> de BAP (três meses), multiplicação em meio MS com adição de 0,6mg L <sup>-1</sup> de BAP (dois meses), enraizamento em meio MS sem adição de regulador de crescimento (dois meses), aclimatização das mudas substrato casca de arroz carbonizada (três meses)..... | 50 |

## Capítulo 2 Porção do cladódio e 6-benzilaminopurina na multiplicação in vitro de pitaya

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 | Explantos divididos em porção apical, media e basal do cladódio de <i>Hylocereus undatus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                                              | 54 |
| Figura 2 | A: Regressão quadrática do tamanho de brotações emitidas em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> em função da dose de BAP no meio de cultura MS. B: Regressão quadrática do número de brotações emitidas em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 54 |

Figura 3      Regressão quadrática da porcentagem de brotações emitidas em explantes da porção apical do cladódio de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....55

Figura 4      Regressão quadrática do número de aréolas em explantes da porção apical do cladódio de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....56

Figura 5      Regressão cúbica do número de aréolas dos brotos das porções basal e mediana do cladódio de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019....58

## Lista de Tabelas

### Capítulo 1 Protocolo para micropropagação de *Hylocereus* sp.

|          |                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 | Número de brotações em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> estabelecidos em função das doses de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                | 32 |
| Tabela 2 | Porcentagem de explantes regenerados em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> estabelecidos em função das doses de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....               | 32 |
| Tabela 3 | Número de brotações em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> multiplicados em função das doses de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                            | 34 |
| Tabela 4 | Comprimento de brotações em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> em função das doses de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                                     | 35 |
| Tabela 5 | Taxa de multiplicação em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> multiplicados em função das doses de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.....                                          | 35 |
| Tabela 6 | Comprimento de parte aérea de mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> em função do substrato (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.....              | 42 |
| Tabela 7 | Número total de aréolas em mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 43 |

|          |                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 8 | Massa seca de parte aérea de mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 43 |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|          |                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 9 | Número de raízes primárias em mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 44 |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|           |                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 10 | Número de raízes secundárias em mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 44 |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|           |                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 11 | Comprimento médio de raízes em mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 45 |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|           |                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 12 | Massa seca de raiz em mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 45 |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|           |                                                                                                      |    |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 13 | Condutividade elétrica (CE) e pH dos substratos testados. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 48 |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## **Capítulo 2 Porção do cladódio e 6-benzilaminopurina na multiplicação in vitro de pitaya**

|          |                                                                                                                                                                    |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 | Número e comprimento médio de brotações de explantes das porções apical, mediana e basal de <i>Hylocereus undatus</i> . Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 54 |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|          |                                                                                                                                                                                                                          |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 2 | Formação de brotos em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> em função das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 55 |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|          |                                                                                                                                                                                                                         |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 3 | Número de aréolas em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> em função das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 56 |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|          |                                                                                                                                                                                                                      |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 4 | Número de aréolas de brotações em explantes de <i>Hylocereus undatus</i> em função das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e dose de BAP no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019..... | 57 |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## Sumário

|       |                                                                                                                   |    |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1     | INTRODUÇÃO.....                                                                                                   | 15 |
| 2     | REVISÃO DE LITERATURA.....                                                                                        | 16 |
| 2.1   | Origem, Principais Características e Importância Econômica da Cultura da Pitaya.....                              | 16 |
| 2.2   | Métodos de Propagação de Pitaya .....                                                                             | 21 |
| 2.3   | Reguladores de Crescimento.....                                                                                   | 22 |
| 3     | Capítulo 1- Protocolo para micropropagação de <i>Hylocereus</i> sp. ....                                          | 24 |
| 3.1   | Introdução .....                                                                                                  | 24 |
| 3.2   | Material e Métodos.....                                                                                           | 25 |
| 3.2.1 | Estabelecimento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> .....                        | 26 |
| 3.2.2 | Multiplicação in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> .....                          | 28 |
| 3.2.3 | Enraizamento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> .....                                                          | 29 |
| 3.2.4 | Aclimatização das mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> em diferentes substratos..... | 30 |
| 3.3   | Análise Estatística.....                                                                                          | 31 |
| 3.4   | Resultados e Discussão.....                                                                                       | 31 |
| 3.4.1 | Estabelecimento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> .....                        | 31 |
| 3.4.2 | Multiplicação in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> .....                          | 34 |
| 3.4.3 | Enraizamento in vitro de <i>Hylocereus undatus</i> .....                                                          | 39 |
| 3.4.4 | Aclimatização das mudas de <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> em diferentes substratos..... | 42 |
| 3.5   | Conclusão .....                                                                                                   | 50 |

|     |                                                                                               |    |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4   | Capítulo 2- Porção do cladódio e 6-benzilaminopurina na multiplicação in vitro de pitaya..... | 51 |
| 4.1 | Introdução .....                                                                              | 51 |
| 4.2 | Material e Métodos.....                                                                       | 52 |
| 4.3 | Resultados e Discussão .....                                                                  | 53 |
| 4.4 | Conclusão .....                                                                               | 58 |
| 5   | Considerações Finais.....                                                                     | 59 |
|     | REFERÊNCIAS .....                                                                             | 60 |

## 1 Introdução

A fruticultura é um setor em expansão que contribui na geração de emprego e renda, colocando o Brasil em destaque no mercado mundial de produção de frutas. Segundo a Associação Brasileira de Produtores Exportadores de Frutas e Derivados (ABRAFRUTAS, 2018), mesmo com o aumento do consumo, o Brasil não atinge o nível de 400g per capita de frutas e vegetais (WHO, 2003), recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), sendo um desafio para os próximos anos.

Dentre as frutíferas que tem conquistado os consumidores e a indústria de alimentos está a pitaya, cactácea endêmica das Américas, sendo EUA, México e América do Sul os centros de diversidade da espécie (BARTHLOTT; HUNT, 1993). No cerrado brasileiro ocorre grande diversidade entre os acessos de pitayas nativas (JUNQUEIRA et al., 2010).

Esta planta possui frutos atraentes em forma, cor e sabor, além das propriedades funcionais (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006). Nos frutos da pitaya já foram identificados diferentes compostos como betalaínas, flavonóides, ácidos fenólicos, triterpenos, esteróis e ácidos graxos (IBRAHIM et al., 2018). Independentemente da cor da polpa (branca ou vermelha), a pitaya é fonte de potássio (VIZZOTTO et al., 2016).

Alguns estudos realizados comprovam que frutos do gênero *Hylocereus* apresentam várias bioatividades como antioxidante, inibição do crescimento de células cancerígenas (WU et al., 2006), antimicrobiano (TENORE; NOVELINO; BASILE, 2012) e também foi comprovado em estudos com ratos diabéticos que extratos de flores e cladódios auxiliam na cicatrização de feridas (PEREZ; VARGAS; ORTIZ, 2005).

A cultura da pitaya também possui potencial para ser utilizada como planta ornamental devido à beleza das suas flores e frutos (JUNQUEIRA et al., 2007). A pitaya-do-serrado ou saborosa era utilizada em paisagismo de cercas e muros de fazendas mais antigas de Minas Gerais e Goiás (JUNQUEIRA et al., 2002).

Com o aumento das áreas de cultivo, principalmente em pequenas propriedades rurais, ocorre o aumento na demanda por mudas de qualidade.

O principal método de propagação de pitaya é a estaquia. No entanto, a enxertia também tem sido utilizada (SILVA, 2014), além do uso de sementes, que constitui uma importante ferramenta para o melhoramento genético.

Outra opção para a obtenção de mudas é a propagação in vitro de pitaya (DREW; AZIMI, 2002; HUA et al., 2014; MOHAMED-YASSEN, 2002; VIÑAS et al.,

2012), podendo ser uma técnica utilizada para produção de mudas isentas de patógenos. Além disso, a micropropagação possibilita a rápida multiplicação clonal e em períodos de tempo e espaço físico reduzidos, principalmente devido ao controle do meio e condições ambientais (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; QUISEN; ANGELO, 2008).

Apesar da demanda por mão de obra qualificada, laboratório e equipamentos, a micropropagação oferece melhor relação custo-benefício, uma vez que permite a produção em escala comercial, material uniforme e selecionado (CID; TEIXEIRA, 2014).

Através do cultivo in vitro é possível a conservação de germoplasma de espécies de interesse agrônomo, medicinais ou espécies que a multiplicação é realizada exclusivamente por propagação vegetativa (MARTINS et al., 2011; SOUZA et al., 2009). O cultivo in vitro de plantas também pode servir para pesquisas em diferentes áreas da biologia, como genética, fitopatologia e principalmente fisiologia vegetal (CID; TEIXEIRA, 2014).

A geração de protocolos para a micropropagação é primordial, uma vez que cada espécie responde de uma maneira às condições de estabelecimento, multiplicação, enraizamento e de aclimatização (HUA et al., 2014). Além disso, no caso da pitaya, as informações sobre essa técnica são escassas, o que evidencia a importância de trabalhos sobre esse tema.

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho desenvolver um protocolo de produção de mudas de pitaya por meio da micropropagação.

## 2 Revisão de Literatura

### 2.1 Origem, Principais Características e Importância Econômica da Cultura da Pitaya

A família Cactaceae compreende cerca de 200 gêneros e mais de 1500 espécies, geralmente encontradas nas regiões semiáridas da América Latina. Há relatos de que as espécies dessa família tiveram origem na América do Norte, Central e do Sul (LE BELLEC et al., 2006).

Segundo Cavalcante, Teles e Machado (2013), do Canadá até a Argentina ocorre elevada riqueza e abundância de cactos, sendo que poucas espécies ocorrem de forma natural em outros continentes. O México é considerado o centro de dispersão de cactos colunares, onde aproximadamente 70 espécies são cultivadas em todo território e algumas utilizadas como alimento pelas populações indígenas desde as primeiras fases da ocupação humana (CRUZ; CASAS, 2002).

No Brasil, o semiárido é considerado um centro de riqueza de cactos, pois abriga cerca de 100 espécies nativas, das quais cerca de 80 são endêmicas (CAVALCANTE et al., 2013).

No gênero *Hylocereus* são conhecidas 19 espécies (BAUER, 2003), dentre as quais está a pitaya (LEGARIA et al., 2005; NERD et al., 2002). As espécies de pitaya mais conhecidas são a pitaya de casca amarela e polpa branca, também chamada de colombiana (*Hylocereus megalanthus* K. Schum. Ex Vaupel Moran), a de casca vermelha ou rósea e polpa branca (*Hylocereus undatus* Haworth Britton & Rose ex Britton) e a de casca vermelha e polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus* F.A.C. Weber ex K. Schumann Britton & Rose).

A pitaya é uma frutífera tropical, perene de hábito escandente (CAVALCANTE; TELES; MACHADO, 2013) que ocorre naturalmente em diversas condições geográficas e ambientais (BARTHLOTT; HUNT, 1993), além disso possui ampla gama de morfologia nos frutos e cladódios (TEL-ZUR et al., 2011).

Possui raízes aéreas na base mais plana dos cladódios (GARCÍA-RUBIO et al., 2015; JUNQUEIRA et al., 2002), que auxiliam na absorção de água e nutrientes, além de servir para fixação da planta no tutor (Figura 1).



Figura 1- Raízes aéreas de pitaya fixadas no tutor. Foto: Patrícia Graosque.

A planta possui uma alta capacidade de adaptação a condições ambientais distintas pela sua grande distribuição geográfica, sendo encontrada em regiões quentes e úmidas e regiões mais frias (SILVA, 2014). Essa capacidade ocorre devido o metabolismo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas) e hábito escandente ou trepador com raízes aéreas, que permite a planta crescer em árvores, arbustos e rochas (PAULA; RIBEIRO, 2004). Assim, pode ser mais eficiente no uso de água que outras frutíferas (MIZRAHI, 2015), o que permite o cultivo em solos inaptos para outras culturas (JUNQUEIRA et al., 2002).

O caule (Figura 2) é classificado morfológicamente como cladódio (segmentos de caules), é suculento e possui aréolas (gemas) com espinhos de 2 a 4mm de comprimento (CANTO, 1993). O número de costelas por cladódio pode variar de três a cinco (SILVA, 2014), podendo apresentar pequenas variações entre indivíduos da mesma espécie (CAVALCANTE; TELES; MACHADO, 2013).

Entre os genótipos de pitaya cultivados, ocorrem diferenças entre o número de costelas, margens das costelas e distância entre as aréolas, como pode ser observado nas figuras 2A e 2B.

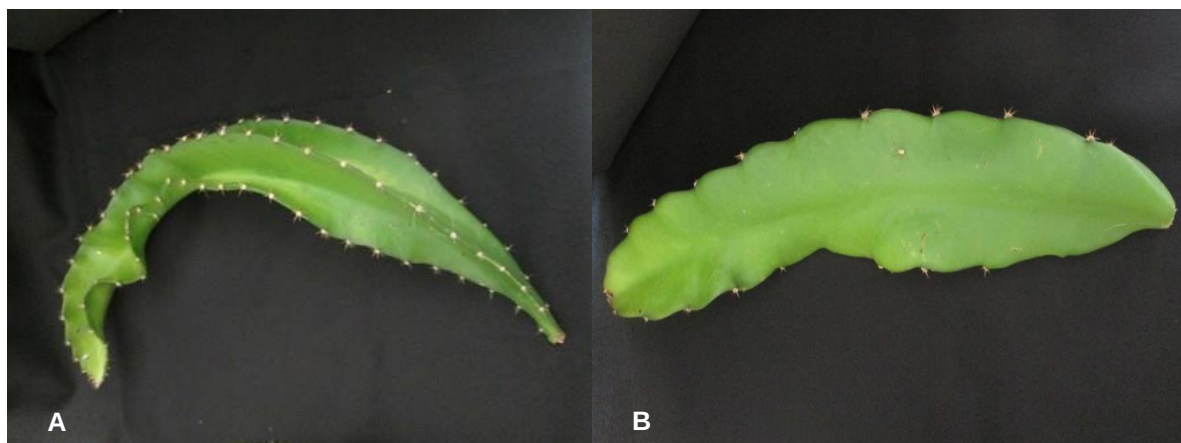


Figura 2- A: Cladódio de *Hylocereus polyrhizus*; B: Cladódio de *Hylocereus undatus*.  
Foto: Patrícia Graosque

As flores nascem nas axilas dos espinhos (Figura 3A) e abrem principalmente à noite (Figura 3B), são hermafroditas, crescem diretamente dos cladódios e podem ter coloração branca ou rosa, dependendo da espécie (BECERRA, 1983; CRANE; BALERDI, 2005; LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006).

O florescimento é assíncrono, ou seja, ocorre na planta ao mesmo tempo, botões em estágio inicial, botões em desenvolvimento, frutos verdes e frutos maduros (MARQUES et al., 2011; SILVA, 2014).

Considerada planta de dias longos, o fotoperíodo possui influência direta na formação de gemas floríferas (JIANG et al., 2012). O florescimento é estimulado por altas temperaturas e precipitação e a antese ocorre durante a noite, ocorrendo a abertura floral uma única vez (MARQUES et al., 2011; SILVA; MARTINS; CAVALLARI, 2011).



Figura 3- A: Botões florais. B: Flor de pitaya.

Foto A: André Ferrari e B: Patrícia Graosque

A polinização da pitaya ocorre principalmente por abelhas (*Apis mellifera* L.) e morcegos (MARQUES et al., 2012b; VALIENTE-BANUET et al., 2007), porém a polinização manual é a que proporciona maior pegamento dos frutos (WEISS; NERD; MIZRAHI, 1994).

O fruto é do tipo baga, globoso ou subgloboso, com diâmetro variável, coberto com brácteas (escamas) ou espinhos. A coloração da polpa e da casca vai depender da espécie, como pode ser observado nas figuras 4A e 4B (CANTO 1993; LORENZI et al., 2006). As sementes medem aproximadamente três milímetros de diâmetro e encontram-se distribuídas em toda a polpa, também podem variar de tamanho devido a espécie (ANDRADE et al., 2008; CRANE; BALERDI, 2005; LE BELLEC et al., 2006; SILVA, 2014).

De acordo com a espécie, os frutos podem apresentar características físicas e químicas diversificadas quanto ao formato, cor da casca e da polpa, presença de espinhos ou escamas na casca, teores de sólidos solúveis e pH, devido à alta diversidade genética desta frutífera (LIMA et al., 2013).

Nos frutos concentram-se alto teor de água, minerais (potássio, sódio, cálcio, ferro, fósforo) açúcares (glicose e frutose) e antioxidantes, sendo considerados altamente nutritivos e de baixo valor calórico, independentemente da cor da polpa (MOLINA et al., 2009; VIZZOTTO et al., 2016). Os compostos bioativos, com exceção dos carotenoides, se concentram na polpa; consequentemente, a maior atividade antioxidante também (VIZZOTTO et al., 2016).



Figura 4- A: Fruto de *Hylocereus polyrhizus*, B: Fruto de *Hylocereus undatus*.

Foto: A: Juliana Padilha e B: Jacqueline Barcelos.

Chamada de “Fruta dragão” em países do Oriente (MIZRAHI; NERD, 1996) por possuir escamas na casca, a pitaya tem ganhado destaque no setor da fruticultura brasileira.

No Brasil, o Estado de São Paulo foi pioneiro no cultivo em escala comercial de *H. undatus* na década de 90 (NUNES et al., 2014). A partir dos anos 2000 outras espécies do mesmo gênero foram introduzidas.

Segundo dados preliminares do censo agropecuário de 2017 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), grande parte da produção brasileira de pitaya é cultivada nas regiões Sudeste e Sul. São Paulo com 33,66% da produção nacional em 526 estabelecimentos e Santa Catarina com 21,39% e 275 estabelecimentos, são os principais produtores.

No Rio Grande do Sul tem aproximadamente 650 estabelecimentos agropecuários com cultivo de pitaya, porém o estado é responsável por apenas por 5,80% da produção nacional da fruta (IBGE, 2018).

As regiões Sudeste e Sul do Brasil são as principais produtoras do país, onde a cultura da pitaya se aclimatou muito bem, com produção de frutos nos meses de dezembro a maio (BASTOS et al., 2006). A produtividade média de pitaya no país pode oscilar entre 10 e 30t ha<sup>-1</sup>, dependendo do manejo realizado (LAREDO, 2016).

## **2.2 Métodos de Propagação de Pitaya**

A multiplicação de plantas é realizada por métodos de propagação sexuada ou assexuada (vegetativa) e visa a perpetuação de espécies, o aumento no número de indivíduos e a garantia da manutenção das características agrônômicas desejáveis (FACHINELLO et al., 2005). Um bom método de propagação deve ser de baixo custo e fácil execução, além de proporcionar um elevado percentual de mudas obtidas (SOUZA; ARAUJO, 1999).

Do ponto de vista agrônômico a propagação assexuada é mais importante que a realizada por semente, por proporcionar a precocidade e uniformidade fenotípica dos pomares, sendo o mais recomendado para a multiplicação comercial de espécies frutíferas (FACHINELLO et al., 2005).

Embora a propagação de pitaya por sementes possa levar a um tempo maior do plantio até a frutificação (MARQUES, 2010), além de apresentar desuniformidade entre

as mudas, esse tipo de propagação é importante para obtenção de variabilidade em programas de melhoramento da espécie (ELOBEIDY, 2006).

Além da propagação sexuada, a micropropagação é um método de propagação vegetativa realizada sob condições assépticas com a utilização de fragmentos de plantas denominados explantes (LEMA-RUMINSKA; KALUS, 2014).

Na micropropagação a regeneração *in vitro* pode ocorrer por duas vias, a organogênese e embriogênese somática. Durante a morfogênese *in vitro* os brotos e embriões podem ser formados diretamente do explante ou através da fase intermediária de calo (GEORGE et al., 2008; SRISKANDARAJAH et al., 2006).

A organogênese é gerada por intermédio da diferenciação de órgãos e brotos diretamente do explante (organogênese direta) ou passando por uma fase intermediária de formação de calos antes de regenerar uma nova planta (organogênese indireta), sendo esta segunda, uma das vias morfológicas mais utilizadas na micropropagação (CARVALHO et al., 2006; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A técnica de cultura de células e tecidos vegetais é de grande aplicação para o desenvolvimento de pesquisas em diversas áreas do conhecimento, como por exemplo a produção de mudas, manipulação de material vegetal, para melhoramento genético de plantas, produção de metabólitos bioativos (CID; TEIXEIRA, 2014; TROMPE, 2007). No entanto, as respostas dos vegetais a cultura de tecidos é altamente dependente do genótipo e por este motivo não é possível estabelecer um protocolo de regeneração que se aplique as plantas de forma geral (ESTRADA-LUNA et al., 2008). Para obter sucesso na produção de mudas micropropagadas é necessário dominar todas as etapas do processo, como estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005; PASA et al., 2012; QUISEN; ANGELO, 2008). Cada etapa apresenta diferentes objetivos e exigências em relação a composição do meio de cultura, concentração e tipo de regulador de crescimento (QUISEN; ANGELO, 2008).

Na micropropagação o meio de cultura é essencial, pois fornece os nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento dos tecidos vegetais cultivados *in vitro*. As exigências variam de acordo com a espécie, por isso existem várias formulações (SILVA; FERREIRA, 2016), dentre elas o meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) é o mais utilizado para cultivo *in vitro*, inclusive em cactáceas.

## 2.3 Reguladores de Crescimento

Os reguladores de crescimento são moléculas sintéticas que tem efeito parecido com os hormônios vegetais. Kielse et al. (2009) citam que além da escolha do explante mais adequado, é necessário o uso de fitorreguladores ou reguladores de crescimento para estimular a formação de parte aérea e raízes.

As auxinas, giberelinas e citocininas (naturais ou sintéticas) são os grupos de reguladores de crescimento mais utilizados na cultura de tecidos (CID; TEIXEIRA, 2014; QUISEN; ANGELO, 2008), isolados ou em combinações, para estimular o crescimento rápido de células e posterior desenvolvimento organizado de raízes e parte aérea (DINIZ et al., 2006).

O ácido indol-3-acético (AIA), ácido indol-butírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA) são as principais auxinas utilizadas no cultivo in vitro. O ácido indolbutírico (AIB) é uma auxina que ao ser aplicada exógenamente induz as raízes adventícias, podendo formar calo antes de aparecer as raízes (LEMOS, 2014). A indução de calos ou enraizamento vai depender da concentração utilizada e do tipo de composto (CID; TEIXEIRA, 2014).

As citocininas são de um grupo de substâncias que promovem a divisão celular (TAIZ et al., 2017), sendo usadas na cultura de tecidos para promover a indução de brotos adventícios a partir de calos ou para induzir multibrotação a partir de gemas axilares ou apicais (CID et al., 1994), e também atuam na quebra da dominância apical (QUISEN; ANGELO, 2008).

A Zeatina é uma citocinina natural (CID; TEIXEIRA, 2014) utilizada para indução de brotações, enquanto a 6-benzilminopurina (BAP) é sintética e utilizada em diferentes espécies na cultura de tecidos (SOARES et al., 2011). Além dessas, o Tidiazuron (TDZ) é um regulador de crescimento que também pode agir como citocinina e induzir a formação de brotações (CID; TEIXEIRA, 2014).

### 3 Capítulo 1- Protocolo para micropropagação de *Hylocereus* sp.

#### 3.1 Introdução

Chamada de “Fruta dragão” em países do Oriente (MIZRAHI; NERD, 1996) por possuir escamas na casca, a pitaya tem conquistado destaque no setor da fruticultura brasileira, sendo produzida de Norte a Sul. É altamente nutritiva, com alto teor de água, minerais e açúcares, além de ser rica em compostos antioxidantes e de baixo valor calórico (MOLINA; CRUZ; QUINTO, 2009; VIZZOTTO et al., 2016).

No Brasil as áreas de produção encontram-se em expansão; porém, para o sucesso no cultivo é fundamental a produção de mudas de boa qualidade genética, fisiológica e sanitária.

Dentre os métodos utilizados para a obtenção de mudas, a micropropagação possibilita a rápida multiplicação clonal e em períodos de tempo e espaço físico reduzidos, principalmente devido ao controle do meio e condições ambientais (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; QUISEN; ANGELO, 2008). Esta ferramenta biotecnológica vem sendo aplicada para a conservação de diferentes espécies de cactáceas nativas e adaptadas ao Semiárido brasileiro (SILVA; FERREIRA, 2016).

Nas cactáceas a micropropagação é realizada por indução da embriogênese somática, brotações adventícias ou pela ativação de gemas axilares (aréolas) (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014; SILVA; FERREIRA, 2016). Assim, para a produção de mudas de pitaya por micropropagação a geração de protocolos faz-se necessário, tendo em vista que cada espécie responde de maneira diferente às condições de multiplicação, enraizamento e de aclimatização (ESTRADA-LUNA et al., 2008; HUA et al., 2014).

Para a produção de mudas micropropagadas é necessário dominar todas as etapas, como estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005; PASA et al., 2012; QUISEN; ANGELO, 2008).

No estabelecimento do material in vitro, a condição da planta matriz, escolha do explante, nível de contaminação, juvenilidade do tecido e estação do ano, podem influenciar no sucesso desta etapa (CID; TEIXEIRA, 2014).

Por ser uma cactácea, a pitaya possui os meristemas localizados nas aréolas e podem ser sensíveis a ação desinfetante e devido à presença de espinhos, pode

ocorrer a formação de bolhas de ar, impedindo o contato com o agente desinfetante (LEMA-RUMINSKA; KULUS, 2014; SKIRVIN et al., 1999).

Na multiplicação do material o principal objetivo é a formação de novas brotações (proliferação dos explantes), mantendo a estabilidade genética, e isso vai depender da dose de citocinina utilizada ou do balanço auxina-citocinina (DUTRA; WENDLING; BRANDANI, 2009).

A etapa de enraizamento é considerada fundamental para a maioria das espécies, pois as raízes são importantes para absorção de água e nutrientes. A auxina é o principal regulador do crescimento e desenvolvimento radicular (SAINI et al., 2013), e o bom desenvolvimento das raízes é fundamental para o alcance de elevadas taxas de sobrevivência na aclimatização das mudas (COSTA, 2008).

A transferência das plantas micropropagadas para se adaptarem a um novo ambiente é uma das etapas mais críticas da produção de mudas. Os cactos possuem vantagem em relação as demais plantas, principalmente devido ao caule suculento que minimiza o estresse durante a aclimatização (MALDA et al., 1999). Segundo Moreira et al. (2006), a escolha de um substrato adequado pode reduzir a mortalidade das mudas micropropagadas durante a aclimatização.

Objetivou-se neste trabalho gerar um protocolo de produção de mudas de *H. undatus* e *H. polyrhizus* por micropropagação, incluindo as etapas de estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização.

### 3.2 Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no período de março de 2017 à janeiro de 2019, em estufa agrícola e no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas pertencentes ao departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPeI), Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil.

O material vegetal utilizado foi oriundo de plantas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* provenientes da Universidade Estadual de Londrina (UEL) com sete anos de idade. Após retirada da porção apical e basal, os cladódios foram segmentados, deixando-se seis gemas (aréolas), sendo duas em cada costela.

As estacas foram cultivadas em floreiras de polietileno de dimensões de 35cm de altura x 27cm de largura x 72cm de comprimento e volume de 82,8L, com o fundo coberto com uma camada de 5cm de brita média para drenagem e areia de granulometria média e (Figura 1A), em casa de vegetação.

Após a emissão de novos brotações (cladódios) que foram utilizados no estabelecimento in vitro da cultura (Figura 1B).

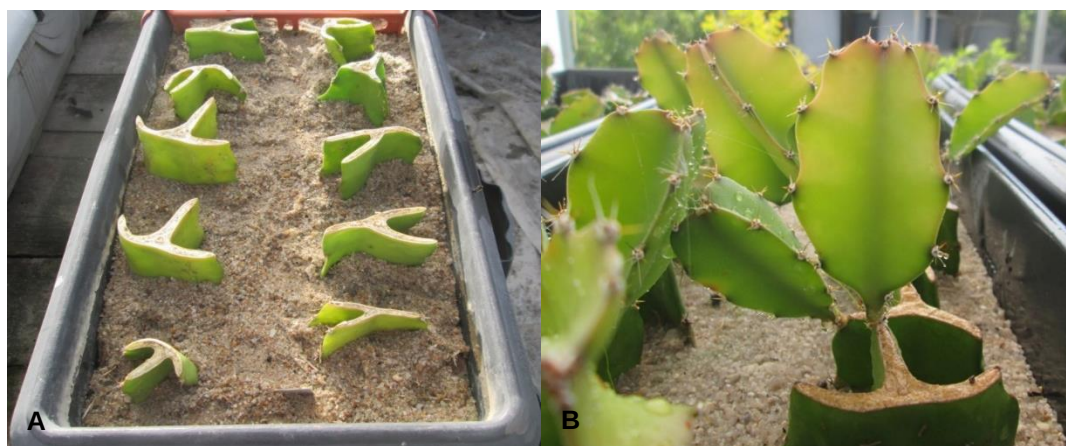


Figura 1- A: Estacas de pitaya (*Hylocereus* sp.) cultivadas em floreira com areia. B: Brotações emitidas utilizadas para estabelecimento in vitro.  
Foto: Patrícia Graosque.

A irrigação foi realizada de forma manual, sempre que necessário. Três semanas antes da coleta do material, foram realizadas aplicações semanais de fungicida e bactericida, sendo 3ml L<sup>-1</sup> de casugamicina (ingrediente ativo Casugamicina 20g L<sup>-1</sup>) e 0,7g L<sup>-1</sup> de tiofanato-metílico (ingrediente ativo Tiofanato-metílico 700g L<sup>-1</sup>) para prevenir possíveis contaminações.

### 3.2.1 Estabelecimento in vitro de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*

O experimento foi conduzido no período de dezembro de 2017 à março de 2018, no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas. Foram utilizados como explantes, brotações (cladódios) de plantas matrizes com sete meses de idade cultivadas em estufa agrícola.

Com o auxílio de uma tesoura de poda, os cladódios foram retirados e levados para o laboratório para realização da desinfestação. Sob agitação, os cladódios foram imersos no álcool 70% durante um minuto; posteriormente em hipoclorito de sódio

(2,5% de cloro ativo) acrescido de duas gotas de Tween 20® durante 15 minutos e, para finalizar, foram realizadas três lavagens com água esterilizada em capela de fluxo laminar.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, conduzido em esquema fatorial 2x5 (dois genótipos (*H. undatus* e *H. polyrhizus*) e cinco doses de 6-benzilaminopurina (0, 1, 2, 3 e 4mg L<sup>-1</sup>). Foram 10 tratamentos com quatro repetições de 25 tubos (com um explante por tubo), totalizando 100 amostras por tratamento.

Os cladódios foram excisados em forma de cunha (Figura 2) com aproximadamente 1cm, deixando-se uma aréola (gema) por explante. Os explantes foram inoculadas em tubos contendo 7mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com sacarose (30g L<sup>-1</sup>), mio-inositol (100mg L<sup>-1</sup>), ágar (7g L<sup>-1</sup>) e as doses de BAP (0, 1, 2, 3 e 4mg L<sup>-1</sup>), o pH foi ajustado em 5,8.

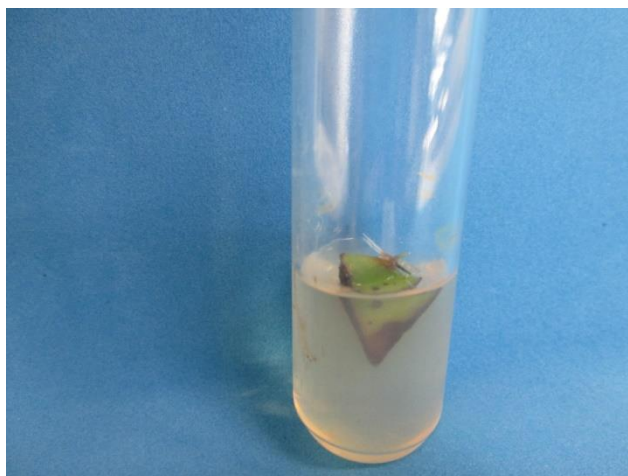


Figura 2- Tubo com explante em forma de cunha para estabelecimento in vitro.  
Foto: Patrícia Graosque

Antes da inoculação dos explantes os tubos com o meio de cultura foram vedados com folha de alumínio e autoclavados a 120°C de temperatura e 1,5atm de pressão por 20 minutos.

Os tubos inoculados foram colocados em uma caixa de papelão e mantidos no escuro em temperatura de 25 ± 2°C por sete dias, posteriormente foram transferidos para 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.

Após 90 dias de cultivo foram avaliadas a porcentagem de explantes regenerados e o número de brotações (cladódios) por explante.

### 3.2.2 Multiplicação in vitro de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*

Após o período de 90 dias de estabelecimento, os brotos emitidos foram utilizados em dois experimentos de multiplicação.

Em ambos experimentos foi utilizado o meio de cultura MS, suplementado com 30g L<sup>-1</sup> sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> mio-inositol, 7g L<sup>-1</sup> ágar e as diferentes doses de Zeatina ou BAP, o pH foi ajustado em 5,8. Porém, em um experimento foi usado o meio de cultura com Zeatina e no outro utilizado, com 6-benzilaminopurina (BAP).

Foram colocados 30mL de meio MS por frasco de vidro com capacidade para 200mL, que após serem vedados com folha de alumínio, foram autoclavados a 120°C de temperatura e 1,5atm de pressão por 20 minutos.

#### Experimento 1: Multiplicação com Zeatina

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, conduzido em esquema fatorial 2x5, sendo os fatores: genótipo (*H. undatus* e *H. polyrhizus*) e doses de Zeatina (0, 0,2, 0,4, 0,6 e 0,8mg L<sup>-1</sup>). Os tratamentos continham cinco repetições, cada uma com cinco explantes.

Foram retirados a parte basal e apical do cladódio e utilizado apenas a porção mediana. Os cladódios foram segmentados, deixando-se seis aréolas por explante com 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 60 dias.

Ao final do experimento as variáveis avaliadas foram: número e comprimento de brotações, taxa de multiplicação, número e comprimento de raízes e massa de matéria seca total (raiz e parte aérea).

O comprimento das brotações foi mensurado com o auxílio de paquímetro digital. A taxa de multiplicação foi determinada dividindo-se o número de aréolas obtido após 60 dias de cultivo pelo número inicial de seis aréolas do explante (ERIG; SCHUCH, 2002).

## Experimento 2: Multiplicação com BAP

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, conduzido em esquema fatorial 2x4, sendo os fatores: genótipo (*H. undatus* e *H. polyrhizus*) e doses de BAP (0, 0,3, 0,6, e 0,9mg L<sup>-1</sup>). Os tratamentos continham cinco repetições, cada uma com cinco explantes.

Foram retirados a parte basal e apical do cladódio e utilizado apenas a porção mediana. Os cladódios foram segmentados, deixando-se seis aréolas por explante com duas em cada costela.

Após a inoculação dos explantes, os frascos foram colocados na 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 60 dias.

Ao final do experimento as variáveis avaliadas foram o número de brotações e a taxa de multiplicação.

### **3.2.3 Enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus***

O experimento de enraizamento foi realizado com apenas *H. undatus*. Após o estabelecimento e multiplicação in vitro, foram utilizados as brotações, os explantes foram padronizados com aproximadamente 1,5cm, sendo retirada apenas a parte basal.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde foram testadas doses (0, 0,2, 0,4 e 0,6mg L<sup>-1</sup>) de ácido indolbutírico (AIB), com cinco repetições por tratamento, cada uma com 5 explantes.

O meio de cultura utilizado foi o MS, suplementado com 30g L<sup>-1</sup> sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> mio-inositol, 7g L<sup>-1</sup> ágar e as diferentes doses de AIB, o pH foi ajustado em 5,8.

Foram utilizados 30mL de meio MS por frasco de vidro com capacidade para 200mL, que após vedados com folha de alumínio foram autoclavados a 120°C de temperatura e 1,5atm de pressão por 20 minutos.

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 48µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fluxo de fótons.

Após 60 dias de cultivo, as variáveis avaliadas foram porcentagem de enraizamento, número de raízes primárias e secundárias, comprimento de raiz, número e comprimento de brotações.

#### **3.2.4 Aclimatização das mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* em diferentes substratos**

Foram utilizadas mudas enraizadas in vitro no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da UFPel.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, conduzido em esquema fatorial 2x4, sendo os fatores os genótipos (*H. undatus* e *H. polyrhizus*) e os substratos (casca de arroz carbonizada, vermiculita expandida de granulometria fina, fibra de coco padrão 47 Amafibra® e Turfa® Fértil). Cada tratamento foi constituído por cinco repetições, com cinco plantas por repetição.

Para o enraizamento, foi utilizado meio MS suplementado com sacarose (30g L<sup>-1</sup>), mio-inositol (100mg L<sup>-1</sup>) e ágar (7g L<sup>-1</sup>) e sem adição de AIB, sendo o pH ajustado em 5,8. As mudas permaneceram em sala de crescimento durante 60 dias com temperatura de 25 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e 48μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fluxo de fótons.

Em seguida, foram retiradas dos frascos e suas raízes lavadas para a retirada do excesso de meio de cultura e padronizadas, deixando-se, em média, de três raízes por planta e apenas o cladódio principal (sem brotações laterais). Posteriormente, as mudas foram transplantadas para sacos de polietileno preto, com 300mL de substrato, conforme o tratamento.

As mudas foram transferidas para bancadas (90cm de altura, 80cm de largura e 130cm de comprimento) em casa de vegetação com temperatura controlada de 25°C ± 2°C. As mudas foram cobertas com tela aluminizada, deixando-se um espaçamento de 20cm entre a tela e a muda, durante 15 dias. Foram realizadas irrigações diárias de forma manual com o auxílio de uma pisseta, utilizando-se 20mL de água esterilizada por recipiente.

Após 60 dias de cultivo as variáveis avaliadas foram: comprimento de parte aérea, número total de aréolas, massa de matéria seca de parte aérea, número de raízes primárias, número de raízes secundárias, comprimento de raiz e massa de matéria seca de raiz.

O comprimento de parte aérea e raiz foi mensurado com paquímetro digital e a massa de matéria seca de parte aérea e raiz com balança analítica de precisão.

Também foram avaliados o pH e a condutividade elétrica dos substratos testados, segundo Kämpf et al. (2006).

### 3.3 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística os fatores qualitativos foram avaliados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e os quantitativos avaliadas por regressão ( $p \leq 0,05$ ); as avaliações foram realizadas no programa estatístico Rbio (BHERING, 2017).

### 3.4 Resultados e Discussão

#### 3.4.1 Estabelecimento in vitro de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*

Para variável número de brotações ocorreu interação significativa entre dose e genótipo. Entre os genótipos, observou-se diferença significativa apenas nas doses 3 e 4 mg L<sup>-1</sup>, onde *H. polyrhizus* apresentou maior média de número de brotações por explante (Tabela 1).

As maiores médias de número de brotações por explante foram com a dose de 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP com 2,64 brotações em *H. polyrhizus*, e em *H. undatus* a dose de 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP formou 2,58 brotações.

Tabela 1- Número de brotações em explantes de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* estabelecidos em função das doses de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Número de Brotações             |                    |                    |         |        |
|----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|---------|--------|
|                      | Doses BAP (mg L <sup>-1</sup> ) |                    |                    |         |        |
|                      | 0                               | 1,0                | 2,0                | 3,0     | 4,0    |
| <i>H. polyrhizus</i> | 1,0 <sup>NS</sup>               | 1,43 <sup>NS</sup> | 2,58 <sup>NS</sup> | 2,64 a* | 2,12 a |
| <i>H. undatus</i>    | 1,0                             | 1,70               | 2,93               | 2,10 b  | 1,65 b |
| CV (%): 45,52        |                                 |                    |                    |         |        |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Ao avaliar a diferença entre as doses de BAP, observa-se na figura 3 que nos dois genótipos ocorreu maior número de brotações por explante nas doses de 2 e 3mg L<sup>-1</sup> de BAP, e na dose 0, menor número.

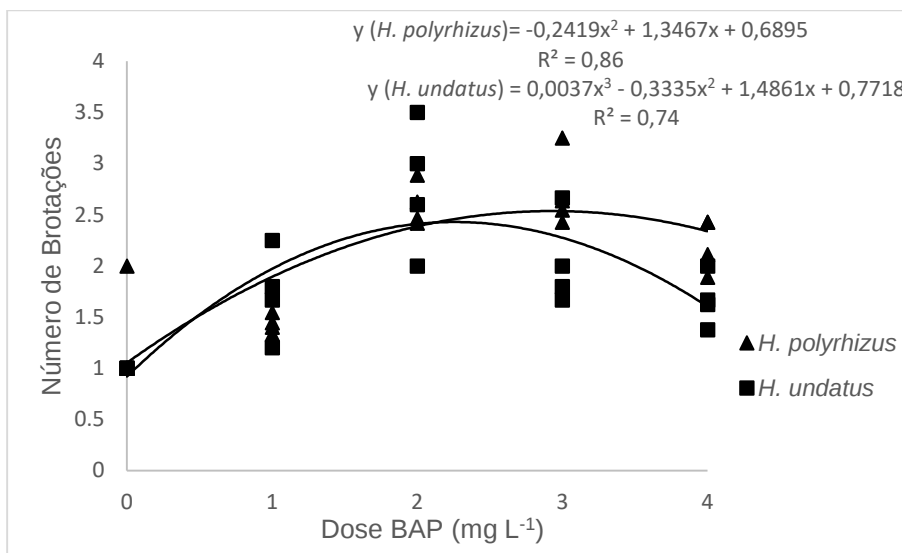


Figura 3- Regressão quadrática do número de brotações por explante de *Hylocereus polyrhizus* e cúbica para *Hylocereus undatus* estabelecidos em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Para porcentagem de explantes regenerados, também ocorreu interação significativa entre os genótipos e doses de BAP. Observou-se que *H. polyrhizus* apresentou maiores médias que *H. undatus* nas doses 0, 1, 2 e 3mg L<sup>-1</sup> de BAP (Tabela 2).

Na dose 0 (sem adição de BAP no meio MS), *H. polyrhizus* apresentou 23,04% de explantes regenerados e *H. undatus* apenas 5,97%. A maior média de explantes regenerados em *H. polyrhizus*, ocorreu na dose 2mg L<sup>-1</sup> com 53,52% e nesta mesma dose em *H. undatus*, ocorreu apenas 14,43%.

Tabela 2- Porcentagem de explantes regenerados em explantes de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* estabelecidos em função das doses de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Explantes regenerados (%)       |         |         |         |                     |
|----------------------|---------------------------------|---------|---------|---------|---------------------|
|                      | Doses BAP (mg L <sup>-1</sup> ) |         |         |         |                     |
|                      | 0                               | 1,0     | 2,0     | 3,0     | 4,0                 |
| <i>H. polyrhizus</i> | 23,04 a                         | 44,43 a | 53,52 a | 39,36 a | 38,97 <sup>NS</sup> |
| <i>H. undatus</i>    | 5,97 b                          | 23,08 b | 14,43 b | 24,08 b | 35,69               |
| CV (%): 28,45        |                                 |         |         |         |                     |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Ao avaliar a diferença entre as doses, observou-se que a maior porcentagem de explantes regenerados em *H. undatus* ocorreu entre as doses 3 e 4mg L<sup>-1</sup> e para *H. polyrhizus* ocorreu entre as doses 1 e 2mg L<sup>-1</sup> de BAP (Figura 4).

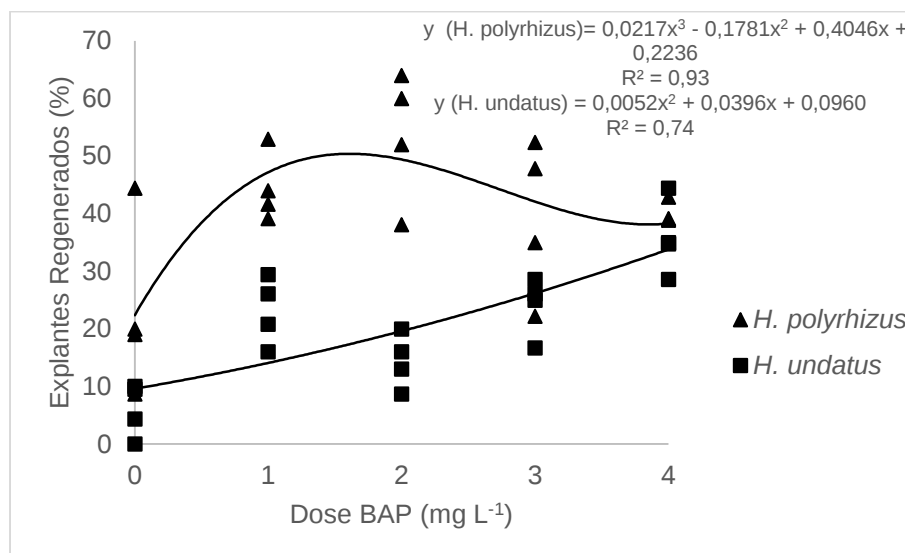


Figura 4- Regressão cúbica da porcentagem de explantes regenerados por explante de *Hylocereus polyrhizus* e quadrática para *Hylocereus undatus* em função estabelecidos da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

A porcentagem de explantes regenerados foi baixa nos dois genótipos, 53,52% em *H. polyrhizus* e 35,69% em *H. undatus*. Isso pode ser atribuído a dificuldade no estabelecimento de cactáceas, em decorrência da desinfestação ou lesões nas aréolas. Drew e Azimi (2002) citam que somente aréolas intactas iniciam brotações. Em cactos a ocorrência de brotações nas gemas é influenciada pela alta demanda de citocininas e níveis baixos ou ausência de auxina (ALIYU; MOSTAPHA, 2007).

Neste experimento, a presença de citocinina no meio de cultura foi fundamental para a ativação das aréolas e, conseqüentemente, na formação de brotos.

A variável número de brotações no estabelecimento de pitaya é de suma importância, pois poderão ser segmentadas e utilizadas na multiplicação. Como foi indução direta da aréola, ou seja, sem a indução de formação de calo, as médias de 2,93 (*H. undatus*) e 2,64 (*H. polyrhizus*) brotações por aréola podem ser consideradas um resultado satisfatório.

Também foi possível observar que ocorre diferença entre os genótipos, onde *H. polyrhizus* se sobressai a *H. undatus*, demonstrando o quanto é importante a geração de protocolos distintos para cada genótipo.

O BAP, além de ter sido fundamental na regeneração, influenciou no número de brotações por aréolas. O mesmo foi observado por Viñas et al. (2012) em experimento com *Hylocereus constaricensis*.

### 3.4.2 Multiplicação in vitro de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*

#### Experimento 1: Multiplicação com Zeatina

Quanto ao número de brotações não ocorreu diferença estatística significativa entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3- Número de brotações em explantes de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* multiplicados em função das doses de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Número de Brotações                 |                    |      |      |      |
|-------------------------------------|--------------------|------|------|------|
| Doses Zeatina (mg L <sup>-1</sup> ) |                    |      |      |      |
| 0                                   | 0,2                | 0,4  | 0,6  | 0,8  |
| 2,15 <sup>NS</sup>                  | 2,55               | 2,64 | 3,06 | 2,93 |
| Genótipo                            |                    |      |      |      |
| <i>H. undatus</i>                   | 2,45 <sup>NS</sup> |      |      |      |
| <i>H. polyrhizus</i>                | 2,79               |      |      |      |
| CV (%): 54,74                       |                    |      |      |      |

<sup>NS</sup>Não significativo

Para as variáveis comprimento de brotações e taxa de multiplicação ocorreu interação significativa entre genótipo e dose de Zeatina. No entanto, com relação ao número de raiz, comprimento de raiz e massa de matéria seca total (parte aérea e raiz) ocorreu diferença significativa apenas entre as doses.

Para variável comprimento de brotações, ocorreu diferença significativa entre os genótipos nas doses 0 (sem adição de Zeatina no meio MS) e 0,2mg L<sup>-1</sup> de Zeatina. Sem a presença de Zeatina, *H. undatus* apresentou maior comprimento de brotações (3,06cm) que *H. polyrhizus* (2,22cm); porém, na dose 0,2mg L<sup>-1</sup> ocorreu o contrário, ou seja, *H. polyrhizus* apresentou maior comprimento de brotações com 1,41cm que *H. undatus* com 0,73cm (Tabela 4).

Tabela 4- Comprimento de brotações em explantes de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* multiplicados em função das doses de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Comprimento Brotações (cm)          |        |                    |                    |                    |
|----------------------|-------------------------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                      | Doses Zeatina (mg L <sup>-1</sup> ) |        |                    |                    |                    |
|                      | 0                                   | 0,2    | 0,4                | 0,6                | 0,8                |
| <i>H. polyrhizus</i> | 2,22 b                              | 1,41 a | 0,82 <sup>NS</sup> | 0,90 <sup>NS</sup> | 1,45 <sup>NS</sup> |
| <i>H. undatus</i>    | 3,06 a                              | 0,73 b | 0,91               | 1,10               | 1,24               |
| CV (%): 61,25        |                                     |        |                    |                    |                    |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Ao avaliar a diferença entre as doses na figura 5 observa-se que nas doses 0 e 0,8mg L<sup>-1</sup> de Zeatina que obteve-se as maiores brotações em ambos os genótipos.

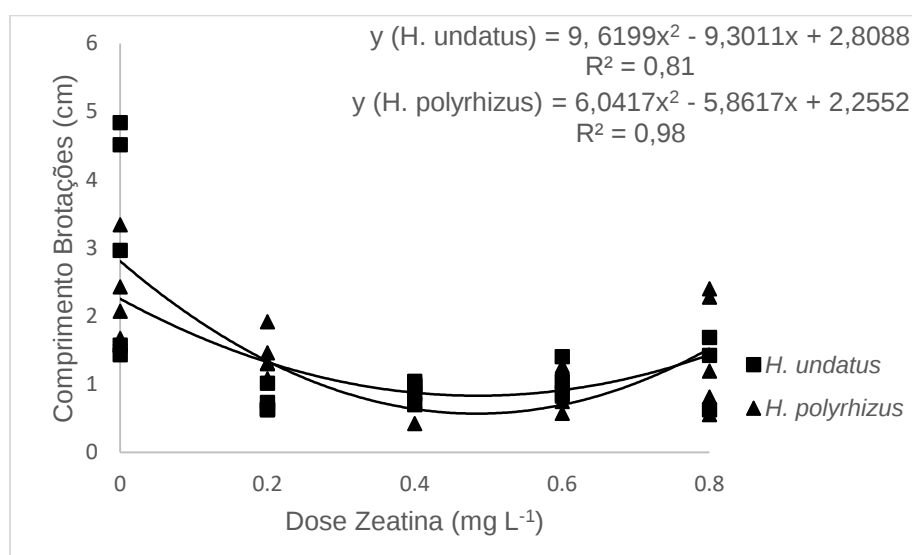


Figura 5- Regressão quadrática do comprimento de brotações de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Em relação a taxa de multiplicação, apenas na dose 0,2mg L<sup>-1</sup> houve diferença significativa entre os genótipos, onde *H. polyrhizus* apresentou a maior média, 3,52, e *H. undatus*, 2,05 (Tabela 5).

Tabela 5- Taxa de multiplicação em explantes de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* multiplicados em função das doses de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Taxa de multiplicação               |        |                    |                    |                    |
|----------------------|-------------------------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                      | Doses Zeatina (mg L <sup>-1</sup> ) |        |                    |                    |                    |
|                      | 0                                   | 0,2    | 0,4                | 0,6                | 0,8                |
| <i>H. polyrhizus</i> | 5,11 <sup>NS</sup>                  | 3,52 a | 2,17 <sup>NS</sup> | 2,48 <sup>NS</sup> | 3,27 <sup>NS</sup> |
| <i>H. undatus</i>    | 5,64                                | 2,05 b | 2,44               | 2,71               | 3,01               |
| CV (%): 46,55        |                                     |        |                    |                    |                    |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Ao avaliar as doses de Zeatina, observa-se que para os dois genótipos a maior taxa de multiplicação dos explantes ocorreu na dose 0 (Figura 6).

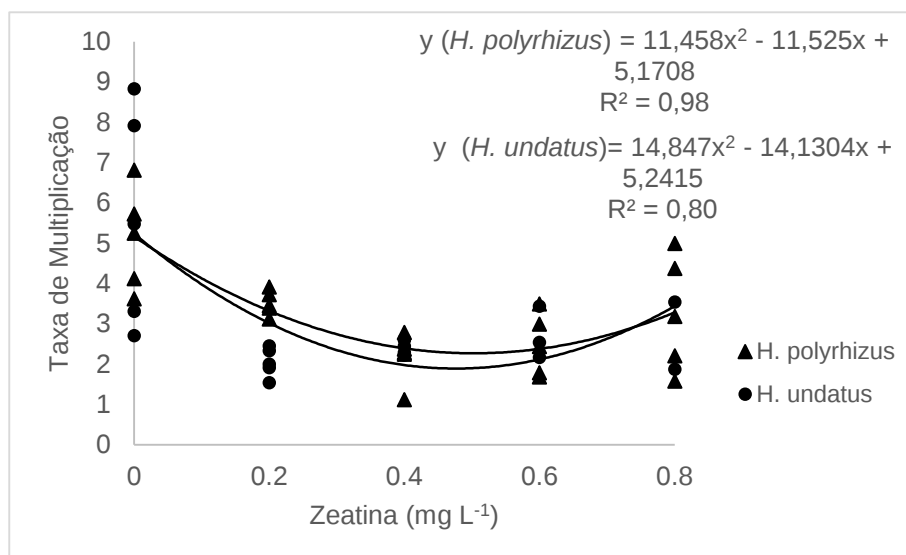


Figura 6- Regressão quadrática da taxa de multiplicação de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Nas variáveis número de raízes, comprimento de raízes e massa de matéria seca total não ocorreu diferença significativa entre os genótipos apenas entre as doses. A adição de  $0,8 \text{ mg L}^{-1}$  de Zeatina no meio de cultura proporcionou o maior número (Figura 7A), porém as menores raízes (Figura 7B).

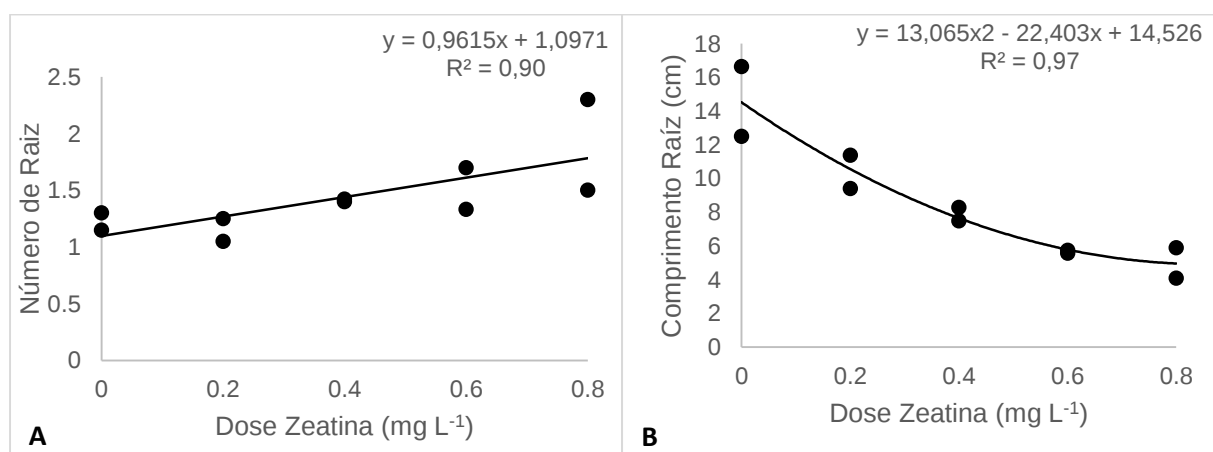


Figura 7- A: Regressão linear do número de raízes de *Hylocereus* sp. multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. B: Regressão quadrática do Comprimento de raízes de *Hylocereus* sp. multiplicados em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Na variável massa de matéria seca total, a maior média foi registrada em explantes da dose de 0,8mg L<sup>-1</sup> (Figura 8).

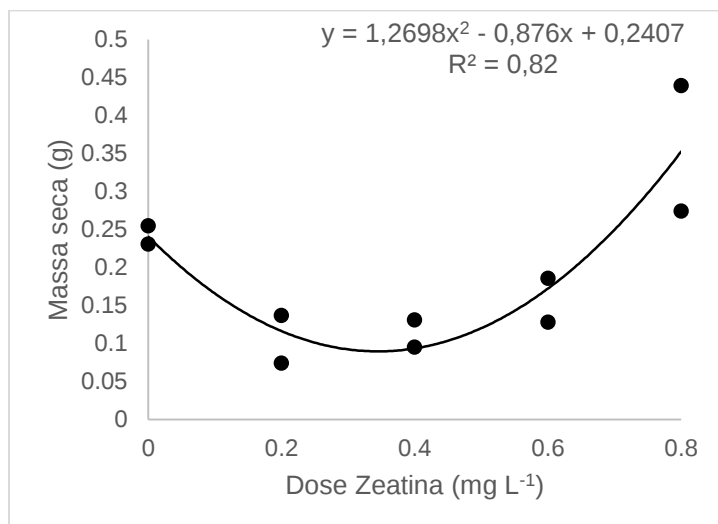


Figura 8- A: Regressão quadrática massa seca total (raiz e parte aérea) de *Hylocereus* sp. em função da dose de Zeatina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

### Experimento 2: Multiplicação com BAP

No experimento com a utilização do BAP no meio MS, a variável número de brotações não apresentou diferença significativa entre os genótipos, somente entre as doses. As médias de *H. polyrhizus* foram de 2,54 e *H. undatus* 3,30 brotações por explante.

Na figura 10 é possível observar que o maior número de brotações ocorreu entre as doses 0,6 e 0,8mg L<sup>-1</sup>.

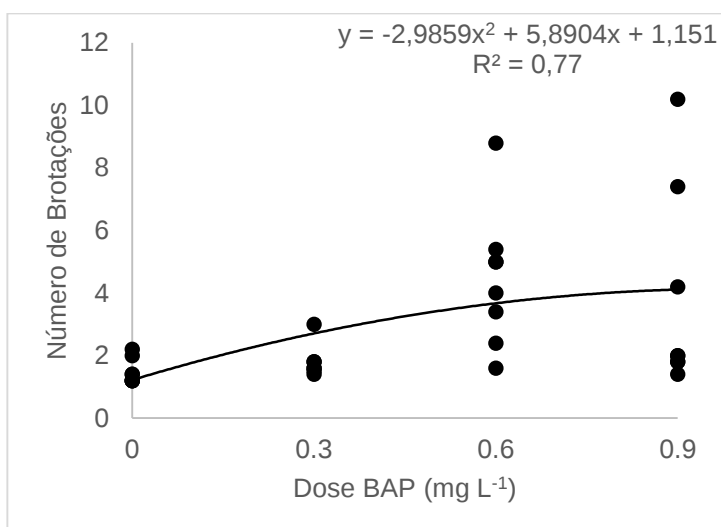


Figura 9- Regressão quadrática do número de brotações na multiplicação de *Hylocereus* sp. em função da dose de BAP. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Para a taxa de multiplicação, as maiores médias ocorram entre as doses 0,6 e 0,9mg L<sup>-1</sup> (Figura 10).

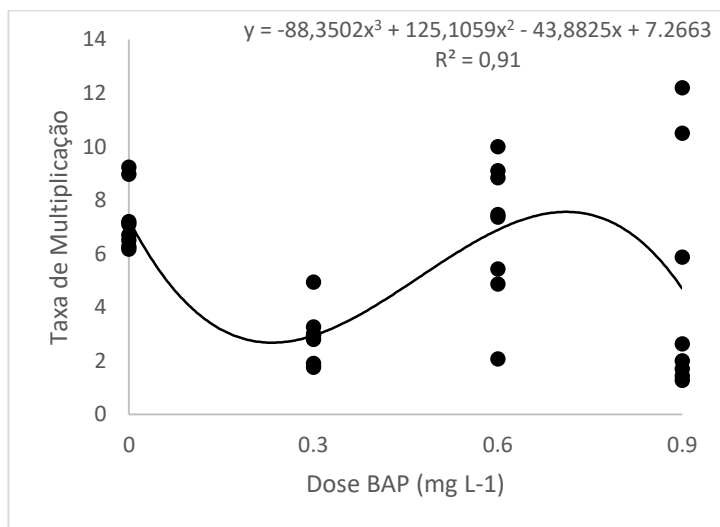


Figura 10- Regressão cúbica da taxa de multiplicação de *Hylocereus* em função da dose de BAP. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Em todos os explantes nas diferentes doses de Zeatina observou-se a formação de raízes nos dois genótipos testados. O mesmo foi observado por Drew e Azimi (2002) em trabalho sobre micropropagação de *H. undatus*. Segundo Viñas et al. (2012), essa facilidade no enraizamento pode reduzir os custos de produção.

Verificou-se com o experimento de multiplicação com Zeatina, que para variável número de brotações as doses que foram testadas não diferiram da testemunha (dose 0). Porém, para as variáveis comprimento de brotação e taxa de multiplicação a Zeatina causou efeito negativo, ao comparar-se os resultados com a testemunha. Por outro lado, no segundo experimento, observou-se que o uso de BAP apresentou efeito positivo, pois estimulou a emissão de brotação nos explantes e a taxa de multiplicação. Hua et al. (2014) observaram que explantes de pitaya são mais sensíveis a TDZ do que Zeatina, BAP e 2,4-D e concentrações altas desses hormônios podem apresentar efeito negativo na emissão de brotos.

No presente estudo doses entre 0,6 e 0,9mg L<sup>-1</sup> de BAP proporcionaram maior número de brotações e taxa de multiplicação, enquanto Lopes et al. (2017) observaram que a dose de 1mg L<sup>-1</sup> de BAP apresentou melhor resposta para o número de brotações por explante em *H. undatus*, com 12,2 brotos. Porém, segundo Qin et al. (2017), o maior número de brotações por explante em *H. polyrhizus* ocorreu com o balanço auxina citocinina, com a combinação de 5,5mg L<sup>-1</sup> de 6-BA e 0,1mg L<sup>-1</sup> de ANA.

Estudos realizados por Feria et al. (2012) demonstram que  $1,98\text{mg L}^{-1}$  de BAP promove a maior taxa de multiplicação e a dose de  $2,50\text{mg L}^{-1}$  o maior número de brotos em *Hylocereus purpusii*.

### 3.4.3 Enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus*

As maiores porcentagens de enraizamento in vitro ocorreram em explantes de *H. undatus* onde não foi utilizado o ácido indolbutírico (AIB) no meio de cultura, com 96% de explantes enraizados e na dose de  $0,4\text{mg L}^{-1}$  de AIB com 92% de enraizamento. As doses de dose  $0,6\text{mg L}^{-1}$  e  $0,2\text{mg L}^{-1}$ , apresentaram as menores porcentagens de enraizamento, com 72 e 64% respectivamente.

Para variável número de brotações ocorreu diferença significativa entre as doses de AIB testadas. Os dados seguem a linha de tendência linear, ou seja, na menor dose (0) ocorreu o menor número de brotações e na maior dose ( $0,6\text{mg L}^{-1}$ ) ocorreu o maior número de brotações (Figura 11).

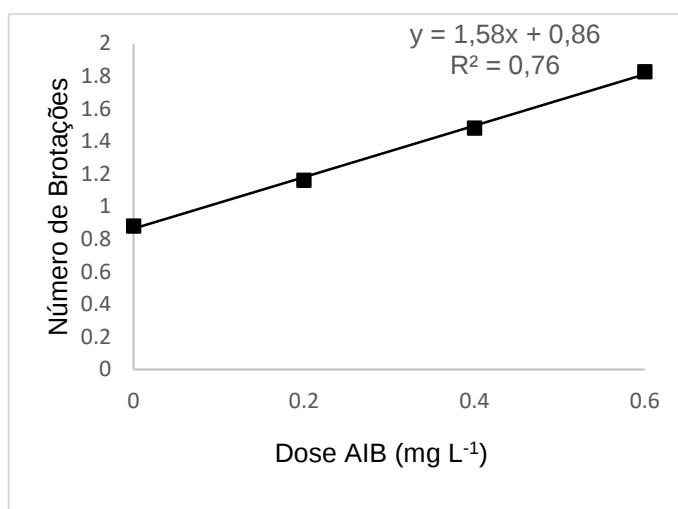


Figura 11- Regressão linear do número de brotações no enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus* em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Para a variável número de raízes primárias, verifica-se a linha de tendência cúbica, onde o maior número de raízes primárias ocorreu entre as doses  $0,4$  e  $0,6\text{mg L}^{-1}$  de AIB (Figura 12).

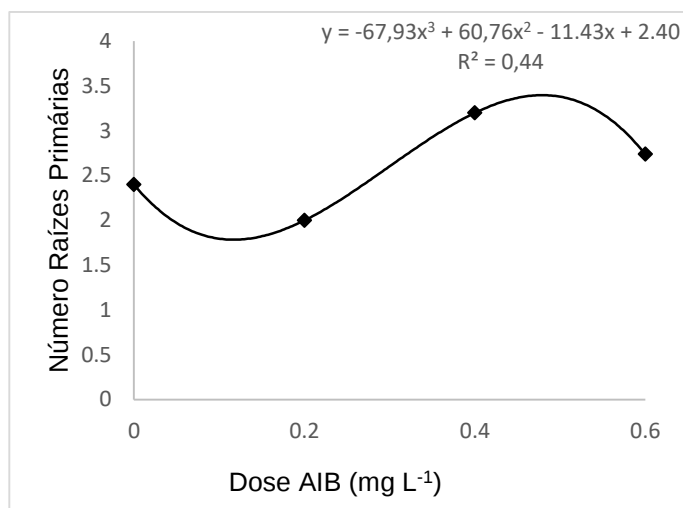


Figura 12- Regressão cúbica do número de raízes primárias no enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus* em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Quanto ao número de raízes secundárias também ocorreu diferença significativa entre as doses de AIB, com linha de tendência quadrática, onde o maior número de raízes secundárias ocorrem na dose 0, ocorrendo drástica redução até a dose 0,4mg L<sup>-1</sup> e posterior aumento entre as doses 0,4 e 0,6mg L<sup>-1</sup> (Figura 13).

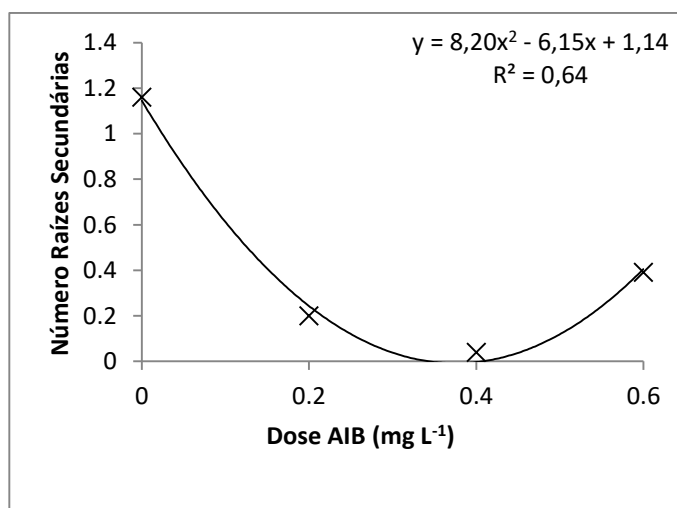


Figura 13- Regressão quadrática do número de raízes secundárias no enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus* em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Em se tratando do comprimento de raízes, no tratamento sem a adição de AIB ao meio de cultura os explantes apresentaram raízes de maior comprimento, como é possível observar na figura 14.

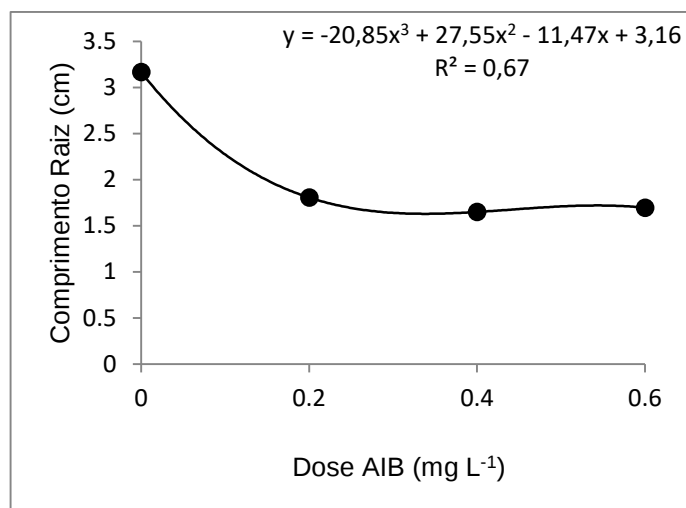


Figura 14- Regressão cúbica do comprimento de raízes secundárias no enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus* em função da dose de ácido indolbutírico no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Sem a utilização do AIB, foi observado a maior porcentagem de enraizamento, menor ocorrência de brotação (indesejável nesta etapa), bem como maior comprimento de raízes e número de raízes secundárias. Com esses resultados é possível observar que não é necessário utilizar AIB para o enraizamento de explantes de *H. undatus*.

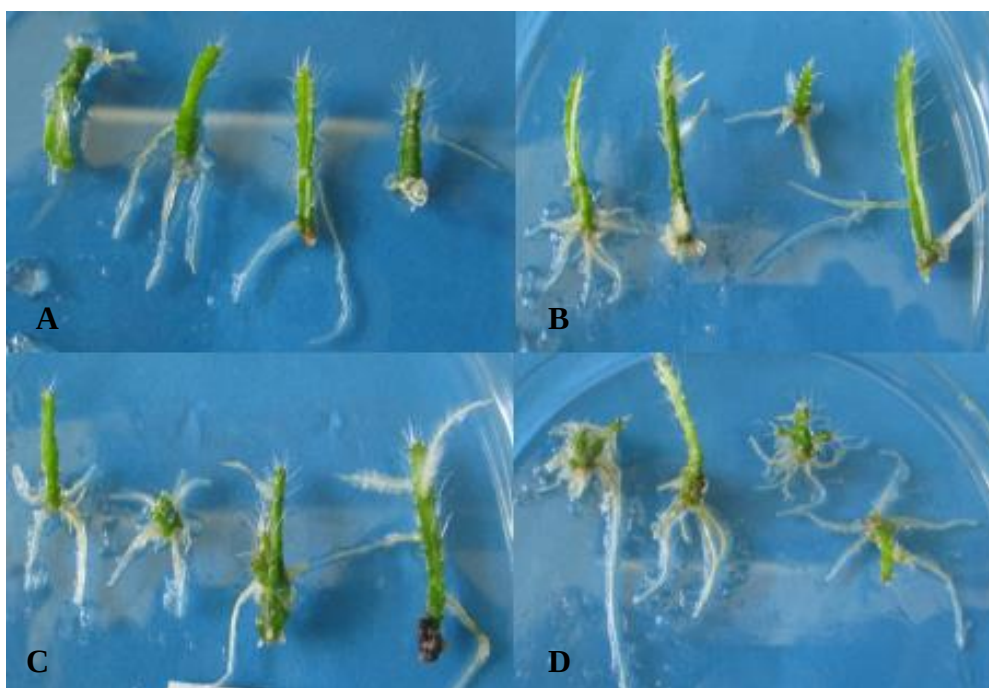


Figura 15- Explantes de *Hylocereus undatus* enraizados sem a adição de AIB ao meio MS (A), com 0,2mg L<sup>-1</sup> (B), 0,4mg L<sup>-1</sup> (C) e 0,6mg L<sup>-1</sup> (D) de AIB adicionado ao meio MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

De acordo com Andrade, Martins e Silva (2007), as estacas de pitaya apresentam facilidade no enraizamento. Tal fato também foi observado em explantes in vitro, visto que além dos explantes enraizarem no meio MS sem AIB, apresentaram

as maiores raízes e o maior número de raízes secundárias. Essa facilidade no enraizamento de *H. undatus* somente com meio MS pode reduzir custos de produção.

Santos et al. (2010) verificaram que o crescimento e desenvolvimento radicular inicial de estacas de *H. undatus* não são influenciados pelo regulador vegetal ácido naftalenoacético (ANA). Porém, Lopes et al., (2017) concluíram que a adição de auxina proporcionou incremento no enraizamento de *H. undatus*, onde a dose de 4mg L<sup>-1</sup> de AIB promoveu o maior número e comprimento de raízes.

Os reguladores vegetais sintéticos do grupo das auxinas são substâncias que auxiliam no enraizamento de estacas; porém, algumas espécies vegetais em função do tamanho, idade e a reserva de carboidratos tornam-se insensíveis ao efeito estimulante da auxina sintética (SANTOS et al., 2010).

#### 3.4.4 Aclimatização das mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* em diferentes substratos

Na aclimatização das mudas ocorreu 100% de sobrevivência. Para a variável comprimento de parte aérea ocorreu interação significativa entre genótipo e substrato. Observou-se diferença entre os genótipos apenas no substrato Turfa, onde *H. polyrhizus* apresentou maior média (16,64cm) que *H. undatus* (10,86cm).

Apenas no genótipo *H. polyrhizus* ocorreu diferença significativa entre os substratos, onde turfa diferiu significativamente dos demais substratos em relação ao comprimento de parte aérea, com média de 16,64cm (Tabela 6).

Tabela 6- Comprimento de parte aérea de mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função do substrato (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Comprimento Parte Aérea (cm) |               |          |             |
|----------------------|------------------------------|---------------|----------|-------------|
|                      | Substratos                   |               |          |             |
|                      | CAC                          | Fibra de Coco | Turfa    | Vermiculita |
| <i>H. polyrhizus</i> | 10,73 B*                     | 10,26 B       | 16,64 aA | 10,38 B     |
| <i>H. undatus</i>    | 10,09                        | 8,45          | 10,86 b  | 9,32        |
| CV (%): 23,46        |                              |               |          |             |

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

No número total de aréolas houve diferença significativa entre os dois genótipos em todos os substratos avaliados, onde *H. polyrhizus* apresentou maior média, como pode ser observado na tabela 7.

Apenas em *H. polyrhizus* ocorreu diferença significativa entre os substratos, onde turfa apresentou a maior média de número de aréolas, com 161,30, diferindo estatisticamente dos demais substratos.

Tabela 7- Número total de aréolas em mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função do substrato (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Número Total de Aréolas |               |           |             |
|----------------------|-------------------------|---------------|-----------|-------------|
|                      | Substratos              |               |           |             |
|                      | CAC                     | Fibra de Coco | Turfa     | /ermiculita |
| <i>H. polyrhizus</i> | 126,85 aB*              | 125,50 aB     | 161,30 aA | 128,30 aB   |
| <i>H. undatus</i>    | 106,70 b                | 96,15 b       | 99,75 b   | 94,90 b     |
| CV (%): 23,21        |                         |               |           |             |

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Na variável massa de matéria seca de parte aérea ocorreu diferença significativa apenas entre os substratos. O substrato turfa apresentou média de 0,58g e não diferiu estatisticamente do substrato fibra de coco (Tabela 8).

Tabela 8- Massa seca de parte aérea de mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Massa de Matéria Seca de Parte Aérea (g) |                    |        |             |
|------------------------------------------|--------------------|--------|-------------|
| Genótipo                                 |                    |        |             |
| <i>H. polyrhizus</i>                     | 0,42 <sup>NS</sup> |        |             |
| <i>H. undatus</i>                        | 0,32               |        |             |
| Substrato                                |                    |        |             |
| CAC                                      | Fibra de Coco      | Turfa  | Vermiculita |
| 0,32 b*                                  | 0,33 ab            | 0,58 a | 0,25 b      |
| CV (%): 50,57                            |                    |        |             |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Quanto ao número de raízes primárias ocorreu diferença significativa apenas entre os genótipos, onde *H. undatus* apresentou maior média de raízes (3,00) que *H. polyrhizus* (Tabela 9).

Tabela 9- Número de raízes primárias em mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Número de Raízes Primárias |               |       |             |
|----------------------------|---------------|-------|-------------|
| Genótipo                   |               |       |             |
| <i>H. polyrhizus</i>       | 1,95 b*       |       |             |
| <i>H. undatus</i>          | 3,00 a        |       |             |
| Substrato                  |               |       |             |
| CAC                        | Fibra de Coco | Turfa | Vermiculita |
| 2,50 <sup>NS</sup>         | 2,35          | 2,40  | 2,67        |
| CV (%): 47,95              |               |       |             |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Na variável número de raízes secundárias ocorreu interação significativa entre os fatores. Foi observada diferença entre os genótipos no substrato fibra de coco e turfa, onde *H. polyrhizus* apresentou maior média de raízes secundárias por planta que *H. undatus*. No genótipo *H. undatus* ocorreu diferença entre os substratos, onde plantas aclimatizadas em vermiculita apresentaram maior média de raízes secundárias, diferindo estatisticamente da fibra de coco (Tabela 10).

Tabela 10- Número de raízes secundárias em mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Genótipo             | Número Raízes Secundárias |               |          |                    |
|----------------------|---------------------------|---------------|----------|--------------------|
|                      | Substratos                |               |          |                    |
|                      | CAC                       | Fibra de Coco | Turfa    | Vermiculita        |
| <i>H. polyrhizus</i> | 6,80 <sup>NS</sup>        | 6,85 a*       | 6,45 a   | 5,32 <sup>NS</sup> |
| <i>H. undatus</i>    | 5,40 AB                   | 3,95 bB       | 4,90 bAB | 6,20 A             |
| CV (%): 43,50        |                           |               |          |                    |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Para a variável comprimento de raiz não ocorreu interação entre os dois fatores (genótipo e substrato); entretanto, ocorreu diferença estatística significativa entre os genótipos e entre os substratos.

No genótipo *H. polyrhizus* ocorreu maior média de comprimento de raiz, com 6,45cm e 4,8cm em *H. undatus*. Entre os substratos, vermiculita apresentou a maior média (6,73cm) diferindo de fibra de coco e turfa (Tabela 11).

Tabela 11- Comprimento médio de raízes em mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Comprimento de Raiz (cm) |               |        |             |
|--------------------------|---------------|--------|-------------|
| Genótipo                 |               |        |             |
| <i>H. polyrhizus</i>     | 6,45 a*       |        |             |
| <i>H. undatus</i>        | 4,98 b        |        |             |
| Substrato                |               |        |             |
| CAC                      | Fibra de Coco | Turfa  | Vermiculita |
| 5,93 ab                  | 5,19 b        | 5,02 b | 6,73 a      |
| CV (%): 39,76            |               |        |             |

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna ou na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Para a massa de matéria seca de raiz ocorreu diferença significativa apenas entre os genótipos, sendo que *H. polyrhizus* apresentou maior média que *H. undatus* (Tabela 12).

Tabela 12- Massa seca de raiz em mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* aclimatizadas em função dos substratos (CAC= Casca de Arroz Carbonizada, fibra de coco, Turfa® e vermiculita). Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Massa Seca de Raiz (g) |               |       |             |
|------------------------|---------------|-------|-------------|
| Genótipo               |               |       |             |
| <i>H. polyrhizus</i>   | 0,06 a*       |       |             |
| <i>H. undatus</i>      | 0,04 b        |       |             |
| Substrato              |               |       |             |
| CAC                    | Fibra de Coco | Turfa | Vermiculita |
| 0,06 <sup>NS</sup>     | 0,05          | 0,04  | 0,05        |
| CV (%): 36,77          |               |       |             |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna e na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



Figura 16- Mudas aclimatizadas em diferentes substratos de *Hylocereus polyrhizus*. A: Casca de arroz carbonizada; B: Fibra de coco; C: Turfa; D: Vermiculita. Foto: Patrícia Graosque

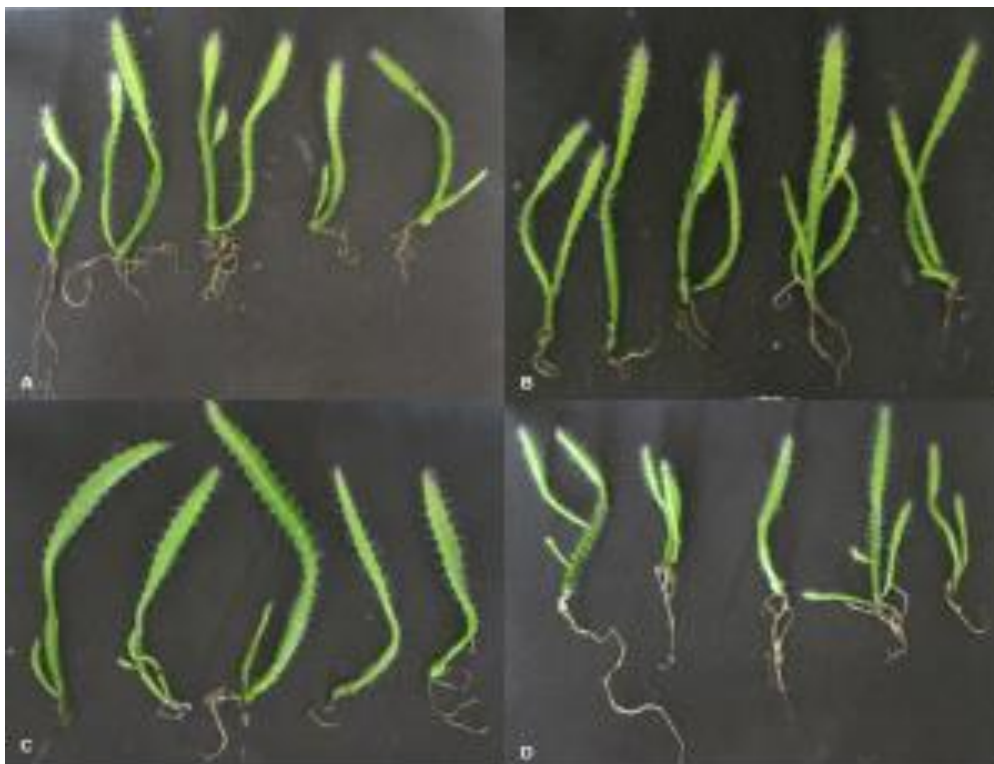


Figura 17- Mudas aclimatizadas em diferentes substratos de *Hylocereus undatus*. A: Casca de arroz carbonizada; B: Fibra de coco; C: Turfa; D: Vermiculita. Foto: Patrícia Graosque.

A sobrevivência de 100% das mudas pode ser atribuída a rusticidade da pitaya, uma vez que, cactos e outras plantas CAM têm uma cutícula fortemente desenvolvida e uma grande capacidade de reidratação rápida. Além disso, os cactos possuem caules suculentos que apresentam reduzida perda de água (CORNEANU et al., 2004).

Segundo Ortiz-Hernandez et al. (1999) em pitaya as altas taxas de sobrevivência das mudas podem ser atribuídas a rota fotossintética do tipo CAM e a plasticidade que a planta possui, uma vez que essas adaptações permitem altas taxas de assimilação de CO<sub>2</sub>.

Observou-se neste experimento que o substrato Turfa®Fértil proporcionou o desenvolvimento da parte aérea, porém, para o desenvolvimento das raízes foram os substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada.

A casca de arroz carbonizada por ser um resíduo agrícola e ser de baixo custo, torna-se interessante para utilização como substrato para aclimatização de mudas de pitaya. Segundo Medeiros et al. (2008) este resíduo agrícola possui potencial para uso como substrato devido às suas propriedades físicas. Além disso apresenta alta capacidade de drenagem, pH levemente alcalino, livre de patógenos e teor adequado de K e Ca (SAIDELLES et al., 2009).

A utilização de substratos alternativos a partir de resíduos agrícolas pode reduzir custos (SILVA et al., 2012). A casca de arroz é um exemplo de resíduo agrícola que possui grande disponibilidade em regiões produtoras deste cereal.

Segundo Moreira et al. (2005), o substrato utilizado na aclimatização das mudas micropropagadas exerce influência significativa na arquitetura do sistema radicular, estado nutricional das plantas e no movimento de água na planta.

Verificou-se que a casca de arroz carbonizada e a vermiculita favoreceram o número de raízes primárias, secundárias e o comprimento de raiz, ou seja, esses dois substratos favoreceram o desenvolvimento do sistema radicular.

O pH e condutividade elétrica do substrato também podem estar envolvidos no melhor desenvolvimento das raízes na fase de aclimatização, uma vez que, que esses dois substratos foram os que apresentaram maior valor de pH e menor condutividade elétrica (Tabela 13).

Tabela 13- Condutividade elétrica (CE) e pH dos substratos testados. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| <b>Substrato</b>           | <b>CE (<math>\mu\text{S cm}^{-1}</math>)</b> | <b>pH</b> |
|----------------------------|----------------------------------------------|-----------|
| Turfa Fértil               | 2,40                                         | 5,12      |
| Casca de arroz carbonizada | 1,00                                         | 6,69      |
| Fibra de coco              | 1,80                                         | 6,08      |
| Vermiculita                | 0,30                                         | 6,10      |

Na figura 18 é possível observar um esquema com todas as etapas realizadas na micropropagação de pitaya. Com a planta matriz, o cladódio, as estacas obtidas através da segmentação do cladódio, as brotações emitidas nas estacas após sete meses de cultivo, o estabelecimento in vitro das aréolas retiradas das brotações, a emissão de brotação no explante, a segmentação do cladódio (gerado no estabelecimento) para multiplicação, as brotações emitidas na multiplicação, o enraizamento in vitro e a aclimatização das mudas.

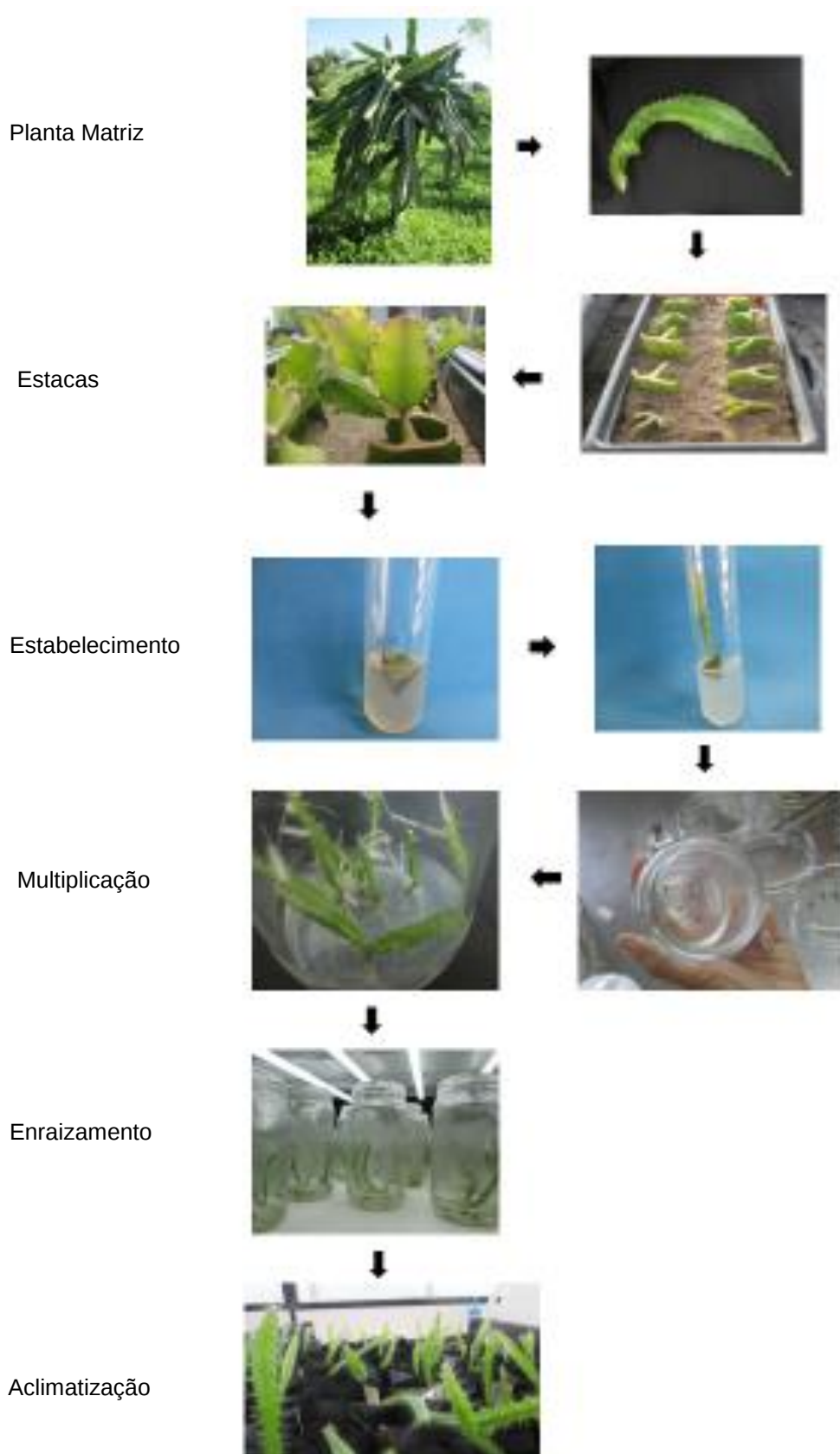


Figura 18- Planta Matriz, cladódios utilizados para estacas, estacas enraizadas em floreiras, brotações usadas para estabelecimento, estabelecimento em meio MS+2mg L<sup>-1</sup> de BAP (três meses), multiplicação em meio MS com adição de 0,6mg L<sup>-1</sup> de BAP (dois meses), enraizamento em meio MS (dois meses), aclimatização das mudas substrato casca de arroz carbonizada (três meses).

### 3.4 Conclusão

A utilização da dose de  $2\text{mg L}^{-1}$  de 6-benzilminopurina favoreceu o estabelecimento de *Hylocereus polyrhizus* e  $4\text{mg L}^{-1}$  de *Hylocereus undatus*.

As doses testadas de Zeatina apresentaram efeito negativo no comprimento de brotações e taxa de multiplicação de *Hylocereus polyrhizus* e *Hylocereus undatus*.

A utilização de  $0,6\text{mg L}^{-1}$  6-benzilminopurina, estimula a brotação e a taxa de multiplicação de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*.

No enraizamento de *Hylocereus undatus* ocorre em meio de cultura MS sem adição de ácido indolbutírico.

Na aclimatização das mudas de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* o substrato Turfa® Fértil favoreceu o desenvolvimento da parte aérea e os substratos casca de arroz carbonizada e vermiculita expandida (granulometria fina) favoreceram o desenvolvimento das raízes.

## 4 Capítulo 2- Porção do cladódio e 6-benzilaminopurina na multiplicação in vitro de pitaya

### 4.1 Introdução

A pitaya é uma cactácea originária das américas, cultivada em diversos locais do mundo (BARTHLOTT; HUNT, 1993). Os frutos da pitaya tem ganhado destaque entre os consumidores brasileiros, devido a sua aparência diferenciada e, principalmente, as propriedades funcionais, uma vez que, é fonte de beta-caroteno, licopeno, vitamina E (CHAROENSIRI et al., 2009), potássio e compostos fenólicos (VIZZOTTO et al., 2016).

A espécie *Hylocereus undatus*, que possui frutos com casca vermelha e polpa esbranquiçada é a mais cultivada no Brasil (LOPES et al., 2017), sendo as regiões Sul e Sudeste as principais produtoras.

A produção de mudas de pitaya pode ser feita via sementes ou através de estaquia, enxertia ou micropropagação. Apesar da propagação sexuada ser uma alternativa para o melhoramento genético (ELOBEIDY, 2006), a técnica de estaquia é a mais utilizada no Brasil para a propagação da pitaya (SILVA, 2014); porém, pode ocorrer o risco de introdução de patógenos em áreas livres através do material propagativo infectado (VENTURA et al., 2017).

A micropropagação, mesmo demandando mão de obra qualificada e alto investimento inicial, possui uma melhor relação custo-benefício, pois permite produzir em escala comercial, material uniforme, livre de contaminações (CID; TEIXEIRA, 2014) em pouco tempo e espaço físico reduzido (QUISEN; ANGELO, 2008; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Uma das grandes vantagens da micropropagação em relação das demais técnicas de produção de mudas é a independência de fatores climáticos (GEORGE; HALL; KLERK, 2008).

A resposta dos explantes a maior ou menor taxa de multiplicação tem sido atribuída aos reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura (OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013). Em cada etapa do processo de obtenção de mudas por micropropagação, os explantes possuem diferentes e exigências em relação a composição do meio de cultura, concentração e tipo de regulador de crescimento (QUISEN; ANGELO, 2008).

Na multiplicação é preciso haver a quebra da dominância apical da plântula ou brotação, promovendo o desenvolvimento das gemas axilares e, conseqüentemente, a formação de novas brotações. Segundo Taiz et al. (2017), as citocininas atuam na divisão e diferenciação celular, bem como na quebra de dominância apical, proporcionando a emissão de brotos laterais (MOURA et al., 2012), sendo a 6-benzilaminopurina (BAP) uma das mais utilizadas para promover multiplicação em diversas espécies (BHOJWANI; RAZDAN, 1996).

Com base nesses aspectos objetivou-se avaliar neste trabalho a influência da porção do cladódio e concentrações de BAP na multiplicação de *Hylocereus undatus*.

## 4.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado em 2017 no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, pertencente ao departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, conduzido em esquema fatorial 3x5, sendo os fatores: porção do cladódio (apical, mediana e basal) e as doses de BAP (0, 1, 2, 3 e 4mg L<sup>-1</sup>); totalizando 15 tratamentos, cada um com cinco repetições e cada uma com cinco explantes.

O material vegetal utilizado foi oriundo de propagação semínifera de *H. undatus* in vitro. Após a emissão do cladódio foi realizada a multiplicação do material em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Foram utilizados para realização do experimento as brotações (cladódios) emitidas.

O meio de cultura utilizado foi o MS acrescido de 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol e 7g L<sup>-1</sup> de ágar, e pH 5,8. Foi utilizado 30mL de meio de cultura por frasco de vidro com capacidade de 200ml, que após ser vedado com folha de alumínio foi autoclavado a 120°C de temperatura e 1,5atm de pressão por 20 minutos.

Os cladódios foram seccionados e os explantes padronizados contendo seis gemas (aréolas), sendo duas em cada costela (Figura 1).



Figura 1- Explantes divididos em porção apical, media e basal do cladódio de *Hylocereus undatus*. Foto: Patrícia Grasque

Durante o cultivo in vitro o material foi mantido em sala de crescimento com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 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.

A avaliação do material foi realizada após 60 dias de cultivo in vitro. As variáveis avaliadas foram: número e comprimento de brotações com auxílio de paquímetro digital, porcentagem de formação de brotos, número de aréolas do explante, número de aréolas das brotações.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os tratamentos foram agrupados em porção do cladódio, os quais foram avaliados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e concentrações de BAP, avaliadas por regressão ( $p \leq 0,05$ ) no programa estatístico Rbio (BHERING, 2017).

### 4.3 Resultados e Discussão

Para o comprimento e número de brotações ocorreu diferença significativa entre as porções e entre as doses; no entanto, não foi observada interação significativa entre porção e dose (Tabela 1).

A porção basal do cladódio foi a que apresentou o maior número de brotações por explante, com média de 3,78 e os brotos de maior comprimento, média de 1,18cm, diferindo das porções mediana e apical. Como pode ser observado na tabela 1, o menor número de brotações por explante (1,49 brotos) e menor comprimento médio de broto (0,48cm) foram obtidos na porção apical, diferindo das porções mediana a basal.

Tabela 1- Número e comprimento médio de brotações de explantes das porções apical, mediana e basal de *Hylocereus undatus*. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Porção do Cladódio | Comprimento Brotações (cm) | Número Brotações |
|--------------------|----------------------------|------------------|
| Apical             | 0,48 c*                    | 1,49 c           |
| Mediana            | 0,96 b                     | 2,84 b           |
| Basal              | 1,18 a                     | 3,78 a           |
| CV:                | 60,01%                     | 113,97%          |

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Explantes sem a adição de BAP no meio MS apresentaram brotos maiores, (Figura 2A). Em contrapartida, a adição BAP ao meio promoveu a brotação de novos cladódios nos explantes (Figura 2B), sendo que, o maior número de brotações foi verificado entre as doses de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  e  $3 \text{ mg L}^{-1}$ .

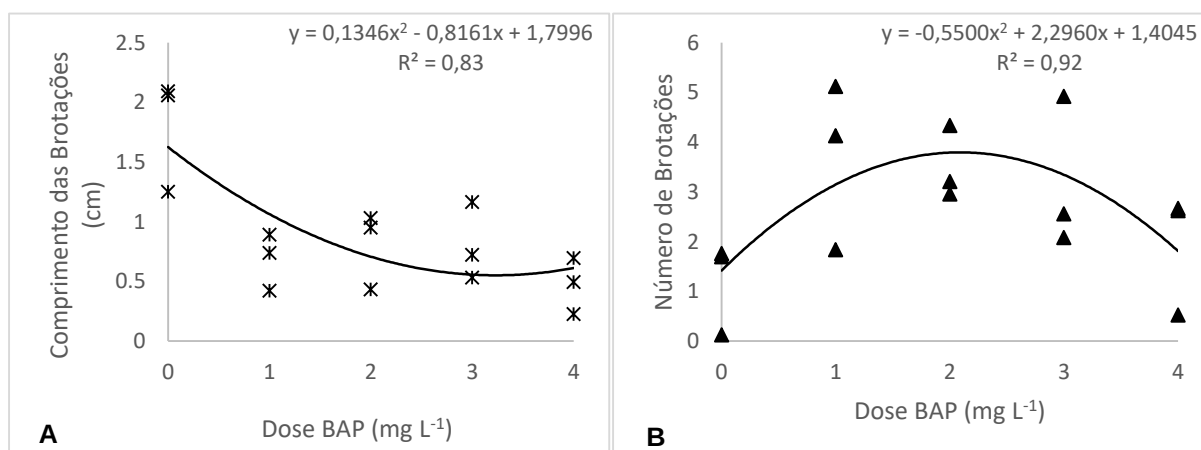


Figura 2- A: Regressão quadrática do comprimento de brotações emitidas em explantes de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. B: Regressão quadrática do número de brotações emitidas em explantes de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Na porcentagem de formação de brotações ocorreu diferença significativa e interação entre os fatores porção e dose. Ocorreu diferença significativa entre as porções do cladódio de *H. undatus* nas doses 0, 3 e  $4 \text{ mg L}^{-1}$ , onde as porções mediana e basal apresentaram maior número de brotações, diferindo da porção apical (Tabela 2).

Tabela 2- Formação de brotações em explantes de *Hylocereus undatus* em função das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Porção do cladódio | Formação de Brotações (%)       |                  |                  |       |      |
|--------------------|---------------------------------|------------------|------------------|-------|------|
|                    | Doses BAP (mg L <sup>-1</sup> ) |                  |                  |       |      |
|                    | 0                               | 1                | 2                | 3     | 4    |
| Apical             | 8 b*                            | 72 <sup>NS</sup> | 80 <sup>NS</sup> | 52 b  | 40 b |
| Mediana            | 100 a                           | 92               | 96               | 100 a | 96 a |
| Basal              | 88 a                            | 88               | 92               | 100 a | 80 a |
| CV: 26,57%         |                                 |                  |                  |       |      |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Apenas na porção apical ocorreu diferença significativa entre as doses de BAP; com maior porcentagem de formação de brotos entre as doses 1 e 3mg L<sup>-1</sup> (Figura 3).

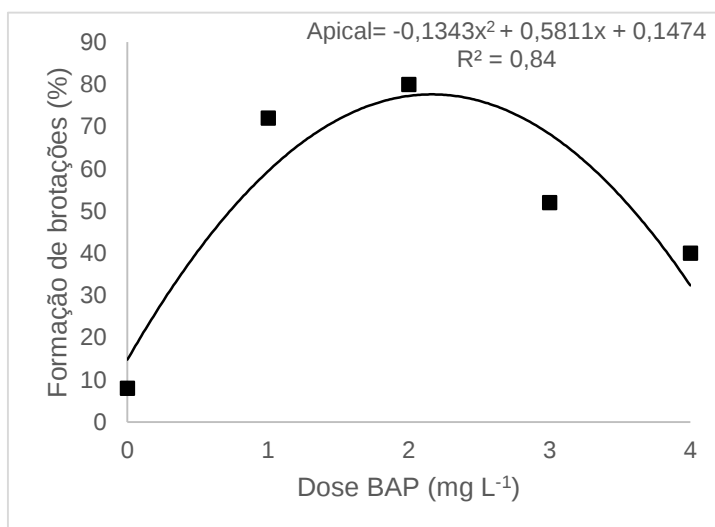


Figura 3- Regressão quadrática da porcentagem de brotações emitidas em explantes da porção apical do cladódio de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Para o número de aréolas por explante ocorreu diferença significativa e interação entre as porções do cladódio e as doses de BAP (Tabela 3).

A porção apical diferiu da mediana e basal nas doses de 0, 1, 2 e 3mg L<sup>-1</sup> de BAP, apresentando maiores médias de aréolas por explante.

Tabela 3- Número de aréolas em explantes de *Hylocereus undatus* em função das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Porção do cladódio | Número de aréolas do explante   |         |         |         |                    |
|--------------------|---------------------------------|---------|---------|---------|--------------------|
|                    | Doses BAP (mg L <sup>-1</sup> ) |         |         |         |                    |
|                    | 0                               | 1       | 2       | 3       | 4                  |
| Apical             | 23,52 a*                        | 18,24 a | 10,79 a | 13,88 a | 9,96 <sup>NS</sup> |
| Mediana            | 6,00 b                          | 6,00 b  | 5,75 b  | 6,00 b  | 5,83               |
| Basal              | 7,82 b                          | 8,74 b  | 5,66 b  | 6,44 b  | 6,00               |
| CV: 65,64 %        |                                 |         |         |         |                    |

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Apenas na porção apical ocorreu diferença significativa entre as doses, onde o maior número de aréolas ocorreu na dose 0 (sem a utilização de BAP) e de acordo com o aumento da dose ocorreu decréscimo no número de aréolas por explante (Figura 4).

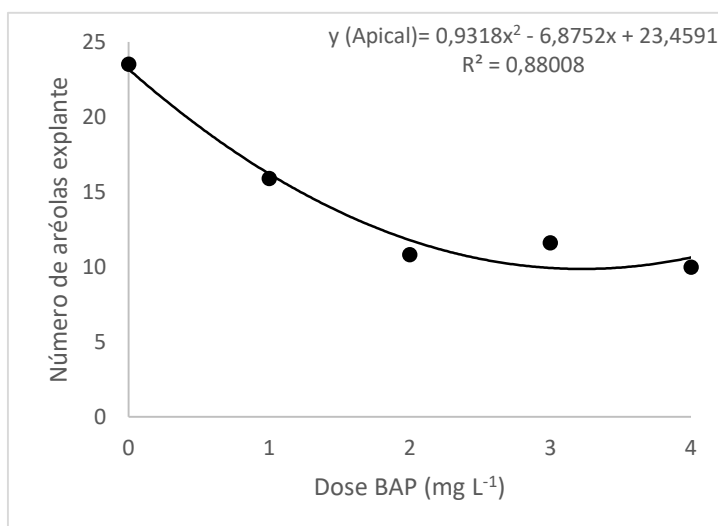


Figura 4- Regressão quadrática do número de aréolas em explantes da porção apical do cladódio de *Hylocereus undatus* em função da dose de 6-benzilaminopurina no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

Houve diferença significativa entre as porções do cladódio para o número de aréolas das brotações apenas nas doses 2, 3 e 4mg L<sup>-1</sup>, como pode ser observado na tabela 4. As porções mediana e basal apresentaram maiores médias na dose de 2mg L<sup>-1</sup>, diferindo da porção apical; já na dose 3mg L<sup>-1</sup> as porções apical e basal apresentaram as maiores médias, diferindo da porção mediana.

Na dose 4mg L<sup>-1</sup> a porção basal foi a que apresentou maior média de número de aréolas (15,33) nos brotações dos explantes, porém não diferiu estatisticamente da porção apical, com média de 8,57 (Tabela 4).

Tabela 4- Número de aréolas de brotações em explantes de *Hylocereus undatus* em função das porções do cladódio (apical, mediana e basal) e dose de BAP no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

| Porção do cladódio | Número de aréolas dos brotos    |                    |          |         |         |
|--------------------|---------------------------------|--------------------|----------|---------|---------|
|                    | Doses BAP (mg L <sup>-1</sup> ) |                    |          |         |         |
|                    | 0                               | 1                  | 2        | 3       | 4       |
| Apical             | 14,25 <sup>NS</sup>             | 9,75 <sup>NS</sup> | 10,33 b* | 14,96 a | 8,57 ab |
| Mediana            | 21,48                           | 11,10              | 17,15 a  | 8,06 b  | 8,25 b  |
| Basal              | 20,63                           | 13,16              | 19,93 a  | 17,7 a  | 15,33 a |

CV: 51,78 %

<sup>NS</sup>Não significativo. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Nas porções mediana e basal ocorreu diferença entre as doses de BAP para o número de aréolas dos brotos, onde a dose 0 a que apresentou maior número de aréolas nas duas porções (Figura 5).

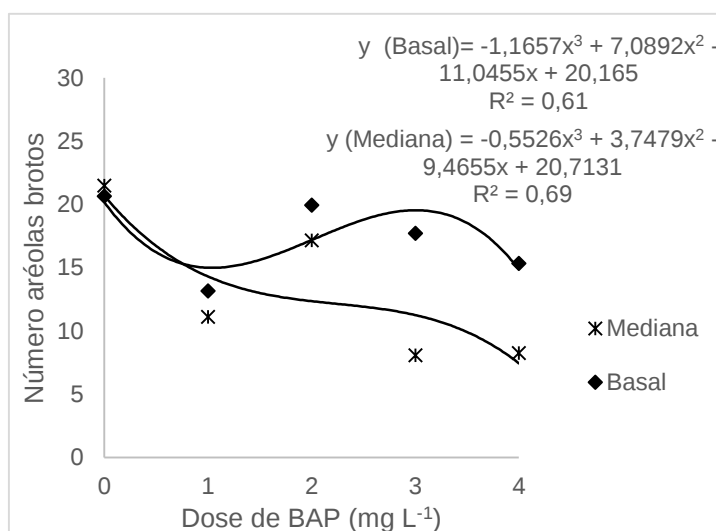


Figura 5- Regressão cúbica do número de aréolas dos brotos das porções basal e mediana do cladódio de *H. undatus* em função da dose de BAP no meio de cultura MS. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

A porção apical é um dos principais centros de síntese de auxina, além de possuir tecidos mais jovens e, portanto, mais responsivos em processos morfogênicos (SCHERWINSKI-PEREIRA; FORTES, 2001; PEREIRA; FORTES, 2001) que poderiam

responder melhor ao enraizamento e não a emissão de brotações. Pode-se observar que no tratamento em que o explante foi oriundo da porção apical e sem a adição de BAP ao meio MS, o mesmo continuou crescendo, enquanto nos tratamentos em que foi utilizado a citocinina (BAP), ocorreu quebra da dominância apical e, conseqüentemente, emissão de brotações. Drew e Azimi (2002) citam que explantes com ápices impõem forte dominância e podem limitar o crescimento de brotações laterais.

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) mencionam que a formação de brotos adventícios em pitaya é regulada por interações entre citocinina e auxinas.

De acordo com Viñas et al. (2012), o BAP foi essencial para emissão de brotos de *Hylocereus constaricensis* cultivados in vitro e o mesmo foi observado neste trabalho com *H. undatus*, onde o maior número de brotações ocorreu com a adição de 1mg L<sup>-1</sup> e 3mg L<sup>-1</sup> BAP ao meio MS.

Marques et al. (2012a) ao avaliarem diferentes porções do cladódio de *H. undatus* para produção de mudas por estaquia, observaram que a parte basal apresentou o maior número de brotações, diferindo das porções mediana e apical.

#### **4.4 Conclusão**

Para a multiplicação in vitro de *Hylocereus undatus* são indicadas a dose de 2mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina e as porções mediana e basal.

## 5 Considerações Finais

- A geração de protocolos de micropropagação distintos para diferentes genótipos é de suma importância, uma vez que *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* apresentam diferenças entre si nas etapas de estabelecimento, multiplicação e aclimatização.
- A utilização de 6-belzilaminopurina favorece o estabelecimento e multiplicação de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*.
- O enraizamento in vitro de *Hylocereus undatus* ocorre em meio MS sem adição de ácido indolbutírico.
- Na multiplicação in vitro de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* a 6-belzilaminopurina proporciona a emissão de brotações, além de apresentar menor custo quando comparado com outras citocininas.
- O maior número de brotações ocorre nas porções mediana a basal do cladódio na multiplicação in vitro de *Hylocereus undatus*.
- Na aclimatização das mudas, vermiculita e casca de arroz carbonizada favorecem o desenvolvimento das raízes. Na região Sul do Rio Grande do Sul, a casca de arroz é um resíduo agrícola, isso contribui para redução de custos na produção de mudas e reduz impactos gerados pelo descarte inadequado.
- São necessários estudos sobre influência dos substratos testados após a aclimatização e também outros substratos no desenvolvimento da muda antes de ser levada para o campo.

## Referências

- ABRAFRUTAS (Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frutas e Derivados). **Fruticultura- Setor em Expansão**. Disponível em: <http://abrafrutas.org/2018/08/14/fruticultura-setor-em-expansao/>. Acesso em: 18 dez. 2018.
- ALIYU B. S.; MUSTAPHA Y. Effect of different media on the in vitro growth of cactus (*Opuntia ficus-indica*) explants. **African Journal of Biotechnology**. v. 6, p. 1330-1331, 2007.
- ANDRADE, R. A.; OLIVEIRA, I. V. M.; SILVA, M. T. H.; MARTINS, A. B. G. Germinação de pitaya em diferentes substratos. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, p. 71-75, 2008.
- BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. Cactaceae. In: K. Kubitzki (ed.). **The families and genera of vascular plants**. Berlin: Springer-Verlag, v.2, 1993. p. 161-197.
- BASTOS, D. C.; PIO, R.; SCARPARE FILHO, J. A.; LIBARDI, M. N.; ALMEIDA, L. F. P.; GALUCHI, T. P. D.; BAKKER, S. T. Propagação de pitaya vermelha por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1106-1109, 2006.
- BAUER, R. A synopsis of the tribe Hylocereeae F. Buxb. **Cactaceae Systematics Initiatives**, v. 17, p. 3-63, 2003.
- BECERRA OCHOA, L. A. **El cultivo de la pitaya**. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 6 ed. Manizales, 1983. p.18.
- BHERING, L. L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17, p. 187-190, 2017.
- BHOJWANI, S. S.; RAZDAN, M. K. **Plant tissue culture: theory and practice, a revised edition**. Amsterdam: Elsevier, 1996. p. 767.
- CANTO, A. R. **El cultivo de pitahaya en Yucatán**. Yucatán: Universidad Autónoma de Chapingo, 1993. p. 53.
- CARVALHO, J. M. F. C.; PIMENTEL, N. W.; AIRES, P. S. R.; PIMENTEL, L. W. **Considerações Gerais Sobre Organogênese**. Campina Grande, Embrapa Algodão. Documentos150, p. 26, 2006.
- CAVALCANTE, A., TELES, M., MACHADO, M. **Cactos do semiárido do Brasil: guia ilustrado**. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido, INSA, 2013. p. 103.
- CHAROENSIRI, R., KONGKACHUICHA, R., SUKNICOM, S., SUNGPUAG, P. Betacarotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. **Food Chemistry**, v. 113, p. 202–207, 2009.
- CID, B. L. P.; ILLG, R. D.; PIEDRABUENA, A. E. Regeneration of garlic plants (*Allium sativum* L., cv Chonan) via cell culture in liquid medium. **In Vitro-Plant**, v. 30, p. 150-155, 1994.

CID, L. P. B., TEIXEIRA, J. B. (2014). Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: Cid, L. P. B. (ed.). **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2014. p. 21-26.

COSTA, F. H. S.; PASQUAL, M.; PEREIRA, J. E. S.; RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento in vitro e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.1, p.31-37, 2008.

CRANE, J. H.; BALERDI, C. F. **Pitaya growing in the Florida home landscape**. Orlando: IFAS Extension of University of Florida, 2005. p.1-9.

CRUZ, M.; CASAS, A. Morphological variation and reproductive biology of *Polaskia chende* (Cactaceae) under domestication in Central Mexico. **Journal of Arid Environments**, Amsterdam, v. 51, n. 4, p. 561-576, 2002.

DINIZ, K. A.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, J. C. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.3, p. 37-43, 2006.

DREW, R. A.; AZIMI, M. – Micropropagation of red pitaya (*Hylocereus undatus*). **Acta Horticulturae**, v. 575, p. 93-98, 2002.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 58, p. 49-59, 2009.

ELOBEIDY, A.A. Mass propagation of pitaya (dragon fruit). **Fruits**, v. 61, p. 313-19. 2006.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Multiplicação in vitro do porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 293-295, ago. 2002.

ESTRADA-LUNA, A. A., MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J. J., TORRES-TORRES, M. E., CHABLÉ-MORENO, F. In vitro micropropagation of the ornamental prickly pear cactus *Opuntia lanigera* Salm–Dyck and effects of sprayed GA3 after transplantation to ex vitro conditions. **Scientia Horticulturae**. v.117, n.4, p.378-385, 2008.

FACHINELLO, J. C; HOFFMANN, A.; NACHTGAL, J. C.; KERSTEN, E. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p.69-109.

FAN Q.J, ZHENG S.C, YAN F.X, ZHANG B.X, QIAO G, WEN X.P - 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**. v. 88, n. 5, p. 631-637, 2013.

FERIA, M.; ROJAS, D.; CHÁVEZ, M.; REYNA, M.; QUIALA, E.; SOLÍS, J.; ZURITA, F. In vitro propagation of *Hylocereus purpusii* Britton & Rose, a mexican species in danger of extinction. **Biotecnología Vegetal**, v. 12, n. 2, p. 77-83, 2012.

GARCÍA-RUBIO, L. A.; VARGAS-PONCE, O.; RAMÍREZ-MIRELES, F. J.; MUNGUÍA-LINO, G.; CORONA-OCEGUERA, C. A.; CRUZ-HERNÁNDEZ, T. Distribución Geográfica de *Hylocereus* (Cactaceae) en México. **Botanical Sciences**, v. 93, n. 4, p. 921-939, 2015.

GEORGE, E. F., HALL, M. A., KLERK, G. Plant Propagation by Tissue Culture. **The Background**. 3ed. v.1. Dordrecht: Springer, 2008. 504p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Serviço de Produção de Informação, 1998.

HERNÁNDEZ CRISANTO, M. **Caracterización y clasificación morfológica de pitahaya roja (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose) en dos plantaciones comerciales del estado de Yucatán**. 2006. 92 f. Tese (Carrera de Ingeniero Agrónomo con orientación en Fitotecnia). Instituto tecnológico del Altiplano de Tlaxcala, Tlaxcala, México, 2006.

HUA, Q.; CHEN, P.; LIU, W.; MA, Y.; LIANG, R.; WANG, L.; WANG, Z.; HU, G.; QIN, Y. A protocol for rapid in vitro propagation of genetically diverse pitaya. **Plant Cell Tiss Organ Cult**. v. 120, p. 741-745, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9827-censo-agropecuaria.html?edicao=9828&t=resultados>. Acesso em: 11 dez. 2018.

IBRAHIM, S. R. M.; MOHAMED, G. A.; KHEDR, A. I. M.; ZAYED, M. F.; EL-KHOLY, A. S. Genus *Hylocereus*: Beneficial phytochemicals, nutritional importance, and biological relevance- A review. **Journal of Food Biochemistry**, p. 01-29, 2018.

JIANG, Y. L.; LIAO, Y. Y.; LIN, T. S.; LEE, C. L.; YEN, C. R.; YANG, W. J. The photoperiod regulated bud formation of red pitaya (*Hylocereus* sp.). **Hortscience**, Alexandria, v. 47, n. 8, p. 1063-1037, 2012.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; LIMA, C.A.; SANO, S.M. Diversidade genética de Pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4, São Lourenço. **Anais**, 2007.

JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RAMOS, J. D.; PEREIRA, A. V. **Informações preliminares sobre uma espécie de Pitaya do Cerrado**. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2002. p.18.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; LIMA, C. A.; SOUZA, L. S. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 819-824, 2010.

KÄMPF, A. N. **Floricultura: técnicas de preparo de substratos**. Brasília: LK, 2006. 132p.

KIELSE, P.; FRANCO, E. T. H.; PARANHOS, J. T.; LIMA, A. P. S. Regeneração in vitro de *Parapiptadenia rigida*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p.1098-1104, 2009.

LAREDO, R. R. **Épocas de Coleta e Tipos de Incisão no Cladódio para Propagação de Pitaia Vermelha de Polpa Branca**. 2016. Tese (doutorado em Agronomia/Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new crop, a market with a future. **Fruits**, Paris, v. 61, n. 4, p. 237-250, 2006.

LEGARIA, J.; ALVARADO, M.; HERNÁNDEZ R. Diversidad genética em Pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth, Britton y Ross). **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 28, n. 3, p.179-185, 2005.

LEMA-RUMÍŃSKA, J.E KULUS, D. Micropropagation of Cacti - a Review. **Haseltonia**. n.19, 46-63, 2014.

LEMOS, E. E. P. Organogênese. In: CID, L. P. B. **Cultivo in vitro de plantas**. 3 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2014. p. 105-124.

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COHEN, K. O.; GUIMARÃES, T. G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 565-570, 2013.

LOPES, C. A.; DIAS, G. M. G.; SILVEIRA, F. A.; RODRIGUES, F. A.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Propagação in vitro de pitaia vermelha. **Plant Cell Culture Micropropagation**, v.13, n.1, p.21-27, 2017.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2006. 640 p.

MALDA, G.; SÚZAN, H.; BACKHAUS, R. *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 81, n.1, p. 71-87, 1999.

MARQUES, V. B. **Germinação, fenologia e estimativa do custo de produção da pitaia [*Hylocereus undatus* (Haw) Britton & Rose]**. 2010. 141 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

MARQUES, V. B. **Propagação semínifera e vegetativa de pitaia (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose)**. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

MARQUES, V. B.; MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; ARAÚJO, N. A.; CRUZ, M. C. M. Porções de cladódios e substratos na produção de mudas de pitaia vermelha. **Revista Agrarian**, v. 5, n. 17, p. 193-197, 2012a.

MARQUES, V. B.; ARAÚJO, N. A.; MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; RIZENTAL, M. S. Ocorrência de insetos na pitaia no município de Lavras-MG. **Revista Agrarian**, v.5, n.15, p.88-92, 2012b.

MARQUES, V. B.; MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; ARAÚJO, N. A.; SILVA, F. O. R. Fenologia reprodutiva de pitaia vermelha no município de Lavras, MG. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.984-987, 2011.

MARTINS, L. M.; PEREIRA, A. M. S.; FRANÇA, S. C.; BERTONI B. W. Micropropagação e conservação de *Macrosyphonia velame* (St. Hil.) Muell. Arg. em banco de germoplasma in vitro. **Ciência Rural**, v.41, n.3, p.454-458, 2011.

MEDEIROS, C. A. B.; RODRIGUES, L. T.; TERRA, S. Casca de arroz e sua carbonização para utilização em substratos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. (Embrapa Clima Temperado – Circular Técnica – no prelo), 2008.

MELLO, F. R. **Avaliação das Características Físico-Químicas e Atividade Antioxidante da Pitaya e Determinação do Potencial do Mesocarpo como Corante Natural para Alimentos**. 2014. 101 f. Tese (doutorado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MIZRAHI, Y.; NERD, A. New crops as a possible solution to the troubled Israeli export market. Janick, J.; Simon, J.E. (eds.). Progress in new crops: proceedings of the third national new crops symposium. **American Society of Horticultural Science**. 1996. p.56-64.

MIZRAHI, Y. Thirty-One Years of Research and Development in the Vine Cacti Pitaya Cultivation in Israel. In: Jiang, Y.L., P.C. Liu, and P.H. Huang (eds.). **Improving pitaya production and marketing**. Food and Fertilizer Technology Center, Taipei: Taiwan, 2015, p. 1-18.

MOLINA, D. J.; CRUZ, J. S. V.; QUINTO, C. D. V. **Producción y exportación de La pitahaya hacia el mercado europeo**. 2009. Monografía (Especialización em Finanzas) – Facultad de Economía y Negocios, Quito, 2009.

MOHAMED-YASSEEN, Y. Micropropagation of pitaya (*Hylocereus undatus* Britton et Rose). **In Vitro Cellular & Environmental Biology Plant**, v. 38, n. 5, p.427-429, 2002.

MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; MARQUES, V. B.; ARAÚJO, N. A.; MELO, P. C.; Crescimento de pitaia vermelha com adubação orgânica e granulado bioclástico. **Ciência Rural**, v.41, n.5, p. 785-788, 2011.

MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; SILVA, F. O. R.; MOREIRA, R. A. Produção de mudas de pitaia. **Editora UFLA: Boletim Técnico**. n. 103, 2017. p. 1-11.

MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G.; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, A. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 875- 879, 2006.

MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de Sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 12, p. 1691-1698, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NERD, A.; SITRIT, Y.; KAUSHIK, R. A.; MIZRAHI, Y. High summer temperatures inhibit flowering in vine Pitaya crops (*Hylocereus* spp.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, n. 1-4, p. 343-350, 2002.

NUNES, E. N.; SOUSA, A. S. B.; LUCENA, C. M.; SILVA, S. M.; LUCENA, R. F. P.; ALVES, C. A. B.; ALVES, R. E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**. v. 8, n. 1, p. 90-98, 2014.

OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

ORTIZ-HERNANDEZ, Y. D. **Hacia el conocimiento y conservación de la Pitahaya (*Hylocereus* sp.)**, IPN-SIBEJ-Conacyt- FMCN: Oaxaca, México, 2000. p. 124.

PASA, M. S. et al. Qualidade de luz e fitorreguladores na multiplicação e enraizamento in vitro da amoreira-preta 'Xavante'. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1392-1396, 2012.

PAULA, C. C. de; RIBEIRO, O. B. de C. **Cultivo prático de Cactáceas**. Viçosa: UFV, 2004.

PEREZ, G. R. M.; VARGAS S. R.; ORTIZ H. Y. D. Wound Healing Properties of *Hylocereus undatus* on Diabetic Rats. **Phytotherapy Research, Chichester**, v. 19, p. 665–668, 2005.

QIN, J.; WANG, Y.; HE, G.; CHEN, L.; HE, H.; CHENG, X.; XU, K.; ZHANG, D. High-efficiency Micropropagation of Dormant Buds in Spine Base of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) for Industrial Breeding. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 19, n. 1, 2017.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C. S. **Manual de Procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos 61, 2008.

SAIDELLES, F. L. F. et al. Casca de arroz carbonizada como substrato para produção de mudas de tamboril-da-mata e garapeira. Semina: **Ciências Agrárias**, v.30, p.1173-1186, 2009.

SAINI, S.; SHARMA, I.; KAUR, N.; PATI, P. K. Auxin: a master regulator in plant root developed. **Plant cell Reports**, v. 32, p. 741- 757, 2013.

SANTOS, C. M. G.; CERQUEIRA, R. C.; FERNANDES, L. M. S.; DOURADO, F. W. N.; ONO, E. O. Substratos e regulador vegetal no enraizamento de estacas de pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 625-629, 2010.

SCHUCH, M. W.; DAMIANI, C. R.; SILVA, L. C.; ERIG, A. L. Micropropagação como técnica de rejuvenescimento em mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cultivar Clímax. **Ciência Agrotécnica**, v.32, p.814-820, 2008.

SILVA, A. C. C. **Pitaya: Melhoramento e produção de mudas**. 2014, 132 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014.

SILVA, M. M. A.; FERREIRA, L. T. Cultivo in vitro de plantas e suas aplicações em cactáceas. Campina Grande: INSA, 2016.

SILVA, A. C. C.; MARTINS, A. B. G.; CAVALLARI, L. L. Qualidade de frutos de pitaya em função da época de polinização, da fonte de pólen e da coloração da cobertura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1162-1168, 2011.

SILVA, R. R.; RODRIGUES, L. U.; FREITAS, G. A.; MELO, A. V.; NASCIMENTO, I. R. D'ANDRÉA, A. F. Influência de casca de arroz carbonizada em diferentes substratos na qualidade de mudas de tomateiro. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.7, suplemento, p.803-809, 2012

SKIRVIN, R. M.; MOTOIKE, S.; NORTON, M. A.; OZGUR, M.; AL-JUBOORY, K.; MCMEANS, O. M. Establishment of contaminant-free perennial plants in vitro. **In Vitro Cell Dev Biol Plant**, v. 35, p. 278-280, 1999.

SOARES, F. P. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.1, p.152-157, 2011.

SOUZA, A. S. et al. **Preservação de Germoplasma Vegetal, com ênfase na conservação in vitro de variedades de mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p.11-24.

SOUZA, F. X.; ARAÚJO, C. A. T. Avaliação dos métodos de propagação de algumas spondias agroindustriais. Comunicado Técnico, Fortaleza: EMBRAPA **Agroindústria Tropical**, n. 31, p. 1-4, 1999.

SRISKANDARAJAH, S.; PRINSEN, E.; MOTYKA, V.; DOBREV, P. I.; SEREK, M. Schlumbergera and Rhipsalidopsis in Relation to Endogenous Phytohormones, Cytokinin Oxidase/ Dehydrogenase, and Peroxidase Activities. **Journal of Plant Growth Regulation**. v.25, n.1, p.79-88, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 888.

TEL-ZUR, N.; MIZRAHI, Y.; CISNEROS, A.; MOUYAL, J.; SCHNEIDER, B.; DOYLE, J. J. Phenotypic and genomic characterization of a vine cactus collection (Cactaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**. v. 58, p. 1075-1085, 2011.

TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyhizus*) extracts. **J Funct Foods, Napoli**, v.4, n.1, p.129-136, 2012.

TROMPE, T. A. History of plant tissue culture. **Molecular Biotechnology**, v.37, n.2, p.80-169, 2007.

VALIENTE-BANUET, A.; GALLY, R.S.; ARIZMENDI, M.C.; CASAS, A. Pollination biology of the hemiepiphytic cactus *Hylocereus undatus* in the Tehuacán Valley, Mexico. **Journal of Arid Environments**, v. 68, n. 1, p.1-8, 2007.

VENTURA, J. A.; LIMA, I. M.; MARTINS, M. V. V.; COSTA, H. Impacto e manejo das doenças na propagação das fruteiras. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 39, p. 173-194, 2017.

VIÑAS, M.; FERNANDEZ -BRENES, M.; AZOFEIFA, A.; JIMENEZ, V. - In vitro propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F.A.C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra -**In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.48, n. 5, p.469-477, 2012.

VIZZOTTO, M.; SCHIAVON, M. V.; PEREIRA, E. S.; MUNHOZ, P. C.; FONSECA, L. X.; FERRI, N. M. L.; KROLOW, A. C. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 243 Caracterização Físico-química, Composição Mineral e Compostos Bioativos em Duas Espécies de Pitaías da Região Sul do Brasil, 2016.

WEISS, J.; NERD, A.; MIZRAHI, Y. Flowering behavior and pollination requirements in climbing cacti with fruit crop potential. **HortScience**, v. 29, n. 2, p.1487-1492, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Geneva: WHO, 2003.

WU, L.; HSU, H.; CHEN, Y.; CHIU, C.; LIN, Y.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, p.319–327, 2006.