



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA E CIÊNCIAS SOCIAIS – CAMPUS III  
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA

LIÉZELY JOICE DA SILVA SANTOS

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*) SOB  
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE 6-BENZILAMINOPURINA**

JUAZEIRO-BA

2022

**LIÉZELY JOICE DA SILVA SANTOS**

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*) SOB  
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE 6-BENZILAMINOPURINA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Universidade do Estado da Bahia como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Sob a orientação do Professor André Luís Lopes da Silva.

JUAZEIRO-BA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Regivaldo José da Silva/CRB-5-1169

S237m

Santos, Liézely Joice da Silva

Multiplicação in vitro de pitaya (*Hylocereus costaricensis*) sob diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina / Liézely Joice da Silva Santos. Juazeiro-BA, 2022.

54 fls.: il.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Lopes da Silva.

Inclui Referências

TCC (Graduação – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais. Campus III. 2022.

1. Pitaya – Fruta do dragão. 2. Pitaya – Cultivo in vitro.  
3. BAP – 6-benzilaminopurina. I. Silva, André Luís Lopes da.  
II. Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais. III. Título.

CDD: 664.8

LIÉZELY JOICE DA SILVA SANTOS

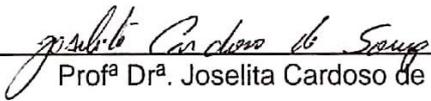
**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*) SOB  
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE 6-BENZILAMINOPURINA**

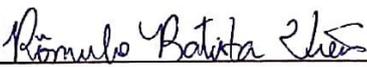
Trabalho de conclusão de curso submetido à  
Universidade do Estado da Bahia como parte  
dos requisitos necessários para a obtenção do  
Grau de Bacharel em Engenharia de  
Biotecnologia e Biotecnologia.

Aprovado em: 12/10/22

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Profº Drº André Luís Lopes da Silva (Orientador)  
Universidade do Estado da Bahia – UNEB

  
\_\_\_\_\_  
Profª Drª. Joselita Cardoso de Souza  
Universidade do Estado da Bahia – UNEB

  
\_\_\_\_\_  
Profº Drº. Rômulo Batista Vieira  
Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Juazeiro – BA

2022

*Dedico este trabalho aos meus pais,  
minha avó e a todos que contribuíram na  
minha caminhada.*

## AGRADECIMENTOS

*Minha declaração de agradecimento é uma forma de expressar toda a gratidão aos envolvidos na minha jornada, em que partilharam comigo momentos, conselhos, e sorrisos e agora podem me ver finalizando uma das etapas mais significativa da minha vida.*

*Toda minha gratidão a Deus, pois o seu amor me sustentou e acalmou meu coração, então graças eu te dou Pai.*

*Agradeço a minha mãe Laudinete da Silva e ao meu pai José Ferreira por dar toda assistência e por me permitir ir em busca dos meus objetivos. E aos meus irmãos, Lara Joezia e Melquizedeque Santos que fazem parte da minha história e também aos meus sobrinhos Victor e Nicolas que tornaram essa caminhada mais divertida.*

*Agradeço a minha avó, Matilde Ferreira, que não teve a oportunidade do estudo, mas sempre me incentivou. Meus agradecimentos também a minha prima Aira Quesia por sempre me estimular a estudar e ao meu primo Wyrander Gama por toda a ajuda, em especial o do “caça borboletas”. E ao meu tio José da Silva (Popô), porque sei, se ele estivesse aqui me ligaria.*

*Na faculdade fiz amizades que foram capazes de tornar tudo mais leve, então vou começar agradecendo a minha amiga Fernanda Érika Okubo que me acompanha desde o 1º semestre, e com quem puder contar e partilhar minhas ideias.*

*Agradeço a Lorena Pacífico e a Luany Carvalho, vocês foram essenciais na minha vida acadêmica e muito importantes pra mim, afinal somos as abelhinhas. Agradeço a Emanuela Anunciação e a Marianna Hipólito pela companhia e diversão. E ao Jefferson Caxias, que foi a primeira amizade que fiz na faculdade, a Amanda Rios e Alessandro Nascimento pela confiança, ajuda e os ensinamentos.*

*Toda minha gratidão e admiração, a professora Joselita Cardoso, pela generosidade, os ensinamentos, por ser um exemplo e por toda dedicação que a senhora deu na elaboração do projeto.*

*E sou grata ao meu orientador André Luís Lopes da Silva por aceitar acompanhar o desenvolvimento desse projeto, dando todo o auxílio e também pelas conversas que sempre acabo aprendendo algo novo.*

## RESUMO

Conhecida como uma fruta exótica, a pitaya se destaca nacional e internacionalmente, e esse crescente interesse se deve as suas características funcionais que acabam despertando a atenção dos consumidores e dos produtores dada a sua demanda, em especial a da espécie *Hylocereus costaricensis*. Para a produção comercial dessa fruta, a forma de propagação mais vantajosa é o cultivo *in vitro*, contudo não existem muitos estudos com relação à micropropagação, sendo necessário o estabelecimento de um protocolo eficiente. Logo, objetivou-se com esse trabalho estudar as diferentes concentrações do regulador 6-benzilaminopurina (BAP) na micropropagação da *Hylocereus costaricensis*. Este estudo analisou a influência do BAP na fase de multiplicação utilizando cinco tratamentos com diferentes concentrações do regulador BAP (T1: 0,0; T2: 0,25 mg L<sup>-1</sup>; T3: 0,5 mg L<sup>-1</sup>; T4: 0,75 mg L<sup>-1</sup>; T5: 1,0 mg L<sup>-1</sup>), o delineamento experimental foi inteiramente causalizado, sendo considerado 5 tratamentos com 7 repetições e 2 parcelas. Os explantes foram cultivados a uma temperatura de 25 °C, iluminados com lâmpada do tipo *Light-Emitting Diode* (LED) e fotoperíodo de 16 horas, sendo avaliados a cada 20 dias. Após 60 dias, foram realizadas as avaliações finais e verificou-se que os tratamentos suplementados com o BAP apresentaram melhores respostas, sobretudo o tratamento 5 para formação de brotos, tamanho das brotações e comprimento da parte aérea. Porém, foi notado que a presença do BAP induz resultados não satisfatórios para essa espécie, e apenas o tratamento com ausência de BAP não promoveu calos, deformação e hiperidricidade.

**Palavras-chave:** Pitaya – Fruta do dragão; Pitaya – Cultivo *in vitro*; BAP – 6-benzilaminopurina.

## ABSTRACT

Known as an exotic fruit, pitaya stands out nationally and internationally, and this growing interest is due to its functional characteristics that end up attracting the attention of consumers and producers given its demand, especially that of the species *Hylocereus costaricensis*. For the commercial production of this fruit, the most advantageous form of propagation is *in vitro* cultivation, however there are not many studies regarding micropropagation, requiring the establishment of an efficient protocol. Therefore, the objective of this work was to study the different concentrations of the regulator 6-benzylaminopurine (BAP) in the micropropagation of *Hylocereus costaricensis*. This study analyzed the influence of BAP in the multiplication phase using five treatments with different concentrations of the BAP regulator (T1: 0.0; T2: 0.25 mg L<sup>-1</sup>; T3: 0.5 mg L<sup>-1</sup>; T4: 0.75 mg L<sup>-1</sup>; T5: 1.0 mg L<sup>-1</sup>), the experimental design was entirely causal, considering 5 treatments with 7 replications and 2 plots. The explants were cultured at a temperature of 25 °C, illuminated with a *Light-Emitting Diode* (LED) lamp and a photoperiod of 16 hours, being evaluated every 20 days. After 60 days, the final evaluations were carried out and it was found that the treatments supplemented with BAP showed better responses, especially treatment 5 for shoot formation, shoot size and shoot length. However, it was noted that the presence of BAP induces unsatisfactory results for this species, and only the treatment with the absence of BAP did not promote callus, deformation and hyperhydricity.

**Keywords:** Pitaya – Dragon fruit; Pitaya – *In vitro* cultivation; BAP – 6-benzylaminopurine.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Espécies de pitaya. Foto: Canva (2022).....	20
<b>Figura 2.</b> Espécie <i>H. costaricensis</i> (Pitaya vermelha). Foto: Pixabay (2022). ....	20
<b>Figura 3.</b> <i>Tubos de ensaios contendo a pitaya (Hylocereus costaricensis)</i> . Foto: Autoria Própria (2022). ....	30
<b>Figura 4.</b> Soluções-estoque. Foto: Autoria Própria (2022). ....	31
<b>Figura 5.</b> <i>Explante cortado</i> . Foto: Autoria Própria (2022). ....	33
<b>Figura 6.</b> Introdução do explante cortado. Foto: Autoria Própria (2022). ....	33
<b>Figura 7.</b> Explante apresentando brotações com 6 dias de cultivo em meio de cultura com 1 mg/l de 6-benzilaminopurina (BAP). Foto: Autoria própria (2022)..	35
<b>Figura 8.</b> (a) Explante do tratamento 5 suplementado com 1,0 mg L <sup>-1</sup> de BAP, apresentando múltiplas brotações com 20 dias de experimento; (b) explantes do tratamento 1 sem adição de BAP, não demonstrou formação de brotos no período de 20 dias. Foto: Autoria própria (2022). ....	36
<b>Figura 9.</b> (a) Proliferação de brotos no tratamento 5, avaliados com 40 dias de experimento; (b) pequenos indícios de brotações com 40 dias, no tratamento 1 (controle). Foto: Autoria própria (2022). ....	37
<b>Figura 10.</b> (a) Com 60 dias de experimento o tratamento 5 demonstra efeito favorável a indução de brotos, e é visto que o acréscimo da citocinina possibilitou a formação de calos; (b) Sem a presença do regulador BAP, o T1 mostrou-se capaz de produzir brotos a partir dos fitormônios endógenos, embora o tempo tenha sido tardio, e produziu também raízes basais. Foto: Autoria própria (2022). ....	37
<b>Figura 11.</b> Resultado do tratamento 3 no meio de cultura líquido. Foto: Autoria própria (2022). ....	38
<b>Figura 12.</b> (a) Explantes retirados dos frascos do tratamento 1, após 60 dias de cultivo é possível perceber poucas brotações e a presença de raízes com quantidade média de 2 raízes basais por explantes; (b) explantes do tratamento 2 com a presença de brotos e hiperidricidade; (c) explantes do tratamento com evidência de deformação e com calos; (d) explantes do tratamento 5, com a presença de calos, hiperidricidade, deformação e brotações com tamanho considerável. Foto: Autoria própria (2022). ....	41

**Figura 13.** (a) Planta cultivada in vitro na presença do regulador BAP, adicionado a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  na qual apresenta um percentual de 67% de hiperidricidade; (b) planta também no tratamento 5, em que se pode visualizar a presença de brotos hiperídricos. Foto: Autoria própria (2022). ..... 45

**Figura 14.** (a) Demonstração das plantas deformadas em virtude da alta concentração do BAP; (b) planta contendo todas as suas brotações com deformidade. Foto: Autoria própria (2022). ..... 45

**Figura 15.** (a) Calos oriundo do tratamento 2, em que continha  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP; (b) Formação de calos surgiu no tratamento 4 que está disposto de  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP; (c) calos formados no tratamento 5. Foto: Autoria própria (2022). .... 46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Sais minerais utilizados para o preparo das soluções-estoque do meio de cultura MS (Quisen e Angelo, 2008). .....	31
<b>Tabela 2.</b> Número total de brotações nos explantes da pitaya ( <i>Hylocereus costaricensis</i> ) para os tratamentos com e sem o regulador BAP. ....	38
<b>Tabela 3.</b> Avaliação do comprimento das brotações, que se encontra abaixo de 1 cm, entre 1 a 2 cm e acima de 2 cm nos explantes da pitaya ( <i>Hylocereus costaricensis</i> ) para os tratamentos adicionando BAP e na ausência do BAP. ....	40
<b>Tabela 4.</b> Avaliação do comprimento da parte aérea nos explantes da pitaya ( <i>Hylocereus costaricensis</i> ) para os tratamentos sem e com o BAP. ....	40
<b>Tabela 5.</b> Formação de raízes basais nos explantes da pitaya ( <i>Hylocereus costaricensis</i> ) para os tratamentos sem e com o BAP. ....	42

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Exemplo de reguladores de crescimento.....	25
<b>Quadro 2.</b> Concentrações dos reguladores de crescimento.....	32
<b>Quadro 3.</b> Análise qualitativa para os parâmetros de sobrevivência, necrose, oxidação, clorose e contaminação nos explantes da pitaya ( <i>Hylocereus costaricensis</i> ) para o tratamento sem e os dispostos em diferentes quantidades com o regulador BAP. ....	43
<b>Quadro 4.</b> Análise qualitativa para os parâmetros de hiperidricidade, deformação, calos e raízes aéreas nos explantes da pitaya ( <i>Hylocereus costaricensis</i> ) para o tratamento sem e os dispostos em diferentes quantidades com o regulador BAP....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA	Ácido indol acético
AIB	Ácido indolbutírico
ANA	Ácido naftaleno acético
BAP	6-benzilaminopurina
CAM	Ácido das crassuláceas
CIN	6-furfurilaminopurina
D	Dia
H	Hora
HCl	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LED	<i>Light-Emitting Diode</i> (Diodo Emissor de Luz)
MIN	Minuto
MS	Meio Murashige & Skoog
NaOH	Hidróxido de sódio
S	Segundo

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	17
2.1. Pitaya.....	17
2.2. Espécie <i>Hylocereus costaricensis</i> .....	20
2.3. Propagação <i>in vitro</i> .....	22
2.4. Reguladores de crescimento .....	24
2.5. BAP (6-benzilaminopurina) .....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Material Vegetal.....	29
3.2 Esterilização de vidrarias e preparação das soluções-estoque e dos reguladores .....	30
3.3 Preparação de meios de culturas .....	32
3.4 Multiplicação <i>in vitro</i> .....	32
3.5 Análise estatística.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
5. CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS .....	48

## 1. INTRODUÇÃO

Oriunda da América tropical, a pitaya da família das cactáceas é uma frutífera que se apresenta com grande poder nutritivo, de fácil aceitação e com importante índice produtivo. As suas características sensoriais, bem como os seus aspectos singulares, corroboram para despertar a atenção dos consumidores (NEPOMOCENO et al., 2019). Assim como tem fomentado o interesse dos produtores (LOPES et al., 2017).

De perfil peculiar e disposição vantajosa, a pitaya é abundantemente escalada como uma alternativa viável da fruticultura, tendo uma ampla distribuição em mercados internacionais, e de crescente propensão no Brasil, sendo o seu desenvolvimento bastante requisitado. A sua introdução em terras brasileiras é de tempos recentes, segundo Correia et al (2017), o cultivo dessa cactácea no Brasil, iniciou-se na década de 1990, na cidade de São Paulo, e o fruto desde então vem se popularizando.

Embora, tenha tido uma introdução tardia no país, a fruta já é bem apreciada pela sua beleza exótica e seu valor nutritivo, se destacando como uma cultura com potencial importância econômica. Os últimos dados do censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2017, informa que a quantidade produzida da pitaya foi de 1.459 toneladas, apontando o estado de São Paulo como o seu maior produtor. Apesar de não ser ainda estabelecida como uma cultura de produção expressiva, tal como alega o valor relatado, e de não ser tão difundida nos outros estados, o seu cultivo demasiado já é uma perspectiva, visto que muitos produtores tem aderido ao seu plantio e existe boa aceitação dentre os consumidores.

Planta epífita, da família das cactáceas, pertencente aos gêneros *Hylocereus*, *Selenicereus*, *Stenocereus* e *Cereus*. Dentre as variedades existentes de pitaya, as mais cultivadas são as do gênero *Hylocereus*, como *Hylocereus polyrhizus*, *Hylocereus undatus* e *Hylocereus megalanthus*, sendo a alteridade dos seus frutos as diferenças mais notáveis (BRAND, 2021). Ou seja, seu fruto encontra-se distribuído sob as variações de branco, vermelho e amarelo. Podendo, dessa maneira, diferir as espécies e as variantes, segundo a cor da casca e da polpa (PAGLIACCIA et al., 2015).

Uma espécie que vem sendo bastante solicitada, é a *Hylocereus costaricensis*, a chamada pitaya vermelha, que apresenta a casca e a polpa de coloração vermelha. Segundo Cristofoli (2015), a *Hylocereus costaricensis* tem ganhado espaço, e essa demanda pela fruta exótica não se deve somente a seus aspectos físicos, está também relacionada as suas condições organolépticas, bem como, as suas ricas fontes vitamínicas, e a firmeza da sua polpa, que corresponde aproximadamente de 60 - 80% do fruto, podendo ser desfrutada *in natura* ou processada, além do seu uso ornamental. O fruto da *Hylocereus costaricensis*, auxilia na redução do colesterol, no controle de diabetes, na regulação da pressão arterial e também ajuda na saúde bucal (MAHMOD et al., 2021). Logo, dotada de propriedades funcionais tão necessária e conferida com aspectos próprios, a pitaya tem ocupado um lugar de notoriedade comercial.

A propagação da pitaya pode ser de maneira sexuada, por meio da germinação de sementes, e também por meio da propagação assexuada, a qual consiste em fazer uso do método da estaquia. Contudo, essas técnicas convencionais não são consideradas tão vantajosas na produção comercial, pois no plantio por sementes é necessário aguardar seu período juvenil, que é longo, e em relação ao procedimento de estaquia, há o risco de proliferação de pragas e de doenças (GONÇALVES et al., 2020). Além disso, não é assegurada a estabilidade genética da espécie pela propagação por sementes. Como esses fatores acabam restando a produção em massa da pitaya, a utilização de outros métodos vegetativos que possam suprir essa necessidade, seria ideal. Assim, a propagação *in vitro* pela cultura de tecido, mencionado por Menezes et al. (2012), tem sido uma possibilidade para produzir em larga escala e gerar plantas saudáveis e uniformes.

Porém, os estudos a respeito da pitaya são muito limitados (NEPOMOCENO et al., 2019). Sobretudo na cultura de tecidos, e embora tenha existido inúmeras pesquisas, ainda se faz necessário estabelecer um protocolo com a adequação precisa da concentração dos reguladores utilizados, visto que estes são substanciais a qualidade da cultura. Dentre os principais reguladores empregados, estão as citocininas representadas pela 6-benzilaminopurina (BAP), que, de acordo com Silva (2017), induz proliferação de gemas axilares e da quebra da dominância apical, propiciando o desenvolvimento da parte aérea.

Portanto, como afirma Chargas et al., (2014), se tem conhecimento acerca da crescente demanda que a pitaya vem provocando, tanto nos consumidores quanto nos fruticultores brasileiros, bem como se sabe da escassez de informação a respeito da multiplicação e produção *in vitro* dessa cultura, logo, se faz necessário alavancar estudos sobre as técnicas de cultura de tecidos nesta espécie. Dessa forma, pode-se obter êxito na produção de mudas de qualidade, também colaborar no avanço da compreensão da sua fisiologia e favorecer o desenvolvimento de programas relacionado ao melhoramento genético.

Assim, no presente trabalho objetivou-se fazer uso da citocinina sintética 6-benzilaminopurina (BAP), em diferentes concentrações, na multiplicação *in vitro* da espécie *Hylocereus costaricensis*.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Pitaya

Planta frutífera, nativa das florestas tropicais da América Central e do Sul (GALVÃO et al., 2016), pertencente à família das cactáceas, está distribuída em diferentes gêneros que conferem aos frutos características distintas. As espécies de pitaya são agrupadas em quatro gêneros que são: *Stenocereus* (Britton & Rose), *Cereus* (Mill), *Selenicereus* (Riccob) e *Hylocereus* (Britton & Rose) (MIZRAHI, et al., 1997 apud LIMA, 2013; BRITTON e ROSE, 1963 apud LIMA, 2013).

O nome pitaya tem como significado fruta escamosa, oriunda a partir do idioma taino ao qual pertence à família linguística arahuaca (SILVA, 2014). É conhecida também como dragon fruit (fruta-do-dragão), dada a sua aparência singular, e que chama atenção pela coloração variante da fruta que vai do amarelo ao vermelho-púrpura (POLLNOW, 2018).

A pitaya é uma planta perene, epífita e que possui raízes adventícias para auxiliar na fixação e aquisição de nutrientes (GALVÃO, 2016). Habitualmente cresce sobre árvores, muros ou pedras (LIMA, 2013).

Por ser uma cultura proveniente da América tropical, a pitaya possui a capacidade de se adequar as diversas condições climáticas. Devido aos seus aspectos metabólicos, denominado ácido das crassuláceas (CAM), funciona mantendo durante o dia os seus estômatos fechados, abrindo a noite para captar o carbono, e, nesse processo fotossintético modera no uso da água, conseguindo dessa maneira se adaptar as condições de escassez hídrica (LIMA, 2013). É capaz de se adequar a climas secos e de tolerar ambientes quentes. Lone (2014) ressalta que as suas temperaturas ideais estão entre 20 a 30 °C.

A planta traz como características, segundo Lima (2013), a abundância de raízes que são desenvolvidas, os seus cladódios que se apresentam em forma triangular, sendo os espinhos de comprimento de 2 a 4 mm, os seus frutos gerados, encontram-se nas formas globulosos ou subglobulosos podendo conter brácteas ou espinhos, a sua polpa é uma fonte nutricional rica em fibras e de baixo teor calórico e já a suas flores são hermafroditas, tendo o comprimento de

15 a 30 cm. A pitaya é tida como planta de dias longos, com o fotoperíodo influenciando na formação de gemas floríferas (JIANG et al., 2012).

A fruta da pitaya, por exibir aspectos satisfatório como sabor doce e suave, firmeza da polpa e por ser cheia de sementes, têm gerado interesse nos produtores, em virtude da sua grande aceitação pelos consumidores (MARQUES, 2008 apud POLLNOW, 2018). É uma cultura muito considerada para uso ornamental ou na fruticultura. A sua utilização ornamental, se deve aos seus traços morfológicos em que são representadas pelas plantas, flores e frutos (TRIVELLINI, 2020).

De acordo com Silva (2014), a pitaya tem muita aplicabilidade, podendo ser empregada na alimentação do homem e animal, sendo todas as suas partes como as flores, cladódios e frutos servidos para consumo. Além disso, esta planta é de muita utilidade a farmacopeia popular, em virtude de suas propriedades medicinais, pois é fonte de vitaminas como o complexo B, vitamina C, vitamina E, e, se constitui também de substâncias terpênicas como o betacaroteno, licopeno, polifenóis, ademais, é rica em pigmentos naturais como betalaína, em minerais, como o potássio, magnésio, cálcio, em carboidratos e em ácidos graxos essenciais (DIAS, 2016). E, conforme explana Mahmud et al., (2021), também possui atividade antioxidante, anti-proliferação e ainda por cima é capaz de melhorar a digestão, o sistema imunológico e de reduzir os níveis de colesterol. Ainda previne contra doenças cardiovasculares, câncer, perda de memória e atua em processo de cicatrização de feridas (THIHA, 2019).

A pitaya apresenta potencialidade para estar presente como matéria-prima em grandes indústrias de diferentes ramos como a alimentícia, farmacêutica e cosmética devido as suas propriedades bioativas (TRIVELLINI, 2020). O seu consumo pode ser *in natura* ou por meio de procedimento como o uso da polpa na fabricação de sorvetes, geleias, iogurtes, sucos e outros processos que abrange a indústria alimentícia, nas outras esferas industriais pode ser utilizada no tratamento de acne, queimadura, caspa, sabonetes cremes e outros produtos (LOUREIRO, 2021).

Os benefícios que a pitaya pode proporcionar faz com que aumente sua popularidade. Como afirma Ortiz-Hernández e Carrillo-Salazar (2012), é enorme a

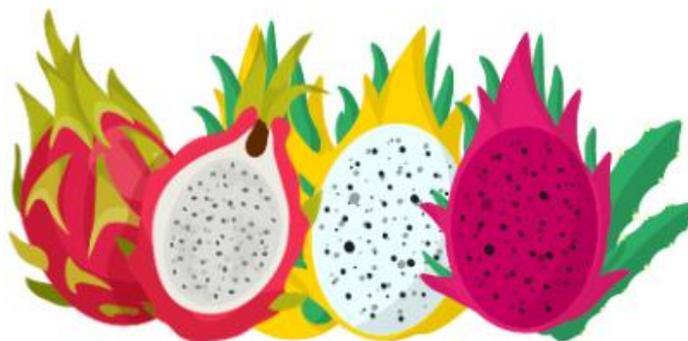
sua procura no mercado nacional e internacional, e vem contribuindo com a sua produção na geração de emprego e renda.

No mercado internacional o cultivo da pitaya se dá nos países como Austrália, Bahamas, Bermuda, Colômbia, Indonésia, Israel, Filipinas, Flórida, Malásia, México, Nicarágua, Japão, Sri Lanka, China, Taiwan, Tailândia, Vietnam e Índia (MERCADO-SILVA, 2018). Sendo, Colômbia e México, apontado como os maiores produtores (GALVÃO, 2016).

No mercado nacional a difusão dessa cultura iniciou-se recentemente, existindo ainda pequenos centros de produções. O seu cultivo no Brasil teve início na década de 1990, e no estado de São Paulo, a principal região produtora é Catanduva (CORREIA, 2017).

De acordo com Brand (2021), as áreas cultivadas no Brasil são poucas ainda, sendo necessário recorrer a importações dos frutos, o que faz com que os valores sejam caros e se torne inacessível a toda população. O cultivo da pitaya no país se encontra concentrado no estado de São Paulo, como informado pelo IBGE (2017), em que segundo os dados, o estado contém o maior número de estabelecimentos de cultivo, sendo no total 211 estabelecimentos, e vem acompanhado por Santa Catarina tendo 120 estabelecimentos, depois Pará com 77 estabelecimentos, Minas Gerais com 56 e ainda o Rio Grande do Sul com 53 estabelecimentos. Embora pode-se observar o comércio se expandindo, o número de pitaya comercializada ainda não é considerada grande (POLLNOW, 2018). Mas, em vista de sua atratividade comercial, bem como a rentabilidade e outros fatores, essa cultura tem despertado interesse dos produtores, fazendo com que aumente a sua produção e a comercialização (SANTANA, 2019).

As espécies de pitaya mais comercializada são a *Hylocereus polyrhizus*, *Hylocereus Undatus*, *Hylocereus megalanthus* e *Hylocereus costaricensis*. Conforme Silva (2014) enuncia, em virtude de as diferentes espécies ter uma grande distribuição geográfica, essas acabam possuindo a capacidade de se adequar as mais diversas condições ambientais. E se distinguindo em alguns aspectos como a cor da polpa, sólidos solúveis, tamanho do fruto e etc (SANTANA, 2019).



**Figura 1.** Espécies de pitaya. Foto: Canva (2022).

## 2.2. Espécie *Hylocereus costaricensis*

*Hylocereus costaricensis* é uma das espécies de destaque da pitaya, trazendo como características a coloração da sua casca avermelhada e da polpa vermelha-púrpura. O seu fruto é alongado, sua casca possui escamas, tem comprimento de 15 a 22 cm e massa de 300 a 800 g (SOUSA et al., 2019). É uma espécie que chama atenção devido a sua aparência exótica (FERNANDES et al., 2019).



**Figura 2.** Espécie *H. costaricensis* (Pitaya vermelha). Foto: Pixabay (2022).

Mahmod et al. (2021) afirma que essa espécie tem muita visibilidade internacionalmente, pelo seu uso ornamental e tem atraído interesse para a sua produção comercial, ocupando, portanto, no mercado um lugar de importância (FERNANDES et al., 2019). Contudo, no Brasil o cultivo dessa planta ainda é limitado, tendo-se que recorrer à importação, o que faz com que o fruto seja caro e indisponível a toda população (NUNES et al., 2014).

A *Hylocereus costaricensis*, segundo Sato et al., (2014), é uma espécie de pitaya que é capaz de prevenir contra diversas doenças, dada as suas

propriedades nutricionais que são anti-inflamatória, antidiabética e precaver contra câncer e doenças cardiovasculares. Os compostos bioativos dessa planta que atuam na prevenção, envolvem a presença de antioxidantes (betalaínas, hidroxicinamatos e flavonoides) e possui também alto nível de vitaminas (MAHMUD et al., 2021). As betalaínas presente nesse fruto, são compostos bioativos que contribuem para a coloração vermelha da polpa. Segundo Xi et al. (2019), a espécie *Hylocereus costaricensis* possui um alto teor de betalaína.

As betalaínas, são compostos nitrogenados, integrados por dois tipos de pigmentos, que se classificam em betacianinas, com cor vermelho-violeta e as betaxantinas, com coloração amarelo-laranja SOUSA et al. (2015). Esses pigmentos derivados da tirosina, são ricos em nitrogênio, e são considerados vantajosos em relação as antocianinas, dada a sua estabilidade na faixa de pH 3-7 (STINTZING e CARLE, 2007 apud VINÃS, 2012). Então, por apresentar uma alta taxa desse composto, a *Hylocereus costaricensis*, conforme afirma Vinãs (2012), nos últimos tempos teve uma demanda crescente para consumo como fruta fresca e também como fonte de pigmentos naturais para uso no processamento de alimentos. Sendo assim, a fruta é utilizada para fins alimentícios e também na indústria farmacêutica (OLIVEIRA et al., 2022). E, além de ser de uso alimentício, farmacêutico e cosmético, as betalaínas presente na pitaya vermelha contém propriedades terapêuticas que previne contra doenças (RAHIMI et al., 2018). A espécie possui um elevado teor nutricional referente ao seus homólogos, atuando assim na redução do colesterol, diabetes, no controle da pressão arterial e ajuda na saúde bucal (SHENG et Al., 2016).

Oliveira et al. (2022), menciona que a *Hylocereus costaricensis* é uma espécie muito favorável, que em virtude dos seus aspectos funcionais e organolépticos, possui uma grande capacidade de cultivo. Logo, se percebe porque é uma cultura tão estimada em razão de seus amplos benefícios funcionais e estéticos. Como confirma Brand (2021), em vista do seu potencial para ser aplicado nas indústrias alimentício e comercial, o setor agrícola tem buscado abrir-lhe mais espaço. E, a respeito da sua frutificação, pode-se produzir cerca de três safras anuais (FERNANDES et al., 2019).

Os métodos de propagação da pitaya podem ser de forma sexuada ou assexuada, sendo a primeira ocasionada por meio da germinação da semente.

Segundo Fernandes et al. (2019), a obtenção da planta mediante sementes, pode resultar em plantas semelhantes aos seus progenitores ou não, diz ainda que essa técnica é desvantajosa por trazer segregação genética. E, raramente é utilizado o método de propagação por sementes, visto que o tempo é demoradamente longo para se obter frutos, só ocorrendo em torno de 1 a 2 anos (RAMADAN et al., 2016).

Pelo processo assexuado utiliza-se a estaquia, e essa técnica traz como vantagem o tempo de frutificação que leva em torno de 7 a 8 meses após o plantio, além do que as sementes geradas possuem uniformidade, sendo fiéis a planta-matriz (RAMADAN et al., 2016). No entanto, este recurso em virtude da carência de nós jovens, não se apresenta como um procedimento suficiente na produção comercial (BOZKURT et al., 2020). E a taxa de multiplicação, é baixa para produção em larga escala.

Além desses métodos usuais de propagação, existe também a micropropagação, que é uma alternativa promissora. Segundo Bozkurt et al. (2020), utilizar a micropropagação para produzir espécies de pitaya é uma maneira de otimizar a produção, trazendo rapidez, e ademais esta é uma técnica eficiente, de qualidade e muito considerada para produção em escala comercial.

### **2.3. Propagação *in vitro***

A cultura de tecidos é uma técnica de propagação assexuada eficaz para os que almejam obter culturas que apresente uniformidade. Pois, segundo Pedrotti et al. (2019), é desejado comercialmente que mudas de grande importância sejam propagadas por meio assexual, para que assim resulte em plantas uniformes fenotipicamente (crescimento, floração, frutificação, etc).

A pitaya no Brasil, por ser uma fruta exótica e por ter uma demanda maior que a oferta tem gerado nos produtores, interesse pelo seu plantio, fornecendo a possibilidade de realizar investimentos (QUERUBIM et al., 2019). Dessa maneira, a cultura de tecido pode auxiliar na propagação de mudas de ótima qualidade, tendo em vista que essa técnica viabiliza a obtenção de plantas saudáveis e também

oportuniza a produção de mudas em larga escala a partir de pequenos propágulos (MENEZES et al., 2012).

A técnica de cultura de tecido vegetal sob condições assépticas e ideais são capazes de produzir plantas sob cultivo *in vitro*. É uma técnica operada em laboratório, que mantém a planta, tecido, órgão ou célula em cultivo, fornecendo condições controladas de fatores ambientais e nutricionais (SOUZA, 2018). De acordo com Menezes et al. (2012), a cultura de tecidos, mesmo utilizando pouca quantidade de material propagativo, oferece a possibilidade de obtenção de plantas saudáveis, tendo uma grande taxa de multiplicação, produzindo assim, mudas em escala comercial. E uma das aplicações desta técnica é a micropropagação que consiste em utilizar explantes, sendo estes fragmentos do tecido vegetais, em que são submetidos a procedimentos que vai desde a sua desinfestação ao seu cultivo no meio de cultura. Segundo Züge (2019), o meio de cultura na micropropagação é fundamental, pois provê os nutrientes que são imprescindíveis para os tecidos vegetais, cultivados *in vitro*, crescerem e se desenvolverem.

Segundo Neto e Andrade (2011), o procedimento se sucede por criar um ambiente artificial dentro de um recipiente de vidro, que mantém sob circunstâncias controladas o meio de cultura e os fatores físicos como a incidência de luz e temperatura, oferecendo, dessa forma, as condições propícias ao desenvolvimento do material vegetal. E o meio de cultura apresenta tamanha importância ao êxito desse processo, pois é onde se concentra os sais inorgânicos, as vitaminas, a fonte de carbono e os reguladores de crescimento que são os compostos necessários para figurar as condições naturais adequada para que as plantas micropropagadas deem as respostas esperadas (MACHADO, 2013).

Contudo, é necessário com o uso dessa técnica, realizar a otimização das condições de cultivos para cada espécie (MOURA et al., 2012). Pois, é observado que as condições consideradas ideais de cultivo, para que as culturas ou espécies possam se adaptar, se diferenciam de uma para outra, logo a produção de um protocolo não pode ser generalizado. Como afirma Hua et al., (2014), é preciso desenvolver protocolos eficientes que se adequem a diversidade genética.

Este é o caso da cultura da pitaya, em que não se tem informações suficientes a respeito da utilização da micropropagação, evidenciando dessa maneira, a necessidade de se efetuar pesquisas a seu respeito (ZÜGE, 2019). E, embora existam estudos escassos sobre a pitaya, é observado que essa técnica se mostra viável na multiplicação dessa cultura, servindo também como uma ferramenta no seu melhoramento genético (Chargas et al., 2014).

As respostas que as espécies de pitaya vem dando aos protocolos existentes, só mostra a necessidade de se conduzir protocolos específicos. Como relata Chargas et al. (2014), que os resultados *in vitro* dependem muito das espécies, logo se torna crucial fazer protocolos próprios para cada uma delas.

Então determinar o tipo de meio de cultura utilizado, bem como a quantidade dos reguladores, é importante ao ótimo desenvolvimento da planta. Segundo Souza et al., (2018), a constituição do meio de cultura, sobretudo dos reguladores de crescimento, ocasiona efeitos relevantes as respostas do explante nas suas diferentes fases do cultivo *in vitro*. Pois os reguladores de crescimento, principalmente as auxinas e a citocinas possuem um papel essencial na cultura de tecido (MORAIS et al., 2012).

#### **2.4. Reguladores de crescimento**

Hormônio vegetal é um composto orgânico produzido pelas plantas em pequenas concentrações (INAGAKI et al., 2019). E estas biomoléculas sintetizadas pelos vegetais têm como intuito estimular respostas fisiológicas, como por exemplo, indução de raízes, indução de brotos, etc (CID, 2015).

Há várias moléculas que são reconhecidas como hormônios vegetais, sendo essas moléculas as auxinas, giberelinas, citocininas, o ácido abscísico e o etileno (MELO, 2002). Além dessas moléculas produzidas naturalmente pelas plantas, existem substâncias chamadas de reguladores de crescimento que induzem respostas semelhantes à desses hormônios. Contudo, segundo Cid (2015), a divergência se deve aos hormônios que não são sintéticos, pois são gerados pelas plantas. Já os reguladores de crescimento são substâncias químicas que não são sintetizadas pelas plantas, porém possuem propriedades similares a essas (PETRI et al., 2016).

**Quadro 1.** Exemplo de reguladores de crescimento.

Classe de reguladores	Abreviatura	Nome Químico	Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> )
Auxinas	AIA	Ácido 3-indolacético	175,2
	ANA	Ácido naftalenoacético	186,2
	AIB	Ácido indolbutírico	203,2
	ApCFA	Ácido (4-clorofenoxi)acético	208,0
	Picloram	Ácido 4-amino- 3,5 ,6-tricloropico-línico	241,5
	ANOA	Ácido naftoxiacético	202,2
Citocininas	Cinetina (KIN)	6-Furfurilaminopurina	215,2
	BAP (BA)	6-Benzilaminopurina	225,2
	2iP	Isopenteniladenina	203,2
	Zeatina (ZEA)	N6-( 4-hidroxi-3-metilbut -2-enil)aminopurina	219,2
	PBA	(6-Benzilamino)-9-2-tetraidropiranyl-9H purina	300,0
	Tidiazuron	1-fenil-3-(1,2,3-tiadiazol-5-il) uréia	220,2
Giberelinas	Ácido giberélico (GA3)	2,4 <sup>a</sup> , 7-trihidroxi -1-metil-8-metilene-gib- 3 ene-1, 10-ácido carboxílico-I, 4-1actona	346,4
Ácido abscísico	ABA	Ácido abscísico	263,4
Etileno	Etileno	C2H4	28
	Ethephon, etherel*	Ácido 2-cloroetilfosfônico	144,5

\*Substrato

Fonte: Adaptado de Melo (2002).

Hawerth et al., (2016), define os reguladores de crescimento como compostos naturais ou sintéticos que sob uma baixa concentração são capazes de promover, inibir ou desencadear uma larga quantidade de processos fisiológicos no crescimento e desenvolvimento vegetal.

Os reguladores de crescimento apresentam um papel de tamanha importância na técnica da micropropagação, pois são capazes de induzir alterações comportamentais no crescimento dos tecidos vegetais. Souza et al., (2018) afirmam que os reguladores tanto os naturais quanto os sintéticos possuem ações de sinalizadores que acabam influenciando nas diferentes fases do desenvolvimento da planta.

Então os reguladores de crescimento têm um papel essencial, visto que são empregados para agir de maneira específica sobre o crescimento celular ou tecidual, isso podendo ser em virtude do seu acúmulo bioquímico específico (THIHA, 2019). Sendo assim, os reguladores de crescimento são requeridos no cultivo *in vitro* devido aos seus atos que colaboram na obtenção de respostas satisfatória pelo explante.

Segundo Cid (2015), as auxinas e as citocininas são as mais utilizadas na cultura de tecido, seja em forma natural ou sintética. Atuando a auxina no alongamento do caule, dominância apical e no enraizamento, sendo muito solicitada pelo seu desempenho na divisão celular (SOUZA et al., 2018). Por sua vez a citocinina age no processo de divisão celular, na proliferação e na morfogênese da parte aérea do tecido vegetal, é muito útil na micropropagação para regenerar plantas ou para induzir novos ramos (SOUZA et al., 2018). Ou seja, meios de cultura com a presença de auxina terá a estimulação da formação de raízes, já com a presença da citocina terá o estímulo da proliferação de brotos (MELO, 2002). Contudo, o uso da citocinina vai depender da fase de desenvolvimento que o tecido da planta se encontra e também do que se espera de produto final (THIHA, 2019).

A exemplo de auxina encontrada pode-se citar o ácido indolbutírico (AIB), ácido indol acético (AIA) e ácido naftaleno acético (ANA) (Silva, 2017). Sendo dentre as auxinas o ácido naftalenacético (ANA), a mais utilizada para induzir o crescimento das partes aéreas, o enraizamento do explante inicial e a manutenção de um caule único com dominância apical (CARVALHO et al., 2012).

A respeito das citocininas, estas são fitoreguladores que são derivadas da base nitrogenada púrica adenina, e se caracteriza por promover a divisão celular (MELO, 2002). Além de que atua na morfogênese da parte aérea e das raízes, na maturação de cloroplastos, no alongamento e na senescência celular (PIRES e MAIA, 2012). Podendo, segundo Cid (2015), agir inibindo a indução de raízes nas plântulas.

De acordo com Pires e Maia (2012), há um número grande de citocininas sintéticas sintetizadas em laboratório, através da modificação na cadeia lateral na posição N-6 da base adenina. E dentre os tipos de citocininas sintéticas

encontradas pode-se mencionar a cinetina (CIN) (6-furfurilaminopurina) e a 6-benzilaminopurina (BAP) (CID, 2015). Sendo a 6-Benzilaminopurina um dos fitoreguladores mais utilizado, pois se apresenta muito eficaz, como menciona Bezerra et al., (2014), que a sua influência é considerável sobre o crescimento e a morfogênese, permitindo a formação de bancos de germoplasma *in vitro*.

E o emprego desses reguladores de crescimento se torna mais acentuado na fruticultura, visto que é uma ferramenta fitotécnica importante que permite o aumento das áreas de cultivos, a melhoria e produtividade, bem como ajuda a sua modular as épocas de produção e colheita ou mesmo outro processo fisiológico de interesse ao aumento da resposta produtiva (Hawerroth et al., 2016).

Considerando isso, protocolos vêm sendo desenvolvidos para que se estabeleçam a cultura da pitaya *in vitro*, no entanto, as pesquisas ainda não são suficientes a esse respeito, é preciso considerar as opções para cada espécie e a influência do meio bem como dos reguladores. Como declara Chargas et al., (2014) as respostas *in vitro* dependem muito das espécies, portanto, se torna fundamental criar protocolos para cada uma delas.

Corpes e Santos (2021) alegam que no cultivo *in vitro* são utilizados diversos tipos de meios de cultura para cada finalidade a que são destinados, podendo se utilizar de reguladores de crescimento em agentes solidificantes diferentes. Sendo que os reguladores apresentam um importante papel na micropropagação. As auxinas e as citocininas agem no crescimento de plantas e nos processos relevantes ao desenvolvimento (CORPES e SANTOS, 2021). Destacando a 6-benzilaminopurina (BAP) que é uma citocinina de grande relevância na cultura de tecido.

## **2.5. BAP (6-benzilaminopurina)**

Entre as citocininas sintéticas se destacam, a cinetina (CIN) (6-furfurilaminopurina) e a 6-benzilaminopurina (BAP) (CID, 2015). Sendo que a 6-benzilaminopurina (BAP) desempenha melhores resultados (MOURA et al., 2012).

A 6-benzilaminopurina (BAP), é o regulador sintético mais predominante nas pesquisas relacionadas a propagação *in vitro*, isso devido a sua atuação

acerca da divisão celular, em que viabiliza a multiplicação de partes aéreas, assim como, permite a formação de gemas, atraso no envelhecimento foliar e também age no surgimento de novos brotos (MALTA, 2020).

As concentrações da 6-benzilaminopurina BAP ou de outros tipos de reguladores podem variar de acordo com a cultura selecionada para o cultivo *in vitro*, sendo que muitos protocolos estabelecidos para cada planta, já define a quantidade ideal dos reguladores sintéticos a partir de pesquisas que apresentaram melhores respostas, frente aquela concentração. Conforme explanam Corpes e Santos (2021), os reguladores de crescimento são cruciais ao desenvolvimento da célula, visto que é através dos seus balanceamentos que se torna possível averiguar as propensões comportamentais celulares, uma vez que os reguladores interferem de forma direta sobre a fisiologia das plantas.

Logo, otimizar um protocolo para que as respostas de plantas clonais sejam uniformes e traga mais conhecimento a respeito da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) na micropropagação, sobretudo na concentração específica da citocinina 6 -benzilaminopurina (BAP), é necessário.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) – Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS), Campus III, em Juazeiro – BA.

#### 3.1 Material Vegetal

Foram utilizados os explantes da planta da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) que se encontravam submetidos em meio de cultura dentro de tubos de ensaios na sala de crescimento do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da UNEB.

A planta da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) que foram utilizadas, adveio de sementes coletadas em Irecê/BA.

No estudo anterior, as sementes foram desinfestadas em álcool 70% (V/V) por 30 s e, em seguida, foram lavadas em água estéril por quatro vezes. Então foram introduzidas em frascos contendo 30 mL de meio MS Murashige & Skoog (1962) e vitaminas de White (1943), sendo suplementados com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g de ágar, tendo o pH ajustado para  $\pm 5,7$ .

Os frascos contendo as sementes foram mantidos na sala de crescimento com iluminação de lâmpadas de diodo emissor de luz (LED), com fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 °C, durante o tempo de 30 d. Depois desse período, as sementes que germinaram foram transferidas para tubos de ensaio com meio MS Murashige & Skoog (1962) e vitaminas de White (1943).



**Figura 3.** Tubos de ensaios contendo a pitaya (*Hylocereus costaricensis*).  
Foto: Autoria Própria (2022).

### **3.2 Esterilizações das vidrarias e preparação das soluções-estoque e dos reguladores**

Foi feita a separação das vidrarias utilizadas no experimento. Essas vidrarias separadas foram lavadas com água destilada, ensacadas e autoclavadas a 120 °C por 40 min.

Depois foi feito as soluções de estoque dos sais de Murashige e Skoog (1962) e das vitaminas de White (1943) para o meio de cultura, para tal procedimento os sais foram pesados, dissolvidos e guardados.

**Tabela 1.** Sais minerais utilizados para o preparo das soluções-estoque do meio de cultura MS (Quisen e Angelo, 2008).

Solução-estoque	Componente	Concentração
<b>Macronutrientes</b>		<b>g L<sup>-1</sup></b>
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	165,0
B	KNO <sub>3</sub>	190,0
C	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	44,0
D	MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	37,0
E	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17,0
<b>Micronutrientes</b>		
F	MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	1,690
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,620
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,860
	KI	0,083
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,025
	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0,0025
	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,0025
<b>Fe.EDTA</b>		
G	Fe.EDTA	
	Na <sub>2</sub> EDTA . 2 H <sub>2</sub> O	3,73
	FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	2,78
<b>Misturas orgânicas</b>		
H	tiamina . HCl	0,01
	ácido nicotínico	0,05
	piridoxina . HCl	0,05
I	glicina	0,2
J	mio-inositol	10,0



**Figura 4.** Soluções-estoque. Foto: Autoria Própria (2022).

### 3.3 Preparação de meio de cultura

A metodologia utilizada foi a de Navarro-Sandoval e Canales-Carrera (2021) seguida de algumas adaptações.

Sendo assim, foi empregado o meio de cultura MS (MURASHIGUE e SKOOG, 1962) acrescido de vitaminas de White (WHITE, 1943), e com adição de 3,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose com distribuição em cinco tratamentos, adicionado 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ácido naftalenoacético (ANA). E com exceção do tratamento controle (T1) os outros quatro tratamentos são acrescidos com diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP).

**Quadro 2.** Concentrações dos reguladores de crescimento.

TRATAMENTOS	BAP mg L <sup>-1</sup>	ANA mg L <sup>-1</sup>
T1	0,0	0,1
T2	0,25	0,1
T3	0,5	0,1
T4	0,75	0,1
T5	1	0,1

Fonte: Autoria própria (2022).

Cada qual tratamento foi trabalhado individualmente com uma quantidade de 500 ml. Na preparação do meio de cultura foi ajustado o pH para  $\pm 5,7$  com o uso de NaOH 0,1 N e HCl 0,1 N, adiante foi inserido 25 mL do meio de cultura nos frascos de cultivo e seguiu-se para esterilização do meio por 15 min em autoclave a 121 °C.

### 3.4 Multiplicação *in vitro*

Para o cultivo *in vitro* em meio de cultura, o explante foi cortado transversalmente no tamanho aproximado de 1 cm e em seguida feito a introdução nos frascos de cultivo. Após o procedimento, os frascos foram colocados na sala de crescimento a uma temperatura de 25 °C, com iluminação de lâmpadas de diodo emissor de luz (LED), e com fotoperíodo de 16 h.



**Figura 5.** Explante cortado. Foto: Aatoria Própria (2022).



**Figura 6.** Introdução do explante cortado. Foto: Aatoria Própria (2022).

### 3.5 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada tratamento composto de 7 repetições com 2 parcelas.

Foram realizadas 3 avaliações de 20, 40 e 60 dias após o cultivo. No fim de 60 dias de cultivo, as características avaliadas foram sobrevivência (%), necrose apical (%), oxidação (%), clorose (%), hiperidricidade (%), deformação (%), calos (%), comprimento da parte aérea (cm), raízes aéreas (%), número de raízes e brotações em que se avaliou: brotações abaixo de 1 cm, brotações entre 1 a 2 cm, brotações acima de 2 cm e número total de brotações.

Os dados foram submetidos à análise de homogeneidade pelo teste de Shapiro-Wilk e em seguida, para realizar a análise estatística foi utilizado o programa estatístico SISVAR®, versão 5.6 (FERREIRA, 2007). pelo método de análise de variância (ANOVA) seguida de análise pelo teste de *Tukey*, ambas ao nível de 5% de significância. As características avaliadas foram transformadas em percentagem por regra de três simples. E os dados oriundos de contagem foram transformados em:

$$\sqrt{x + 1}$$

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com seis dias de cultivo, foram observados (Figura 7) brotações nos explantes com  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de concentração do regulador BAP. Segundo a literatura o uso do regulador BAP mostra uma redução no tempo da resposta de crescimento em cultivo *in vitro* da pitaya (DREW E AZIMI, 2002; VIÑAS et al., 2012).

Isto acontece pois esta citocinina tem a capacidade de promover a quebra da dominância apical e da dormência das gemas laterais resultando dessa forma, na formação de novos brotos (George, 1993). No trabalho de Navarro-Sandoval e Canales-Carrera (2021) com a espécie *Hylocereus guatemalensis*, foram obtidas brotações a partir do 20º dia de experimento. Essa distinção entre ambas se deve ao fato que o uso de reguladores, sejam em conjuntos ou de forma individual, apresentam um efeito diferente nas espécies de pitaya (OJEDA-ZACARÍAS et al, 2012).

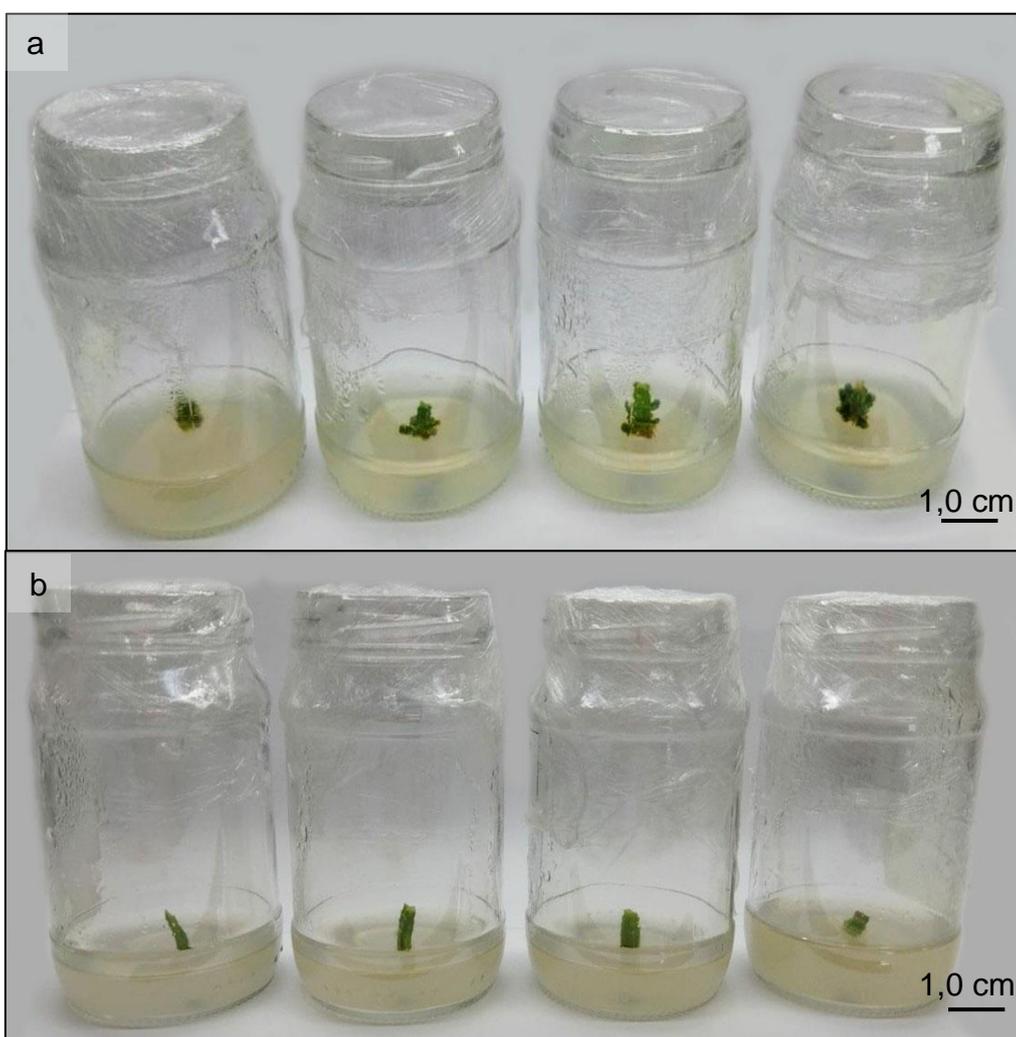


**Figura 7.** Explante apresentando brotações com 6 dias de cultivo em meio de cultura com  $1 \text{ mg/l}$  de 6-benzilaminopurina (BAP). Foto: Autoria própria (2022).

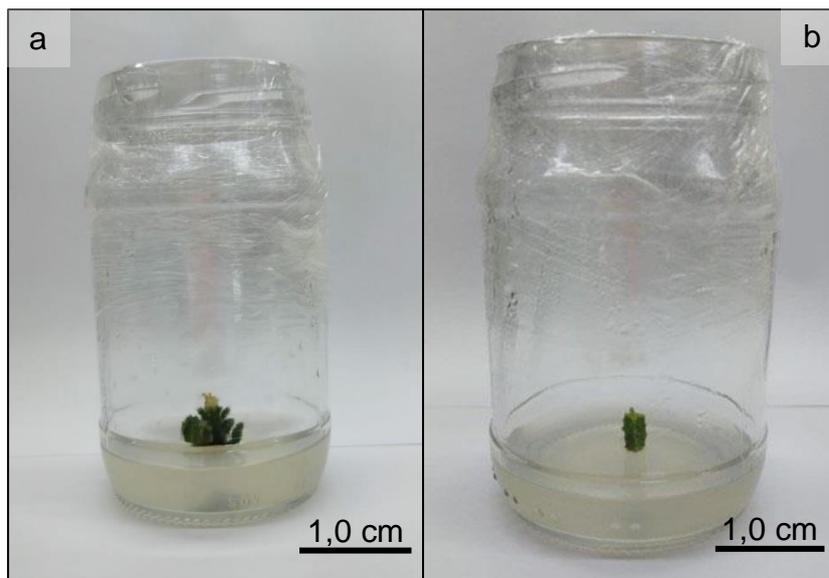
As avaliações foram realizadas a cada 20 dias, no 20º dia de experimento (Figura 8), foi notado que no tratamento 1 (controle) não apresentava formação de brotações, por sua vez no tratamento 5 ( $1 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP) tinha uma expressiva

proliferação de brotos. Os outros tratamentos também avaliados no presente estudo, mostraram o efeito da citocinina e já começavam a exibir brotações.

Com a chegada dos 40 dias de experimento, os tratamentos adicionados de BAP apresentavam-se com múltiplas brotações (Figura 9), em especial o disposto de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , além disso, foi observado formação de calos e raízes adventícias. Ratificando o que Fernandes (2010), observou que com 45 d de cultivo a planta apresentava calos e múltiplas brotações. Já o tratamento sem a influência da citocinina, embora não tenha sido expressivo na formação de brotos, mostrou-se capaz na produção de raízes basais.

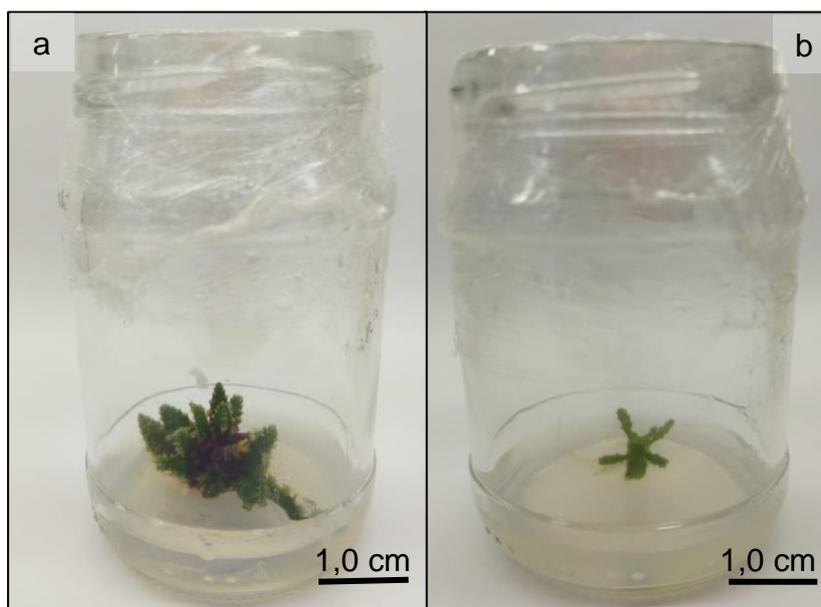


**Figura 8.** (a) Explante do tratamento 5 suplementado com  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP, apresentando múltiplas brotações com 20 dias de experimento; (b) explantes do tratamento 1 sem adição de BAP, não demonstrou formação de brotos no período de 20 dias. Foto: Autoria própria (2022).



**Figura 9.** (a) Proliferação de brotos no tratamento 5, avaliados com 40 dias de experimento; (b) pequenos indícios de brotações com 40 dias, no tratamento 1 (controle). Foto: Autoria própria (2022).

No 60° dia, pode-se constatar a diferença entre os explantes (Figura 10) que foram suplementados com o regulador BAP e o tratamento sem a citocinina, na qual é possível perceber a influência desse regulador no crescimento e desenvolvimento da planta. Segundo Fernandes (2010), o BAP tem ação no padrão de crescimento e na organogênese da planta, induzindo a multiplicação de brotos, primórdios foliares e da calogênese.



**Figura 10.** (a) Com 60 dias de experimento o tratamento 5 demonstra efeito favorável a indução de brotos, e é visto que o acréscimo da citocinina possibilitou a formação de calos; (b) Sem a presença do regulador BAP, o T1 mostrou-se capaz de produzir brotos a partir dos fitormônios endógenos, embora o tempo tenha sido tardio, e produziu também raízes basais. Foto: Autoria própria (2022).

Na tabela 2, estão expressado os resultados da análise de variância para números de brotos com 60 d de cultivo da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) *in vitro*. Pode-se observar que os resultados obtidos e comparado pelo teste de *Tukey* com 5% de significância atesta diferença nos tratamentos, somente não diferindo nos tratamentos 2 e 4.

O tratamento 3 (Figura 11) não entrou para análise estatística em virtude do seu meio de cultura que se encontrava líquido. Logo, ao longo das avaliações que foram sendo executados a cada 20 d se pode notar a interferência que o meio líquido ocasionava nas plantas, culminando além do escurecimento dos explantes, a sua baixa sobrevivência.

**Tabela 2.** Número total de brotações nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) para os tratamentos com e sem o regulador BAP.

<b>BAP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Número total de brotações</b>
0,00	1.781 c <sup>1</sup>
0,25	2.621 b
0,75	2.930 b
1,00	3.822 a
CV (%)	19,81

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{X + 1}$ , as médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste de *Tukey*, ao nível de 5% de significância.



**Figura 11.** Resultado do tratamento 3 no meio de cultura líquido. Foto: Autoria própria (2022).

Com isso, o tratamento 5 teve a maior taxa de brotações, tendo uma média de 13 brotos por explantes no período de 60 d, sendo então o mais produtivo

dentre as outras concentrações testadas, visto que para o tratamento 1 teve uma média de 2,2 brotações. Condizente com o trabalho de Ribeiro et al., (2021) para a espécie *Hylocereus undatus* em que o tratamento sem o BAP gerou na média 2,09 brotos. E notou-se ainda que com o incremento da concentração do regulador, teve um aumento linear na quantidade de brotações produzidas. Com isso no cultivo *in vitro* da *Hylocereus costaricensis* é essencial a presença do regulador BAP para a formação de brotos (VIÑAS et al., 2012).

Efeitos similares foram encontrados no trabalho de Lopes et al. (2017) ao estudar sobre as diferentes concentrações do regulador BAP no cultivo da pitaya (*Hylocereus undatus*), chegando ao resultado que 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP provoca um maior número de brotações. Ainda para outros gêneros de cactáceas Vasconcelos et al. (2007) relata, no estudo com *Nopalea cochenilifera*, e Dabekaussen et al. (1991), trabalhando com *Sulcorebutia Alba* Rausch, avaliaram que a concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> BAP foi a que apresentou maiores proliferação de brotos. Seemann et al. (2007), no trabalho de propagação *in vitro* de cactáceas, concluiu que estas reagiram satisfatoriamente na formação de brotos implementados com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

Então a proliferação de brotos que foram formados em maior concentração do BAP, é explicado pelo fato da citocinina ser capaz de aumentar a divisão celular. O que difere do tratamento sem o BAP, onde a taxa média de brotações no período de 60 d foi de 2 brotos por explantes, e pode-se considerar que a formação de brotações nesses explantes do tratamento 1 indique a existência de concentrações endógenas desse regulador para poder induzir a produção dos brotos mesmo que em poucas quantidades.

Para a variável de comprimento de brotações, foram definidos tamanhos de brotações a serem considerados, como os brotos abaixo de 1 cm, os entre 1 a 2 cm e os acima de 2 cm.

Com isso, pode ser observado na tabela 3, pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância, que os resultados referentes ao comprimento das brotações apresentaram diferença significativa, entre os tratamentos para os tamanhos abaixo de 1 cm e os entre 1 a 2 cm, porém não diferiram significativamente nos acima de 2 cm. É demonstrado que os maiores comprimentos médios de brotos se encontraram na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Por sua vez no estudo de

Zuge (2019), os explantes no meio ausente de BAP apresentaram maiores brotações.

Para esse estudo o comprimento médio entre 1 a 2 cm foi de 1,3 cm no tratamento sem o regulador, já no tratamento acrescido da citocinina foi de 2,2 cm.

**Tabela 3.** Avaliação do comprimento das brotações, que se encontra abaixo de 1 cm, entre 1 a 2 cm e acima de 2 cm nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) para os tratamentos adicionando BAP e na ausência do BAP.

<b>BAP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Brotos abaixo de 1 cm</b>	<b>Brotos de 1 a 2 cm</b>	<b>Brotos acima de 2 cm</b>
0,00	1.528 c <sup>1</sup>	1.345 c	1.000 a
0,25	2.304 b	1.454 bc	1.187 a
0,75	2.412 b	1.795 bc	1.235 a
1,00	3.138 a	2.220 a	1.332 a
CV (%)	17,98	20,25	20,29

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{X + 1}$ , as médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste de *Tukey*, ao nível de 5% de significância.

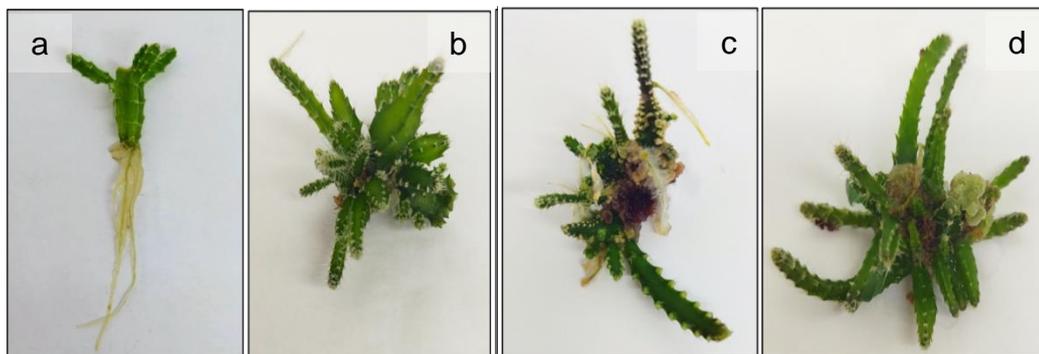
A respeito do comprimento da parte aérea não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos, conforme a Tabela 4. O tratamento 5, adicionado do regulador obteve um maior crescimento do explante, tendo uma altura média de 1,68 cm, porém a diferença com o tratamento 1 não foi relativamente grande, visto que para esse tratamento o comprimento médio foi de 1,6 cm. De acordo com Xavier et al. (2003), essa situação é justificada pelo fato de que a citocinina é capaz de estimular uma maior produção da parte aérea, mas somente até uma determinada concentração e isso pode variar segundo a espécie ou mesmo sob certas condições.

**Tabela 4.** Avaliação do comprimento da parte aérea nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) para os tratamentos sem e com o BAP.

<b>BAP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Comprimento da P. aérea</b>
0,00	1.638 a <sup>1</sup>
0,25	1.555 a
0,75	1.544 a
1,00	1.688 a
CV (%)	10,72

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{X + 1}$ , as médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste de *Tukey*, ao nível de 5% de significância.

O tratamento 1 que não teve o incremento do regulador de crescimento mostra-se distinto em comparação (Figura 12) aos outros tratamentos, em que nele é verificado a presença de raízes basais, sem formação de calos e nem de hiperidricidade.



**Figura 12.** (a) Explantes retirados dos frascos do tratamento 1, após 60 dias de cultivo é possível perceber poucas brotações e a presença de raízes com quantidade média de 2 raízes basais por explantes; (b) explantes do tratamento 2 com a presença de brotos e hiperidricidade; (c) explantes do tratamento com evidência de deformação e com calos; (d) explantes do tratamento 5, com a presença de calos, hiperidricidade, deformação e brotações com tamanho considerável. Foto: Autoria própria (2022).

Sendo assim, observou-se que os tratamentos que continham o regulador BAP sofreram interferência na formação de raízes, ou seja, os explantes que foram submetidos ao uso do regulador tiveram a formação das suas raízes afetada.

Como representado na Tabela 5, houve diferença estatística, sendo na ausência do BAP encontrado maiores abundância de raízes, fato esse também observado por Ribeiro et al. (2021), no seu trabalho com a pitaya vermelha (*Hylocereus undatus*) em que afirma que as concentrações de BAP influenciaram negativamente na formação de raízes nos explantes de pitaya, na qual foi constatado que o regulador BAP inibiu o sistema radicular basal, e que somente foi verificado maiores números de raízes na ausência do regulador de crescimento.

**Tabela 5.** Formação de raízes basais nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) para os tratamentos sem e com o BAP.

<b>BAP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Raiz</b>
0,00	1.982 a <sup>1</sup>
0,25	1.270 b
0,75	1.000 b
1,00	1.000 b
CV (%)	16,83

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{X + 1}$ , as médias seguidas por letras iguais não diferem entre si, pelo teste de *Tukey*, ao nível de 5% de significância.

Essa ocorrência, segundo Monfort et al. (2012), é porque esse regulador de crescimento causa a inibição do sistema radicular, diminuindo assim a produção de raízes, sendo que para induzir ou inibir, depende do balanço e da interação entre as substâncias endógenas e exógenas. Nesse trabalho teve a adição do ANA em todos os tratamentos, este interagiu com o BAP, porém somente no tratamento sem a citocinina foi possível observar maiores quantidade de raízes. O uso do BAP com essa auxina, dependendo da sua concentração, pode acabar inibindo o efeito deste no alongamento das células vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Os resultados para as características avaliadas nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) estão dispostos no Quadro 3, em que se avaliou o percentual do índice de sobrevivência para os tratamentos, assim como também observou se houve tendência a obter explantes necrosados, oxidados, contaminados e com clorose. Nos tratamentos analisados desse estudo, os explantes tiveram taxa de sobrevivência de 100%, isso condiz com o trabalho de Thiha (2019), que obteve o mesmo percentual de sobrevivência.

Em relação ao percentual das características de necrose, oxidação e clorose nos tratamentos, averiguou-se que T1 e T5 foram os tratamentos que não tiveram os explantes afetados. Por sua vez os tratamentos T2 e T4 apresentaram taxas de necrose, clorose e oxidação. Forero et al. (2015) no seu trabalho relata que 10% dos explantes em meio adicionado de BAP, mostraram presença de oxidação para a espécie *Hylocereus megalanthus* (pitaya amarela).

Para o percentual de clorose houve pouca variação entre esses dois tratamentos. Já a respeito de explantes contaminados pode-se perceber que o percentual verificado foi de 0 para todos os tratamentos avaliados.

**Quadro 3.** Análise qualitativa para as características de sobrevivência, necrose, oxidação, clorose e contaminação nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) para o tratamento sem e os dispostos em diferentes quantidades com o regulador BAP.

<b>Características Avaliadas</b>					
<b>BAP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Índice de sobrevivência (%)</b>	<b>Explantes necrosados (%)</b>	<b>Explantes oxidados (%)</b>	<b>Explantes clorados (%)</b>	<b>Explantes contaminados (%)</b>
0,00	100	0	0	0	0
0,25	100	20	13	7	0
0,75	100	7	7	7	0
1,00	100	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria (2022).

No Quadro 4 são disponibilizados os resultados obtidos das características avaliadas para hiperidricidade, deformação, calos e raízes aéreas. Estas últimas também chamadas de raízes adventícias são presentes na pitaya, assim como em outras cactáceas, tem origem endógena e de acordo com Lima (2013), essas raízes desempenha importante função, ajudando na fixação da planta e também na obtenção de nutrientes.

Em relação às raízes aéreas, foi confirmada a sua presença para todos os tratamentos, isso se deve ao fato, conforme explica Souza e Pereira (2007), que a presença e/ou ausência das auxinas é um fator que contribui para estimular a formação de raízes adventícias *in vitro*. Logo, se pode inferir que devido todos os tratamentos estarem acrescentado da auxina ANA a 0,1 mg L<sup>-1</sup>, pode ter favorecido ao aparecimento das raízes aéreas. Contudo a maior quantidade é relatada nos tratamentos suplementados com o BAP, e isso está relacionado a correlação entres os reguladores, na qual a concentração elevada de BAP induz a produção intensa da raiz aérea.

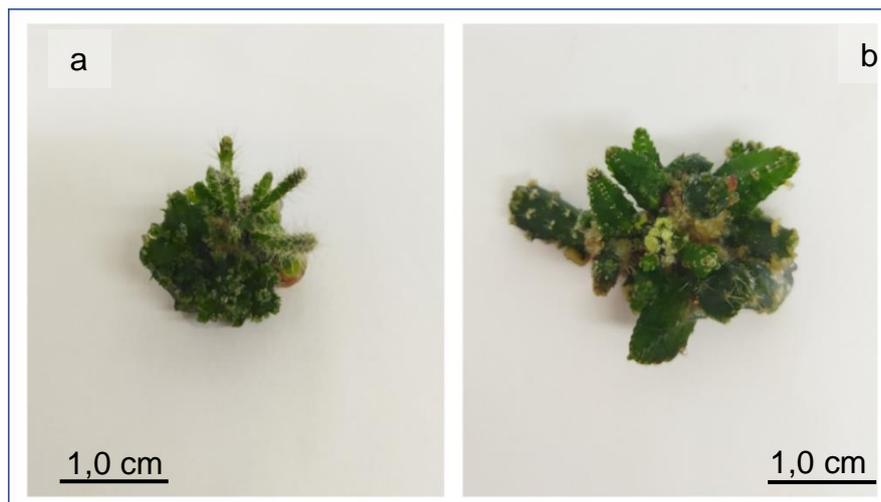
**Quadro 4.** Análise qualitativa para as características de hiperidricidade, deformação, calos e raízes aéreas nos explantes da pitaya (*Hylocereus costaricensis*) para o tratamento sem e os dispostos em diferentes quantidades com o regulador BAP.

<b>Características Avaliadas</b>				
<b>BAP (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Hiperidricidade (%)</b>	<b>Deformação (%)</b>	<b>Calos (%)</b>	<b>Raiz Aérea (%)</b>
0,00	0	0	0	13
0,25	33,3	20	20	67
0,75	33,3	40	40	67
1,00	86,7	67	67	53

Fonte: Autoria própria (2022).

Como se pode observar o percentual para hiperidricidade no tratamento com ausência do BAP foi de 0, resultado divergente para os outros tratamentos com adição da citocinina. Essa característica de hiperidricidade, presente somente nos tratamentos contendo o BAP que foram observadas, Lucas et al. (2006), no seu estudo alega que altas concentrações do BAP acaba favorecendo o desbalanceamento endógeno dos fitormônios, ocasionando assim no aumento da hiperidricidade.

O desenvolvimento de explantes afetadas pela hiperidricidade dos tratamentos disposto do regulador de crescimento, pode ser observada nesse estudo (Figura 13), no qual é visível a presença de brotações aparentadas com água e tendo um pouco de transparência, e à medida que a concentração do BAP se intensificava, mais se observava a hiperidricidade nas brotações. A evidência de hiperidricidade nos brotos também foi reparada por Pasqual e Hoshika (1992), no estudo de cultivo *in vitro* de cactos *Gymnocalidium Buldiamur L.* e *Mammillaria Bocassana L.*, em que utilizado de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP observou mais de 60% de brotações com hiperidricidade.



**Figura 13.** (a) Planta cultivada *in vitro* na presença do regulador BAP, adicionado a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  na qual apresenta um percentual de 67% de hiperidricidade; (b) planta também no tratamento 5, em que se pode visualizar a presença de brotos hiperídricos. Foto: Autoria própria (2022).

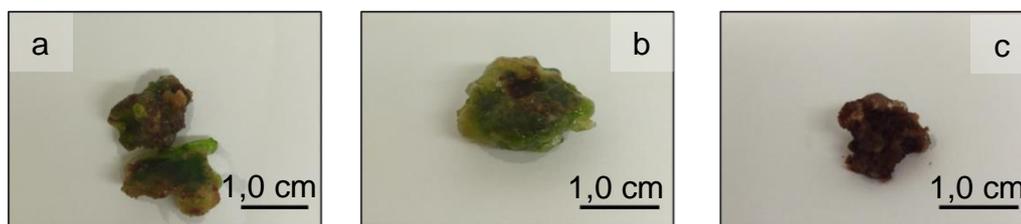
Além disso, a presença de deformação e formação de calos se deu em maior percentual para o tratamento contendo a concentração do BAP mais elevado. A utilização desse regulador em grande quantidade pode ser tóxica (LESHEM et al., 1988). Ocasionalmente dessa maneira a deformação dos explantes (figura 16) devido as respostas que são desenvolvidas ao lidarem com elevadas concentrações do BAP. Sendo assim, Oliveira et al. (2019) afirma que embora o uso desse regulador seja importante para estimular a multiplicação da parte aérea, o seu excesso pode ter efeito desfavorável na organogênese da planta.



**Figura 14.** (a) Demonstração das plantas deformadas em virtude da alta concentração do BAP; (b) planta contendo todas as suas brotações com deformidade. Foto: Autoria própria (2022).

O surgimento de calos, observado nesse trabalho (Figura 15), foi verificado também no trabalho de Gonçalves et al. (2020), com pitaya (*Hylocereus undatus*)

em que foi notado aumento no número de calos de acordo com aumento da concentração do BAP. Conforme Santos (1998) explica, é por meio do efeito sinérgico entre a alta concentração da citocinina e as auxinas endógenas que dificulta a produção de brotações e por outro lado induz o surgimento de calos.



**Figura 15.** (a) Calos oriundo do tratamento 2, em que continha  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP; (b) Formação de calos surgiu no tratamento 4 que está disposto de  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP; (c) calos formados no tratamento 5. Foto: Autoria própria (2022).

A presença de calos nos meios com essa citocina é relatada por Viñas et al. (2012) no seu trabalho de propagação *in vitro* da pitaya (*Hylocereus costaricensis*). Como bem observado, os calos formados é um efeito resultante da citocinina, uma vez que se aumenta a concentração desse regulador, se tem averiguado uma maior incidência de produção de calos, sendo essa situação ocasionada pelo desbalanceamento dos hormônios vegetais. Como afirma Cordeiro et al. (2004), a formação de calor ocorre em virtude do desequilíbrio nas taxas endógenas de fitormônio.

Diante desses resultados não foi possível observar um tratamento que fosse melhor, considerando as características avaliadas, pois as respostas ao uso da citocinina favoreceu determinadas variáveis que são desejadas, porém acabou induzindo efeitos considerados negativos.

O meio de cultura sem adição de BAP teve um desempenho adequado e segundo Silva (2011), considerar esse tratamento a depender do intuito dessa pesquisa, pode possibilitar redução de custo através da produção por propagação *in vitro*.

Logo, fica a necessidade de se testar outras citocinas no meio de cultura para a espécie *Hylocereus costaricensis*, visto que esta não respondeu bem a presença do regulador BAP.

## 5. CONCLUSÃO

Com esse trabalho pode-se concluir que na proliferação *in vitro* da pitaya (*Hylocereus costaricensis*), melhores índices de brotações, bem como de comprimento da parte aérea e formação de raízes adventícias ocorreram no meio de cultura acrescido de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  do regulador BAP.

Entretanto, a adição da 6-benzilaminopurina no meio de cultura ocasionou respostas não satisfatórias aos explantes da pitaya, que culminou na formação de calos, deformações nos brotos e favoreceu a presença de hiperidricidade.

Sem adição do regulador BAP no meio de cultura não foram observadas características desfavoráveis e ainda houve formação de raízes basais, e produção de brotos, embora o tempo de brotações tenha sido tardio, alcançando esse efeito a partir do 20º dia de experimento.

## REFERÊNCIAS

- BEZERRA, R. M. de F. et al. efeito de 6-benzilaminopurina sobre a propagação *in vitro* de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Fabaceae). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.38, n.5, p.771-778, 2014.
- BOZKURT, T.; INAN, S.; DUNDAR, I. **Micropropagation Of Different Pitaya Varieties**. International Journal Of Agricultural And Natural Sciences, 13(1), 39–46, 2020.
- BRAND, Valéria Bussolo. **Design e agricultura: Desenvolvimento de um kit para auxílio no cultivo de pitaya**. Monografia - Universidade Federal de Santa Catarina, 2021.
- BRITTON N.L., ROSE J.N., **Descriptions and illustrations of plants of the cactus Family**, Vol. I and II, Dover Publ., Inc., New York, USA, p. 183-195, 1963.
- CARVALHO, A. C. P. P. de; RODRIGUES, A. A. de J.; SANTOS, E. de O. **Produção de mudas micropropagadas de bananeira**. Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.
- CHARGAS, E. A. et al. **Pitaya**. Acre: Embrapa, 2014.
- CID, L. P. B. **Cultivo in vitro de plantas**. 4. ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2015. E-book.
- CORDEIRO, I. M. C. C.; LAMEIRA, O. A.; OHASHI, S.T.; ROSAL, L. F. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá). **Cerne**, 2004.
- CORPES, R. S.; SANTOS, A. S. Influência dos Reguladores de Crescimento 2,4-D e BAP associados aos agentes solidificantes Ágar e Phytigel na Indução de calos de *Crinum americanum* L. (*Amaryllidaceae*). **Research, Society And Development**, 2021.
- CORREIA, D. et al. **Germinação de sementes e tipos de explante na propagação in vitro da Pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*)**. Embrapa, 2017.
- CRISTOFOLI, N. L. et al. **Pitaia (*H. Costaricensis*): Um fruto com características atrativas para a indústria de processamento**. Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2015.
- DABEKAUSSEN, M. A. A.; Pierik, R. L. M.; Van Der Laken, J. D. Factors affecting areole activation *in vitro* in the cactus. **Scientia Horticulturae** 46:283–294, 1991.
- DIAS, P. S. M. **Composição centesimal, atividade antioxidante, teor de compostos fenólicos e ecotoxicidade da polpa de frutos de pitaia branca (*Hylocereus undatus*) e pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*)**. Monografia - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia, 2016.

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

FERNANDES, E. F. R. et al. **Efeitos de diferentes substratos no crescimento da pitaya (*Hylocereus costaricensis*)**. Anais I CONIMAS e III CONIDIS. Realize Editora, 2019.

FERNANDES, K. R. G. **Influência de 6-benzilaminopurina na morfogênese *in vitro* e na ocorrência de hiperidricidade no porta-enxerto 'vr 043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*)**. 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Controle da maturação e senescência em órgãos perecíveis; Fisiologia molecular de plantas superiores) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.

FORERO, C. J. Z. et al. **Growth regulators assessment for *in vitro* propagation of *Hylocereus megalanthus* (Yellow dragon fruit)**. Revista Tumbaga, V. 1, N. 10, 2015.

GALVÃO, E. C. et al. Substratos e ácido indol-3-butírico na produção de mudas de pitaya vermelha de polpa branca. **Revista CERES**, 63(6), 860–867, 2016.

GEORGE, E. F. Plant propagation by tissue cultura. Part 1. 2 ed. Edington: **Exegetics**. 574 p, 1993.

GONÇALVES, M. J. et al. Rápida produção de mudas de pitaya (*Hylocereus undatus*, *Cactaceae*) por meio da técnica da micropropagação. **Acta Biológica Catarinense**, 2020.

HAWERROTH, F. J. et al. Reguladores de crescimento, importância, perspectivas e utilização. **Embrapa Uva e Vinho**, 2016.

HUA, Q. et al. A protocol for rapid *in vitro* propagation of genetically diverse pitaya. China: **Plant Cell Tiss Organ Cult**, 2014.

IBGE - Censo Agro 2017. **Cartograma - Pitaia do Brasil por Quantidade produzida**. Disponível em: <[https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo\\_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76371](https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76371)>. Acesso em: 21 de mar. de 2022.

INAGAKI, C. H. et al. Efeito do regulador de crescimento vegetal na germinação e desenvolvimento da cultura do trigo. **SEAGRO**, 2019.

JIANG, Y. L. et al. The Photoperiod-regulated Bud Formation of Red Pitaya (*Hylocereus* sp.). **Hortscience**, 2012.

LESHEM, B.; WERKER, E. e SHALEV, D. P. The Effect of Cytokinins on Vitrification in Melon and Carnation. **Annals of Botany**, 62(3), 271–276, 1988.

LIMA, C. A. de. **Caracterização, propagação e melhoramento genético de pitaya comercial e nativa do cerrado**. 2013. 124 f. Tese (Doutorado em

Agronomia). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília. 2013.

LONE, A. B. et al. Temperatura na germinação de sementes de genótipos de pitaya. Semina: **Ciencias Agrarias**, Londrina, v. 35, n. 4, suplemento, p. 2251-2258, 2014.

LOPES, C. A. et al. Propagação *in vitro* de pitaia vermelha. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, 2017.

LOUREIRO, J. P. B. et al. Comparação de sistemas de produção de pitaya (*Hylocereus costaricensis*) com diferentes níveis tecnológicos na Amazônia brasileira. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, 2021.

LUCAS, M. A. K.; SAMPAIO, N. V.; PEREIRA, D. D. et al. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira Paulsen 1103 com benzilaminopurina e ácido indolbutírico. **Plant Cell & Micropropagation**, v.2, n. 1, p. 29-34, 2006.

MACHADO, M. F. P. S. Biotecnologia vegetal. In: PAMPHILE, J. A; VICENTINI, V. E. P. (Orgs.). Biotecnologia. Maringá: **Eduem**, 2013. Cap.11, p.75-79.

MAHMUD, N. H. et al. Effect of Plant Growth Regulators, Basal Media Strength and Carbon Sources on *Hylocereus Costaricensis* (Red Dragon Fruit) Seed Germination. **Eurasian Journal Of Science & Engineering**, 2021.

MALTA, O. T. **Efeito da benzilaminopurina (Bap) sobre a composição química e as características morfofisiológicas da *Aloe vera* L. *In Vitro***. Dissertação Faculdade Maria Milza, 2020.

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

MELO, N. F. de. Introdução aos Hormônios e Reguladores de Crescimento Vegetal. **Embrapa Semiárido**, 2002.

MENEZES, T. P. et al. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha, *Hylocereus undatus haw*. **Bioscience Journal**, 2012.

MERCADO-SILVA, E. **Pitaya— *Hylocereus undatus* (Haw)**. In: Frutas Exóticas. Imprensa Acadêmica, pág. 339-349. 2018

MIZRAHI, Y.; NERD, A.; NOBEL, P. S. **Cacti as crops. Horticultural Review**, New York, v. 18, p. 291–320, 1997.

MONFORT, L. E. F. et al. Efeito do BAP no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** , 14 (3), 458–463, 2012.

MORAIS, T.P. et al. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.1, p.110-121, 2012.

MOURA, L. C. et al. Micropropagação de sucupirapreta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised médium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures.** *Physiologia plantarum*, v. 15, n. 3, p.473-497, 1962.

NAVARRO-SANDOVAL, B. G.; CANALES-CARRERA, E. E. Efecto de diferentes concentraciones de benzilaminopurina (BAP) sobre el establecimiento *in vitro* de pitahaya (*Hylocereus guatemalensis*). **Revista de Innovación y Transferencia Productiva - Ritp**, 2021.

NEPOMOCENO, T. A. R. et al. O cultivo e a comercialização de pitaya (*Hylocereus* Sp.) no Brasil, com enfoque no estado do Paraná. **Seagro**, 2019.

NETO, S. P. S; ANDRADE, S. R. M. Cultura de tecidos vegetais: princípios e aplicações. In: COSTA, A. M. et. Al. (orgs.). Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. **Embrapa**, 2011. Cap.14, p.411-427.

NUNES, E. N. et al., Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. *Gaia Scientia*, 2014.

OJEDA-ZACARIAS, M. D. C. et al. Micropropagation de pitahaya, *Hylocereus* (HAWORTH). *Revista Salud Pública y Nutrición*, 4, 119-128, 2012).

OLIVEIRA, L. M. et al. Salt stress and organic fertilization on the growth and biochemical metabolism of *Hylocereus costaricensis* (red pitaya) seedlings. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 84, e258476, 2022.

OLIVEIRA, K. S. et al. Influência de reguladores de crescimento e do tipo de explante na morfogênese *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes. *Revista Desafios*, 4 (6), 2019.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. Mexico: **Comunicats Scientiae**, 2012.

PAGLIACCIA, D.; VIDALAKIS, G.; DOUHAN, G. W. Genetic characterization of pitahaya accessions based on amplified fragment length polymorphism analysis. *Eua: Hortscience*, 2015.

PASQUAL, M.; HOSHIKA, E. Efeitos do ácido naftalenoacético e 6-benzilaminopurina sobre a proliferação *in vitro* de cactos *Gymnocalycium buldianum* L. e *Mammillaria bocassana* L. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 4, p. 589-593, 1992.

PEDROTTI, R. L.; SILVA, N. M.; BENEMANN, D. P. **Influência do ácido indolbutírico no meio de cultura para enraizamento *in vitro* de *Gypsophila paniculata***. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2019.

PETRI, J. L. et al. Reguladores de crescimento para frutíferas de clima temperado. Florianópolis: **Epagri**, 2016, 141p.

PIRES, E. J. P. e MAIA, J. D. G. Uso de reguladores vegetais na videira Niágara. **Embrapa**, cap13-p275-284, 2012.

POLLNOW, G. E. Pitaia, da propagação à colheita: uma revisão. Florianópolis: **Agropecuária Catarinense**, 2018.

QUERUBIM, L. F.; VOSS, S. C.; BERTONCELLO, A. G. Pitaya: a evolução do cultivo no cenário prudentino e as possibilidades desse plantio no município de presidente prudente. São Paulo: **Anais Sintagro**, 2019.

QUISEN, R. C. e ANGELO, P. C. da S. Manual de Procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental. **Embrapa Amazônia Ocidental Manaus**, AM, 2008.

RAHIMI, P. et al. Betalains, the nature-inspired pigments, in health and diseases. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, 2018.

RAMADAN, V. R. et al. Kajian Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Buah Naga (*Hylocereus Costaricensis*). **Jurnal Produksi Tanaman**, vol. 4, no. 3, 2016.

RIBEIRO, C. H. M. et al. Atuação do bap no enraizamento *in vitro* de explantes de pitaya vermelha (*Hylocereus undatus*). Minas Gerais: Revista Científica Rural, 2021.

SANTANA, F. M. DE S. **Adubação nitrogenada e potássica no cultivo irrigado de pitaya vermelha (*Hylocereus sp.*), sob condições tropicais**. Tese - Universidade Federal do Ceará, 2019.

SANTOS, M. R. A. **Germinação, calogenese e caracterização e saponina em *Smilax japecanga* Grisebach**. 1998. 81p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, 1998.

SATO, S. T. A. et al. Caracterização física e físico-química de pitayas vermelhas (*Hylocereus Costaricensis*) produzidas em três municípios paraenses. **Journal Of Bioenergy And Food Science**, 2014.

SEEMANN, P. et al. Cultivo *in vitro* de cactáceas con fines de conservación ex situ. **Agro Sur** 35 (2): 24-26 2007.

SHENG, W. K. W. et al. Effects of plant growth regulators on seed germination and callus induction of *Hylocereus costaricensis*. Malaysia: **Pak. J. Bot.**, 2016.

SILVA, A. de C. C. da. **Pitaya: melhoramento e produção de mudas**. 2014. vi, 132 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014.

SILVA, J. P. G. dos S. et al. Efeito da citocinina 6-benzilaminopurina (bap) sobre o estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Rosa sp.* Pará: **Agroecossistemas**, V. 9, N. 2, P. 370 – 380, 2017.

SILVA, S. M. G. da. **Reguladores vegetais no desenvolvimento *in vitro* de bromélia (*Aechmea blanchetiana*)**. 2011. x, 56 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2011.

SOUSA, E. M. P. de. **Extração, estabilidade, reologia e higroscopicidade do corante de pitaya (*Hylocereus costaricensis*)**. tese - Universidade Federal do Pará, 2015.

SOUSA, E. M. P. et al. Comportamento reológico do corante de pitaya (*Hylocereus costaricensis*). **Galoá Proceedings**, 2019.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. **Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro***. Botucatu: Rev. Bras. Pl. Med., 2007.

SOUZA, J. C.; RESCAROLLI, C. L. S.; NUNEZ, C. V. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. **Revista Fitos.**, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

THIHA, S. **Effects of explants and growth regulators on *in vitro* regeneration of dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haworth)**. Myanmar: Yezin Agricultural University, 2019.

TRIVELLINI, A. et al. Pitaya, an Attractive Alternative Crop for Mediterranean Region. **Agronomy**, 2020.

VASCONCELOS, A. et al. Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochenillifera* - Salm Dyck). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 2, n. 1, p. 28-31, 2007.

VIÑAS, M., FERNÁNDEZ-BRENES, M., AZOFEIFA, A. e JIMÉNEZ, V. M. *In vitro* propagation of purple pitahaya (*Hylocereus Costaricensis* [F.A.C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**. 48: 469-477, 2012.

WHITE, P. R. **Nutrient deficiency studies and in improved inorganic nutriente for cultivation of excised tomato roots**. Growth., v. 7, p. 53-65, 1943.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação Vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Árvore**, v.27, p.351-356, 2003.

XI, X.; ZONG, Y.; LI, S.; CAO, D.; SUN, X. e LIU, B. (2019). A análise do transcriptoma esclareceu os genes envolvidos na biossíntese de betalaína no fruto da pitaya vermelha (*Hylocereus costaricensis*). **Molecules** (Basileia, Suíça), 24 (3), 445.

ZÜGE, P. G. U. **Produção de Mudras de Pitaya Através da Micropropagação**. Dissertação – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.