



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA – UNEB

Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais – Campus III

FERNANDA ÉRIKA OKUBO

DIFERENTES POSIÇÕES DE EXPLANTES NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*)

JUAZEIRO - BA

2022

FERNANDA ÉRIKA OKUBO

**DIFERENTES POSIÇÕES DE EXPLANTES NA MULTIPLICAÇÃO *IN*
VITRO DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*)**

Monografia apresentada ao Colegiado de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade do Estado da Bahia – UNEB – Campus III, como requisito parcial para avaliação do Trabalho de Conclusão do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Lopes da Silva

Juazeiro - BA

Julho – 2022

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

O41d Okubo, Fernanda Érika

Diferentes posições de explantes na multiplicação in vitro de pitaya
(*Hylocereus costaricensis*) / Fernanda Érika Okubo. Juazeiro-BA, 2022.

36 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. Micropropagação – Pitaya. I. Silva, André Luís Lopes da. II. Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais. III. Título.

CDD: 664.8

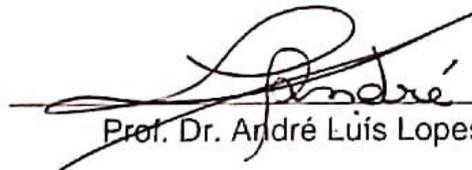
FERNANDA ÉRIKA OKUBO

DIFERENTES POSIÇÕES DE EXPLANTES NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO*
DE PITAYA (*Hylocereus costaricensis*)

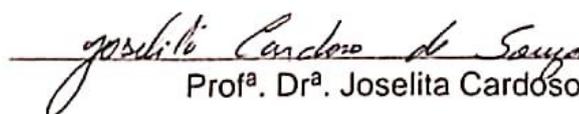
Trabalho de conclusão de curso submetido à
Universidade do Estado da Bahia como parte
dos requisitos necessários para a obtenção do
Grau de Bacharel em Engenharia de
Bioprocessos e Biotecnologia.

Aprovado em: 12/07/22

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. André Luís Lopes da Silva (Orientador)
Universidade do Estado da Bahia – UNEB



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



Prof. Dr. Ruy Carvalho Rocha
Universidade do Estado da Bahia – UNEB

Juazeiro – BA

2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pela vida, por estar sempre presente e me dar forças, fé, saúde, sabedoria e por colocar pessoas tão boas e maravilhosas nos meus caminhos;

Tenho muito a agradecer aos meus pais, pelo apoio incondicional em toda a minha vida, por ter permitido as oportunidades de estudo e por nunca duvidar da minha capacidade;

A meus irmãos Bianca, Sayuri e Masashi pela companhia e suporte;

A minha querida amiga Liézely Santos a quem sempre pude contar a todo o momento da Universidade, e pela longa parceria e dedicação;

A Lorena e Luany que também foram importantíssimas nesse trajeto e que foram as melhores companhias;

Aos meus colegas de turma Marianna, Géssica, Jefferson, Sophia, Gabriel e Maria Clara, os quais tive o prazer de estudar junto;

A todos os meus professores, em destaque o meu professor orientador André Lopes que admiro muito e sou grata pela disponibilidade;

A professora Joselita Cardoso pela paciência, ensinamentos, bondade, pela ajuda e por tudo;

A Amanda e Alessandro aos quais passamos bons momentos dentro do laboratório e sempre tiveram paciência de ensinar;

A minha tia Julia e meu falecido tio Mário, que com toda a boa vontade disponibilizaram seu apartamento para moradia e que sempre ajudaram a minha família;

Aos meus amigos do grupo de Taiko que foram importantíssimos para minha formação de caráter, união e empatia;

A todos os servidores públicos da UNEB, em especial a Jocasta por toda a ajuda e disponibilidade no laboratório;

E agradeço a todos que direta ou indiretamente colaboraram para minha formação

Muito obrigada!

RESUMO

A pitaya é considerada uma fruta exótica e de alto valor agregado. No Brasil, seu comércio tende a crescer e se popularizar. Em vista disso, a técnica de micropropagação pode auxiliar na obtenção de mudas rápidas, uniformes e com excelente qualidade. Porém, ainda há poucos estudos que visam estabelecer um protocolo para a pitaya da polpa vermelha (*Hylocereus costaricensis*), sendo assim, este trabalho teve o objetivo de buscar qual o melhor posicionamento do explante no meio de cultura, e a porção do segmento caulinar que apresenta melhor resposta. A metodologia foi feita com cinco tratamentos, (1) com a porção apical, (2) com a porção basal, e os demais sendo com a porção mediana do cladódio com diferentes orientações no meio: (3) vertical, (4) horizontal e (5) horizontal segmentada na metade. A análise estatística aponta diferenças entre quatro variáveis analisadas. A quantidade de brotos entre os tratamentos só diferiu aos 20 dias de cultivo, entretanto, foi possível comparar a distribuição do comprimento das brotações por tratamento (%).

Palavras-chave: fruta do dragão; cultivo *in vitro*; micropropagação.

ABSTRACT

Pitaya (Dragon-fruit) is considered an exotic fruit with high added value. In Brazil, its trade tends to grow and become popular. Therefore, the micropropagation technique can help to obtain seedlings quickly, uniform and with excellent quality. However, there are still few studies aiming to establish a protocol for the red pulp pitaya (*Hylocereus costaricensis*). Thus, this work aimed to find the best positioning of the explant in culture medium, and the portion of the stem segment that presents the best response. The methodology was done with five treatments, (1) with the apical portion, (2) with the basal portion, and the others with the median part of the cladode with different orientations in the medium: (3) vertical, (4) horizontal and (5) horizontal segmented in half. The statistical analysis points out differences between four analyzed variables. The number of shoots between treatments only differed at 20 days of cultivation, however, it was possible to compare the distribution of shoot length per treatment (%).

Keywords: dragon-fruit; *in vitro* cultivation; micropropagation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fonte de explantes estabelecido no laboratório. Fonte: autor. 19
- Figura 2.** Solução do meio de cultura com água DDA, estoques e PGRs em agitação no agitador magnético. Fonte: autor. 21
- Figura 3.** Um explante representando cada tratamento. T1: porção mediana do explante na direção vertical; T2: porção mediana na direção horizontal; T3: porção mediana particionada na direção horizontal; T4: porção apical; T5: porção basal. Fonte: autor. 22
- Figura 4.** Explantes incubados na sala de crescimento de forma casualizada. Fonte: autor. 23
- Figura 5.** Explante do Tratamento 3 oxidado na parte seccionada ao 13 dia de cultivo. Fonte: autor. 25
- Figura 6.** Explante do tratamento da porção basal com formação de calo. Barra = 1 cm. Fonte: autor. 26
- Figura 7.** Explantes com hiperidricidade nos respectivos tratamentos. Barra = 1 cm. Fonte: autor. 27
- Figura 8.** Foto representativa de explantes com diferentes comprimentos de brotos. (A) Brotos menores que 1 cm; (B) brotos entre 1 e 2 cm; (C) brotos maiores que 2 cm. Barra = 1 cm. Fonte: autor. 29

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Porcentagem de oxidação, clorose, necrose, calos e hiperidricidade oriundo da contagem de presença ou ausência em cada tratamento ao final de 60 dias. Universidade do Estado da Bahia, 2022..... 25
- Tabela 2** - Diferenças entre os tratamentos aos 60 dias de cultivo da *Hylocereus costaricensis* apresentando variáveis quantitativas. Universidade do Estado da Bahia, 2022. 28
- Tabela 3** - Média das brotações em 20, 40 e 60 dias nos cinco tratamentos. Universidade do Estado da Bahia, 2022. 29
- Tabela 4** - Distribuição do comprimento das brotações por tratamento (%). Universidade do Estado da Bahia, 2022. 30

LISTA DE ABREVIATURAS

CAM - Metabolismo ácido das crassuláceas

PGR – Regulador de crescimento vegetal

TDZ - Thidiazuron

ANA - Ácido α -naftaleno acético

BAP – 6-benzilaminopurina

IVG - Índice de velocidade de germinação

NaClO - Hipoclorito de sódio

DDA – Água destilada, deionizada e autoclavada

DIC - Delineamento experimental inteiramente casualizado

MS - Meio Murashigue e Skoog

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Pitaya	14
2.2 Cultura de tecidos <i>in vitro</i> e micropropagação de cactos	15
2.3 Estudos anteriores semelhantes	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Material vegetal	19
3.2 Preparo de estoques concentrados	20
3.3 Preparo do meio de cultura	20
3.4 Disposição dos explantes no meio de cultura	21
3.5 Coleta de dados	23
3.6 Análise estatística	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A pitaya, também conhecida como fruta-do-dragão ou pitahaya, está incluída na família botânica Cactaceae, e só o gênero *Hylocereus* envolve 16 espécies endêmicas da América Latina (LE BELLEC et al., 2006).

Os cactos que produzem frutos comestíveis pertencem aos gêneros *Hylocereus* e *Selenicereus*, divididos quanto a disposição do caule, podendo ser trepadeira ou colunar (CRANE e BALERDI, 2004; GUNASENA et al., 2007).

A espécie *Hylocereus* possui caule longo e moderadamente suculento, além de estar entre os mais importantes da família das cactáceas pela sua fruta comestível, a qual pode variar de pequena a grande, chegando a pesar 800 g a depender da espécie (TEL ZUR, 2013; CASAS e BARBERA, 2002; MAUSETH, 2006; LICHTENZVEIG et al., 2000).

As pitayas encontradas à venda são das espécies da *S. megalanthus* (Schum.) Britt & Rose (1963), de casca amarela e polpa branca, e *Hylocereus spp.* Britt & Rose (1963), de casca vermelha e polpa com coloração vermelha ou branca (LE BELLEC et al., 2006).

No Brasil existem espécies nativas como *Selenicereus setaceus*, porém, ainda são poucas as áreas de cultivo de pitaya, às vezes sendo necessária a importação dos frutos, o que faz com que este seja comercializada com alto valor agregado, e, conseqüentemente, pouco acessível para a população no geral (NUNES et al., 2014; FALEIRO e JUNQUEIRA, 2021).

Atualmente as mudas são propagadas principalmente por estaquia e enxertia, além das sementes (SILVA, 2014). Porém, para que a pitaya possa atingir vários mercados e maiores produções, a micropropagação representa uma técnica eficaz que produz propágulos livres de patógenos, de rápida produção, em menor espaço físico e menor tempo para iniciação de brotos, conseguindo assim, gerar produções uniformes de mudas com características desejadas e com excelente qualidade (ZUGE, 2019; CID e TEIXEIRA, 2014).

Os estudos sobre a pitaya *Hylocereus costaricensis in vitro* dispostos em diferentes posições e diferentes porções do cladódio são escassos e de longa data. Há estudos complementares sobre outras espécies de pitaya na cultura de tecidos, principalmente *Hylocereus undatus* (MENEZES et al., 2012; MOHAMED-

YASSEEN, 2002), no qual fora baseado o protocolo para o preparo do meio de cultura deste trabalho.

Levando-se em consideração o fato de tratarem de espécies diferentes, é possível que haja variabilidade entre o crescimento, de acordo com as diferenças genéticas que existem dentro do mesmo gênero. Por esse motivo, faz-se necessário testar protocolos relativos à multiplicação com o propósito de encontrar respostas alternativas, que consigam aprimorar o que já se conhece na bibliografia, trazendo resultados que possam contribuir para o cultivo mais rápido, produtivo e barato.

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi observar qual o melhor posicionamento ou qual a melhor porção do explante para se obter uma eficiente taxa de multiplicação *in vitro* da pitaya. Para isso, o presente estudo visou testar, observar e comparar as posições de explante no meio de cultura na direção horizontal e vertical, bem como o efeito da porção apical, basal, e o segmento caulinar cortado longitudinalmente disposto na direção horizontal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pitaya

A família das cactáceas pertencem a ordem Caryophyllales, que é subdividida em quatro subfamílias: A Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae e Cactoideae, sendo a última a com maior biodiversidade e representatividade no país (NOBEL, 2002; ZAPPI et al., 2011; MAUSETH, 2006).

A subfamília Cactoideae representa sete tribos: Cacteeae, Cereeae, Echinocereae, Hylocereeae, Notocacteeae, Rhipsalideae e Trichocereae (BÁRCENAS et al., 2011). Na tribo Hylocereeae são compreendidos os gêneros *Selenicereus*, *Epiphyllum*, *Discotactus*, *Hylocereus*, entre outras (RUIZ-DOMÍNGUEZ et al., 2019)

As espécies do gênero *Hylocereus* mais cultivadas são a *H. undatus*, *H. monacanthus*, *H. megalanthus* e *H. costaricensis* (BAUER, 2003; TEL ZUR, 2013; BALENDRES e BENGUA, 2019). O seu metabolismo é adaptado à pouca disponibilidade de água, em razão ao metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), sendo a sua planta um atrativo em regiões de ambiente árido e semiárido (NERD et al., 2002; NOBEL, 2002).

A *Hylocereus costaricensis* é nativa da América, (GUNASENA et al., 2007), de natureza epífita ou hemiepífita (BARDEAU, 1990), e pode ser encontrada em regiões de climas tropicais, subtropicais, áridos e semiáridos (SHENG et al., 2016). O caule chamado de cladódio possui três hastes angulares, as flores são brancas, noturnas e com muita fragrância (GUNASENA et al., 2007). O seu fruto possui a casca avermelhada-rosa e a polpa vermelha-púrpura (NUNES et al., 2014), contém elevados níveis nutricionais que promovem a saúde do ser humano reduzindo o colesterol e o diabetes, controlando a pressão arterial, e aumentando a saúde bucal. A fruta possui altos teores de sódio, vitamina A, potássio e teores de sólidos totais em até 16,6%, além de ser fonte de prebióticos e antioxidantes. (SHENG et al., 2016; MARTINEZ et al., 1996; NERD et al., 1999; TEL ZUR, 2013; WICHENCHOT et al., 2010; TELENORE et al., 2012).

A produção mundial total de pitaya é de cerca de um milhão de toneladas, e o cultivo do fruto pode oferecer alto retorno financeiro, sendo que muitos países a utilizam para exportação, como Colômbia, Equador, Israel, Vietnã, sendo os

Estados Unidos o principal importador e a Europa a principal região que importa esses frutos (BALENDRES e BENGOA, 2019; MERCADO-SILVA, 2018).

A sua propagação geralmente é feita por meio de estaquia, entretanto, a propagação vegetativa pode ser melhorada utilizando de ferramentas biotecnológicas como a cultura *in vitro*, por meio do qual é possível obter uma grande quantidade de clones em curtos períodos de tempo, com boa qualidade genética, sanitária e fisiológica (SILVA, 2014; RUBLUO et al., 1993; LIMA, 2013).

2.2 Cultura de tecidos *in vitro* e micropropagação de cactos

A propagação de cactos nativos geralmente é feita por sementes ou brotos enraizados, no entanto, esses métodos convencionais são inadequados para espécies que apresentam sementes dormentes ou com baixas taxas de germinação, crescimento lento, autoesterilidade, ou que necessitam de muitos anos para amadurecer (CLAYTON et al., 1990).

Os cactos também são sensíveis a estresse ambiental advinda de algumas espécies de insetos e de animais que se alimentam deles, bem como a algumas ameaças à biodiversidade das plantas, como a atividade antrópica com o uso de herbicidas e pesticidas na agricultura, urbanização, construção de barragens, de estradas e de minas (ZIMMERMANN e GRANATA, 2002; LEMMA-RUMINSKA e KULOS, 2014).

Tendo em vista a dificuldade e desafios que essa planta enfrenta, a cultura de tecidos vegetais é um campo importante para culturas com taxa de crescimento lento. Na micropropagação de espécies de cactos, podem ser utilizadas porções vegetais, realizada por meio de técnicas conhecidas e praticadas de ativação de gemas axilares, regeneração por embriogênese somática e brotações adventícias (LEMMA-RUMINSKA e KULUS, 2014). É um método eficiente quando se pretende conservar *ex situ* determinada diversidade genética, possibilitando a multiplicação de plantas ameaçadas, e quando se pretende produzir comercialmente espécies de importância econômica (SILVA et al., 2011; FLORES et al., 2013).

A micropropagação é um método de emprego prático da cultura de tecidos, possibilitando a utilização de fragmentos de plantas para a propagação vegetativa. As plantas procedentes deste sistema são mais robustas e apresentam

crescimento acelerado se comparado com aquelas derivadas de germinação de sementes ou estaquia (PERULLO et al., 2015).

É possível utilizar essa técnica em razão de os cactos possuírem botões dormentes nas suas aréolas, que em condições apropriadas podem ser ativados. A ativação de gemas axilares é uma das técnicas mais populares da micropropagação, consistindo na proliferação e desenvolvimento de plantas a partir de gemas de meristemas laterais, que está associado a uma mudança no padrão de N-glicosilação de proteínas celulares. Sendo assim, a produção de inúmeros brotos é possível a partir de um único explante, tendo um menor risco de variação por serem clones geneticamente idênticos (RETES-PRUNEDA et al., 2007; LEMMA-RUMINSKA e KULOS, 2014).

No laboratório é utilizado o meio de cultura para a propagação de tecidos vegetais que contém os nutrientes necessários para que a planta se desenvolva. Fazem parte desta composição os macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, reguladores de crescimento vegetal exógenos (PGR), alguns componentes orgânicos, fonte de carbono como a sacarose, e agentes gelificantes para produção do meio sólido (OSENÍ et al., 2018).

Os PGRs estão relacionados à determinação da via de desenvolvimento das células e de tecidos da planta. Os reguladores mais utilizados pertencem ao grupo das auxinas e citocininas, nas quais as quantidades variam de acordo com a cultura que se queira estabelecer ou regenerar, a depender da espécie da planta, do tecido ou do órgão cultivado (OSENÍ et al., 2018).

No trabalho feito por Skoog e Miller (1957), foi verificado que as altas concentrações de auxina favoreciam a formação de raízes, enquanto que as citocininas promoviam a regeneração da parte aérea, formação de brotos e desenvolvimento de calos. É importante levar em conta que a proporção das concentrações das duas PGRs influencia de forma direta na organogênese da planta, diferindo quanto ao órgão vegetal que poderia surgir, sejam raízes, brotos, folhas ou calos.

O ajuste do pH do meio de cultura também se faz importante pois afeta o crescimento vegetal e a atividade dos PGRs no meio sólido e líquido, necessitando estar entre 5,4 e 5,8 para apresentar uma resposta satisfatória (OSENÍ et al., 2018).

Outros cuidados são de suma importância para evitar a contaminação e aumentar a produtividade, inclusive na cultura de tecidos, cuja utilização de protocolos torna mais prático e eficiente a preservação de tecidos ou órgãos vegetais quando se visa multiplicar o material vegetal.

2.3 Estudos anteriores semelhantes

Apesar de haver alguns estudos sobre a composição do meio de cultura para micropropagação de pitaya, são encontrados poucos artigos no que diz respeito a posição do explante no meio, bem como a porção (apical, mediana e basal) que pode ser influenciada pela habilidade da brotação a partir de gemas axilares dos cactos.

Quanto a posição do explante no meio de cultura, Estrada-Luna et al. (2008) cultivaram a cactácea *Opuntia lanigera* Salm–Dyck *in vitro* em duas diferentes posições: na orientação vertical e na horizontal. Os explantes foram brotos selecionados com 2 cm de comprimento desenvolvidos na fase de indução onde o meristema apical foi retirado. Cada tratamento continha 25 explantes, e após 42 dias de cultivo, a análise de variância mostrou que a orientação teve papel importante na brotação dos explantes. A orientação vertical respondeu com maior número de brotos (4,97) e maior comprimento (7,86 mm), enquanto que na orientação horizontal o número médio de brotos foi 3,69 e o comprimento de 6,98 mm.

No trabalho de Correia et al. (2017), foi avaliado o desenvolvimento dos brotos e raízes da pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seccionadas transversalmente com o comprimento de 2 centímetros por explante de três diferentes partes: apical, mediano e basal. O meio de cultura usado foi o JADS (CORREIA et al., 1995) sem acréscimo de reguladores de crescimento. Os resultados obtidos indicaram que o número médio de brotos da parte basal do explante se destacou estatisticamente em comparação com os demais. Após 30 dias de cultivo o enraizamento esteve presente em 100% dos explantes basais e apicais, e em 92% do explantes medianos.

Mohamed-Yasseen (2002) na sua pesquisa buscou um método de micropropagação de pitaya (*Hylocereus undatus*) com meio de cultura contendo os reguladores Thidiazuron (TDZ) e ácido naftalenoacético (ANA) na concentração de

0,01, 0,09, 0,5 ou 0,9 μM para o TDZ e 0,5 μM de ANA. O autor apresentou os explantes analisados sob diferentes cortes, sendo o primeiro das partes distais do cladódio que resultou em múltiplos brotos, e o segundo sob um corte longitudinal que divide o cladódio em três ângulos iguais, obtendo neste, brotos menores e em menor quantidade se comparado àquele.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia da UNEB, campus III, localizado na avenida Dr. Edgard Chastinet Guimarães, bairro São Geraldo, Juazeiro/BA.

3.1 Material vegetal

O material vegetal utilizado como fonte para o experimento estava estabelecido *in vitro* em tubos de ensaio contendo meio MS (Murashigue e Skoog) com vitaminas de White e suplementados com sacarose e ágar (Figura 1), foram multiplicadas a partir de explantes que foram germinadas de sementes da pitaya obtidas em Irecê/BA. Anteriormente foram usadas para um experimento com diferentes tempos de desinfestação de sementes utilizando hipoclorito de sódio (NaClO) à 1%, e mantidas sob condições controladas durante 30 dias. Em seguida avaliadas quanto à taxa de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). Portanto, é o seu segundo ciclo de subcultura.



Figura 1. Fonte de explantes estabelecido no laboratório. Fonte: autor.

3.2 Preparo de estoques concentrados

Foram preparados quatro estoques concentrados com os sais de (MURASHIGE e SKOOG, 1962), que oferecem à planta macronutrientes: NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 ; micronutrientes: KI , H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; ferro: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; e cálcio: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Além disso, foi feito mais um estoque com vitaminas de White (WHITE, 1943) contendo Tiamina, Glicina, Piridoxina e Ácido nicotínico.

3.3 Preparo do meio de cultura

Para o preparo do meio de cultura, em um Erlenmeyer de vidro é disposto 400 mL de água destilada, deionizada e autoclavada (água DDA) sob um agitador com aquecimento, e sequencialmente são acrescentados 20 mL de cada estoque, a sacarose (30 g L^{-1}) e os reguladores de crescimento vegetal $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA (ácido α -naftaleno acético) e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP (6-Benzilaminopurina) (Figura 2). A quantidade dos reguladores usada foi a mesma descrita nos estudos de Menezes et al. (2012) para a pitaya da polpa branca (*Hylocereus undatus*).

O pH foi medido com pHmetro e ajustado para $5,7 \pm 0,1$ com 1N de HCl, e/ou 1N de NaOH.

O ágar (7 g L^{-1}) foi dissolvido separadamente num béquer com 300 ml de água DDA no micro-ondas. E posteriormente foi acrescentado à solução contida no Erlenmeyer sob agitação e aquecimento constante. Depois, o meio é colocado em uma proveta de 1 litro para aferir a precisão, e colocado no Erlenmeyer novamente para uniformização.

Foram distribuídos aproximadamente 25 ml de meio em cada frasco de vidro (com 200 ml de capacidade), vedados com folha de alumínio, e levados para esterilização em autoclave a 121°C e $1,2 \text{ kg/cm}^2$ por 20 minutos.



Figura 2. Solução do meio de cultura com água DDA, estoques e PGRs em agitação no agitador magnético. Fonte: autor.

3.4 Disposição dos explantes no meio de cultura

As pitayas que estavam estabelecidas no tubo de ensaio foram transferidos para o frasco com o meio. Para tal, na câmara de fluxo laminar foram colocadas sobre papel filtro e realizado secções transversais com a ajuda de pinças e bisturis, obtendo-se os segmentos de caule de aproximadamente 1 cm cada. As raízes da parte basal foram cortadas e descartadas.

Para se obter diferentes tratamentos a planta teve seu cladódio segmentado em parte basal, mediana e apical.

Os tratamentos a seguir foram feitos (Figura 3):

- T1: segmento do explante da porção mediana posto verticalmente no meio;
- T2: explante da porção mediana posicionada horizontalmente;
- T3: explante da porção mediana cortado longitudinalmente em duas metades e posicionada na direção horizontal;
- T4: explante cortado do ápice caulinar posto verticalmente; e
- T5: explante cortado da porção basal posto verticalmente.

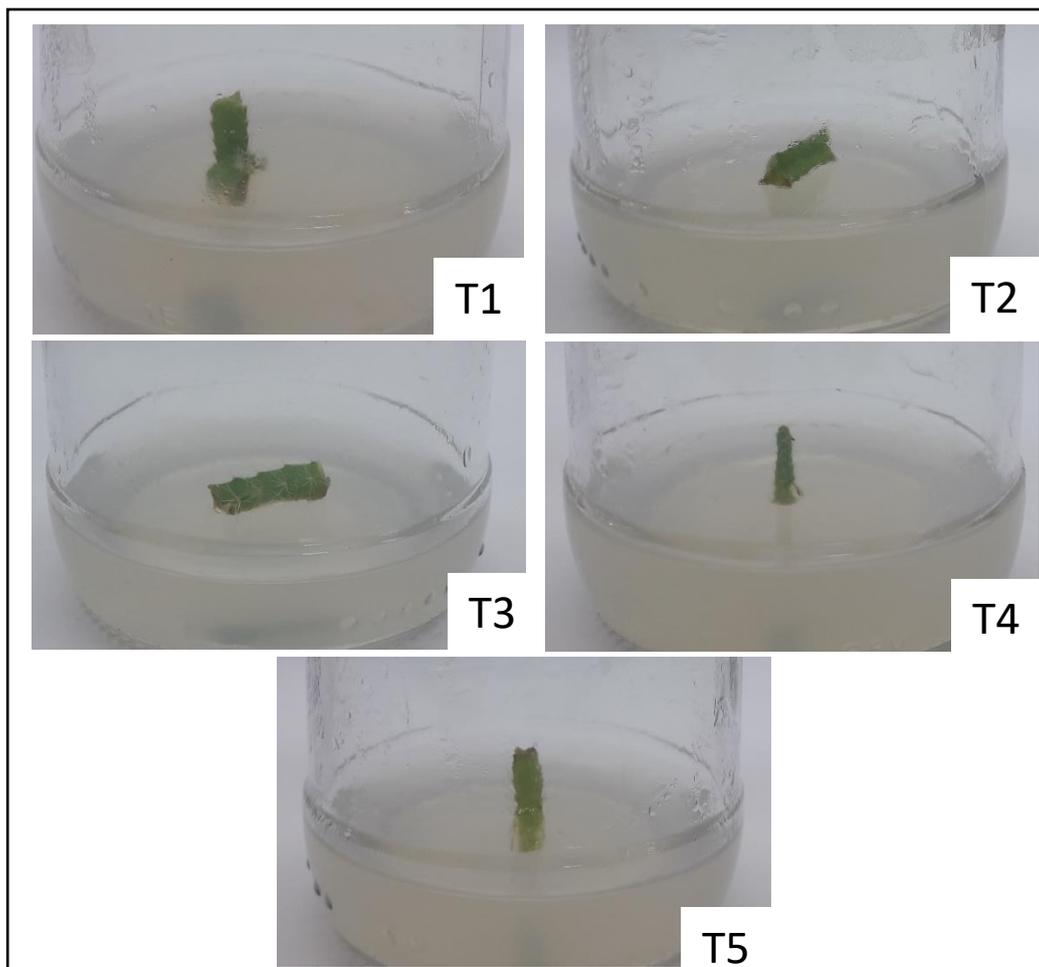


Figura 3. Um explante representando cada tratamento. T1: porção mediana do explante na direção vertical; T2: porção mediana na direção horizontal; T3: porção mediana particionada na direção horizontal; T4: porção apical; T5: porção basal. Fonte: autor.

Os frascos foram flambados e vedados com plástico filme e identificados para seguirem para a sala de crescimento.

Os explantes ficaram incubados na sala de crescimento por 60 dias em temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $36 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Figura 4).



Figura 4. Explantes incubados na sala de crescimento de forma casualizada. Fonte: autor.

3.5 Coleta de dados

Dados de sobrevivência (%), contaminação (%), oxidação (%), clorose (%), necrose (%), e calos (%), bem como o número de brotações de cada explante foi foram tomados periodicamente, a cada 20 dias.

Ao final do período de 60 dias foram coletadas: hiperidricidade (%), comprimento da parte aérea (cm), e comprimento da raiz (cm), número de raízes basais, número de raízes adventícias, número e tamanho das brotações (menor que 1 cm, entre 1 e 2 cm, e maior que 2 cm), além das variáveis citadas anteriormente.

3.6 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições compostas por quatro frascos, cada uma contendo um explante de 1 cm, totalizando 100 parcelas ao todo. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Em seguida foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey à 5% de significância.

Os dados oriundos de contagem foram transformados em $\sqrt{X} + 0,5$ e os oriundos das variáveis sobrevivência, contaminação, oxidação, clorose, necrose, hiperidricidade e calos foram convertidos em porcentagem utilizando regra de três simples. O programa computacional utilizado para análise estatística de dados foi o SISVAR (FERREIRA, 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente estudo 23% dos explantes não reagiram ao meio de cultura, considerando que não tiveram brotação ao longo do experimento. Os explantes não regenerados podem estar associadas a dificuldade natural do estabelecimento de cactáceas.

No total, os explantes tiveram 100% de sobrevivência e 1% de contaminação. A porcentagem de oxidação, clorose, necrose, calos e hiperidricidade por tratamento podem ser vistas na tabela 1.

Tabela 1 - Porcentagem de oxidação, clorose, necrose, calos e hiperidricidade oriundo da contagem de presença ou ausência em cada tratamento ao final de 60 dias. Universidade do Estado da Bahia, 2022.

Tratamento	Oxidação (%)	Clorose (%)	Necrose (%)	Calos (%)	Hiperidricidade (%)
Porção mediana vertical	20	5	0	45	15
Porção mediana horizontal	20	0	15	50	10
Porção mediana particionada	55	0	0	65	25
Porção apical	0	10	10	45	30
Porção basal	0	0	0	70	25

É possível observar que o tratamento 3, com o explante particionado e posicionado na direção horizontal no meio, teve a porcentagem mais alta de oxidação (55%), tal característica se justifica porque a excisão causada pelo corte com o bisturi pode ter causado danos ao tecido vegetal como pode ser visto na figura 5. O mesmo foi constatado no estudo feito por Mohamed-Yasseen (2002), onde foi observado possíveis danos do explante durante a excisão.



Figura 5. Explante do Tratamento 3 oxidado na parte seccionada ao 13 dia de cultivo. Fonte: autor.

A porção apical apresentou 10% de explantes com clorose, porém nos outros tratamentos quase não houve essa ocorrência.

A maior taxa de necrose foi identificado no tratamento 2 (15%), que continha o explante da parte mediana posicionado na direção horizontal. Viñas et al. (2012), observou que sem os PGRs no meio de cultura os brotos eram maiores e sem necrose apical para a mesma espécie de pitaya.

A formação de calos foi encontrada em todos os tratamentos, com destaque no tratamento 5, que possuía o explante da porção basal (Figura 6). Segundo Clayton et al. (1990), muitos cactos produzem quantidades significativas de auxinas em condições *in vitro*, que promovem a proliferação de calos. Isso pode explicar a presença de calos mesmo em baixa concentração de citocinina adicionada ao meio.

Figura 6. Explante do tratamento da porção basal com formação de calo. Barra = 1 cm.

Fonte: autor.



Os brotos de cactáceas podem apresentar uma aparência vitrificada, onde as células são aumentadas e os tecidos ficam encharcados, com o número reduzido de espinhos e raízes causado pela hiper-hidratação da planta (BALEN et al., 2012). A hiperidricidade foi notada em todos os tratamentos, na qual o tratamento 3 (25%), tratamento 4 (30%) e o tratamento 5 (25%) apresentaram as maiores ocorrências desse efeito. Na figura 7 pode ser observado um explante de cada tratamento com hiperidricidade.

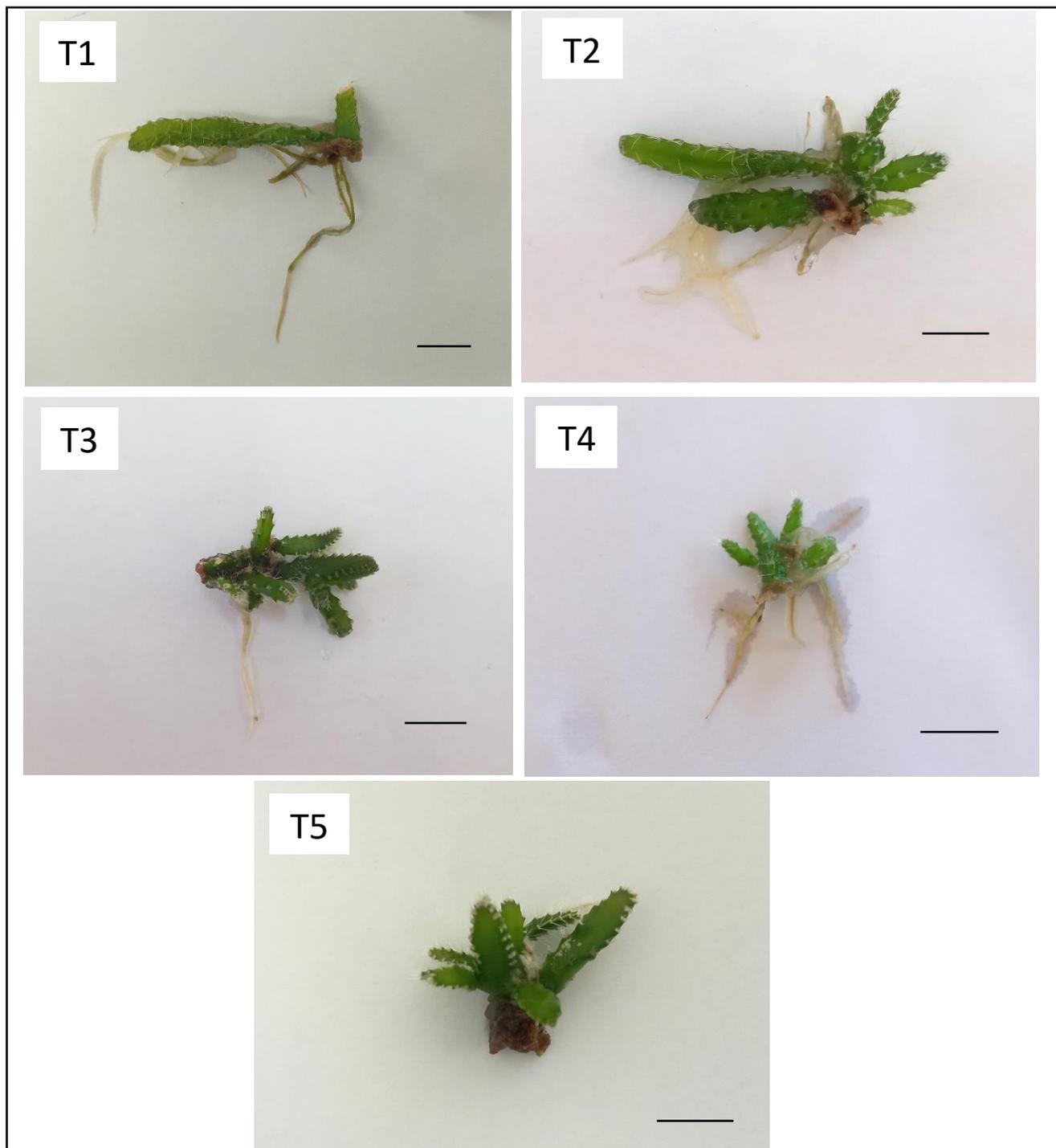


Figura 7. Explantes com hiperidricidade nos respectivos tratamentos. Barra = 1 cm. Fonte: autor.

O resultado da análise estatística foi significativo para as variáveis: brotos menores que 1 cm, número de raízes adventícias, e comprimento da raiz. Para o número de brotos totais, número de raízes principais e comprimento da parte aérea não houve diferença significativa pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade (Tabela 2).

Tabela 2 - Diferenças entre os tratamentos aos 60 dias de cultivo da *Hylocereus costaricensis* apresentando variáveis quantitativas. Universidade do Estado da Bahia, 2022.

	Brotos menores que 1cm	Brotos totais	Número de raízes principais	Número de raízes adventícias	Comprimento da raiz (cm)	Comprimento da parte aérea (cm)
T1	1.088 b ¹	1.612 a	1.640 a	1.326 ab	1.578 ab	1.398 a
T2	1.442 ab	1.706 a	1.440 a	1.068 b	1.860 ab	1.234 a
T3	1.380 ab	1.896 a	1.082 a	1.336 ab	1.282 b	1.288 a
T4	1.730 a	2.105 a	1.456 a	1.672 a	2.050 a	1.450 a
T5	1.630 ab	2.054 a	1.582 a	1.704 a	1.708 ab	1.628 a
F	0.030*	0.404(ns)	0.170(ns)	0.023*	0.011*	0.162(ns)
CV(%)	22.96	24.77	25.19	22.20	18.49	18.15

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A maior média de raízes adventícias pode ser vista nos tratamentos 4 e tratamento 5. A ocorrência destas pode ser explicada porque na natureza ela é importante para alguns cactos. O desenvolvimento de ramos laterais permite a pitaya o crescimento sobre locais de apoio, por ter natureza epífita ou hemiepífita (MAUSETH e HALPERIN, 1975; BARDEAU, 1990).

Assim como na pesquisa de Correia et al. (2017) com *Hylocereus polyrhizus*, a formação de raízes não apresentou diferença significativa nos explantes basais, apicais e medianos.

Quanto ao comprimento da raiz, o explante seccionado obteve o menor enraizamento.

A tabela 3 identifica as médias das brotações por tratamento de acordo com os dados coletados. Apenas aos 20 dias houve diferença significativa, onde houve diferença do tratamento 2 em relação ao tratamento 3. Aos 40 e 60 dias é observado que não há mais diferenças estatísticas quanto ao número de brotos. A tabela 2 também indica não haver diferença entre os tratamentos quanto a quantidade total de brotações, apenas diferença entre a frequência dos menores que 1 cm no tratamento com a porção apical.

Tabela 3 - Média das brotações em 20, 40 e 60 dias nos cinco tratamentos. Universidade do Estado da Bahia, 2022.

Tratamentos	20 dias	40 dias	60 dias
T1	1.068 ab ¹	1.284 a	1.612 a
T2	0.876 b	1.166 a	1.706 a
T3	1.434 a	1.792 a	1.896 a
T4	1.034 ab	1.672 a	2.102 a
T5	1.152 ab	1.632 a	2.054 a
F	0.0464*	0.0893 (ns)	0.4044 (ns)
CV (%)	24.11	26.04	24.77

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Por haver uma variação muito grande nos dados coletados, foi inviabilizado a análise estatística das variáveis: brotos entre 1 e 2 cm, e brotos maiores que 2 cm. Ambos não atingiram a normalidade no teste de Shapiro-Wilk.

Entretanto, para avaliar a qualidade dos brotos, foi possível fazer uma representação com as porcentagens de acordo com o número de cada comprimento de broto em cada tratamento, como pode ser visto na tabela 4.

A figura 8 mostra representativamente a diferença entre os comprimentos dos brotos.

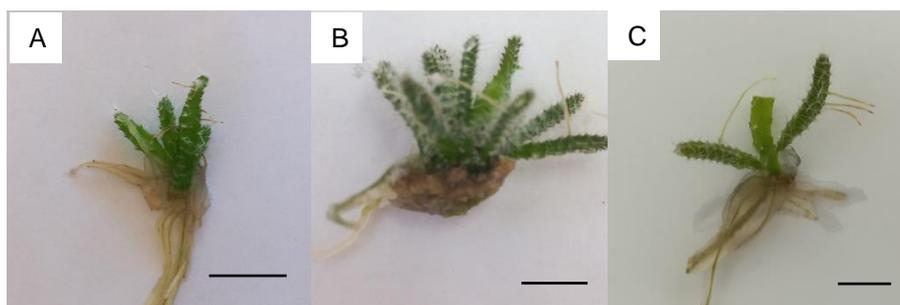


Figura 8. Foto representativa de explantes com diferentes comprimentos de brotos. (A) Brotos menores que 1 cm; (B) brotos entre 1 e 2 cm; (C) brotos maiores que 2 cm. Barra = 1 cm. Fonte: autor.

Tabela 4 - Distribuição do comprimento das brotações por tratamento (%). Universidade do Estado da Bahia, 2022.

Explante	Quantidade de brotos (%)		
	menor que 1 cm	entre 1 e 2 cm	maior que 2 cm
Porção mediana vertical	34,04	42,55	23,40
Porção mediana horizontal	63,46	26,92	9,62
Porção mediana particionada	43,94	45,45	10,61
Porção apical	63,41	21,95	14,63
Porção basal	58,67	18,67	22,67

Como é possível observar na tabela 4, aproximadamente 34% dos explantes do tratamento 1 estavam em sua maioria com o comprimento de brotos entre 1 e 2 cm. Já os tratamentos 2 (63,46%), tratamento 3 (43,94%) e tratamento 4 (63,41%), apresentaram porcentagem alta quanto ao aparecimento de brotos em tamanhos diminutos.

A porção basal, dentro de seu tratamento obteve 58,67% do total de brotações de brotos menores que 1cm, e em relação a brotação maior que 2 cm ele obteve uma das maiores porcentagens (22,67%), junto com o tratamento da porção mediana vertical (T1).

Foi possível observar que o tratamento da porção mediana particionada (T3) teve boa distribuição nos brotos entre 1 e 2 cm (45,45%), e brotos maiores que 2 cm (10,61%). Esse fato pode estar relacionado ao aparecimento mais precoce de brotações, em comparação com outros tratamentos, como pode ser visto na tabela 3.

Na constatação feita por Mohamed-Yassen (2002) com a *Hylocereus undatus*, a formação de brotos em seu estudo diferiu entre o explante na direção vertical e o explante particionado. O mesmo acontece com o estudo feito por Estrada-Luna et al. (2008) com o cacto *Opuntia laginera* em que, o número de brotos e o comprimento foram menores na direção horizontal.

O comprimento e a quantidade brotos/explante são de suma importância pois indicam os segmentos que podem ser utilizados na multiplicação. Ambas são variáveis que fazem diferença quando se busca avaliar a qualidade dos brotos, no que tange a eficiência da micropropagação.

E, embora não tenha apresentado diferença significativa no número de explante, observou-se que com relação ao tamanho do explante, em alguns tratamentos há uma predominância de explantes maiores, como no tratamento da porção basal e da porção mediana particionada.

5 CONCLUSÃO

A pitaya (*Hylocereus costaricensis*) cultivada em meio MS com reguladores ANA e BAP em 60 dias de incubação tiveram formação de calos em todos os tratamentos.

Todas as porções utilizadas como explantes na fase de multiplicação da pitaya proporcionaram o mesmo número de brotações, entretanto observou-se diferenças no tempo para emissão das brotações e na distribuição do comprimento de brotos, considerando esses fatores, os explantes da porção basal e da porção mediana particionada na direção horizontal, tiveram um melhor desempenho.

REFERÊNCIAS

- BALEN, Biljana et al. *In vitro* conditions affect photosynthetic performance and crassulacean acid metabolism in *Mammillaria gracilis* Pfeiff. tissues. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 5, p. 1883-1893, 2012.
- BALENDRES, M. A.; BENGUA, J. C. Diseases of dragon fruit (*Hylocereus species*): Etiology and current management options. **Crop protection**, v. 126, p. 104920, 2019.
- BARBEAU, Gérard et al. La pitahaya rouge, un nouveau fruit exotique. **Fruits**, v. 45, n. 2, p. 141-147, 1990.
- BÁRCENAS, Rolando T.; YESSON, Chris; HAWKINS, Julie A. Molecular systematics of the Cactaceae. **Cladistics**, v. 27, n. 5, p. 470-489, 2011.
- BAUER, Ralf. A synopsis of the tribe Hylocereeae F. Buxb. **Cactacea Systematics Initiatives**. v.7, p. 6-63, 2003.
- BRITTON, Nathaniel L.; ROSE, Joseph Nelson. **The Cactaceae: descriptions and illustrations of plants of the cactus family**. Courier Corporation, 1963.
- CASAS, Alejandro; BARBERA, Giuseppe. Mesoamerican domestication and diffusion. **Cacti: biology and uses**, v. 143, p. 62, 2002.
- CID, L. Pedro Barrueto; TEIXEIRA, J. B. Cultivo *in vitro* de plantas. **Brasília: Embrapa informação tecnológica**. Brasília, DF. 2014.
- CLAYTON, Philip W. et al. Micropropagation of members of the Cactaceae subtribe Cactinae. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n. 2, p. 337-343, 1990.
- CORREIA, Diva; GONÇALVES, Antônio Natal; COUTO, Hilton Thadeu Zarate; RIBEIRO, Milton Cezar. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* na multiplicação *in vitro*. **IPEF**, Piracicaba, n. 48/49, p. 107-116, 1995.
- CORREIA, Diva; NASCIMENTO, Evaldo Heber Silva do; MORAIS, João Paulo Saraiva; GOMES FILHO, Antônio Abelardo Herculano; SILVA, Myllon Karton Nobre. Germinação de Sementes e Tipos de Explantes na Propagação *in vitro* de Pitaya Vermelha (*Hylocereus polyrhizus*). Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. **Embrapa Agroindústria Topical**, ed. 1, p. 4-17, 2017.
- CRANE, J.; BALERDI, C. Dragon fruit. **Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. IFAS Extension, Gainesville**, v. 32611, 2004.
- ESTRADA-LUNA, Andres A. et al. *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.

FALEIRO, Fábio Gelape; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela. **Pitayas: atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação na Embrapa Cerrados**. Planaltina – DF: Embrapa Cerrados, 2021.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. **Revista Brasileira de Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

FLORES, Rejane et al. Sacarose e sorbitol na conservação *in vitro* de *Puffia tuberosa* (Spreng.) Hicken (Amaranthaceae). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 3, p. 192-199, 2013.

GUNASENA, H. P. M.; PUSHPAKUMARA, D. K. N. G.; KARIYAWASAM, M. dragon fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. **Underutilized fruit trees in Sri Lanka**, v. 1, p. 110-141, 2007.

KASIM, Pedda D. et al. Multiple shoot regeneration in seed-derived immature leaflet explants of red dragon fruit (*Hylocereus costaricensis*). **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 12, n. 4, p. 1491-1494, 2019.

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

LEMA-RUMIŃSKA, Justyna; KULUS, Dariusz. Micropropagation of cacti—a review. **Haseltonia**, v. 2014, n. 19, p. 46-63, 2014.

LICHTENZVEIG, Judith et al. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 7, p. 1058-1065, 2000.

LIMA, Cristiane Andréa de. **Caracterização, propagação e melhoramento genético de pitaia comercial e nativa do cerrado**. 2013. 140f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.

MARTÍNEZ, Roberta Castillo; DE DIOS, Hector Cáliz; CANTO, Adolfo Rodríguez. **Guía técnica para el cultivo de pitahaya**. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 1996.

MAUSETH, J.D.; HALPERIN W. 1975. Controle hormonal da organogênese em *Opuntia polyacantha* (Cactaceae). **American Journal of Botany** 62: 869-877.

MAUSETH, James D. Structure–function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. **Annals of Botany**, v. 98, n. 5, p. 901-926, 2006.

MENEZES, Thatiane Padilha de et al. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha, *Hylocereus undatus* HAW. **Bioscience Journal (Online)**, p. 862-876, 2012.

MERCADO-SILVA, Edmundo M. Pitaya—*hylocereus undatus* (haw). **Exotic fruits**, p. 339-349, 2018.

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

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

NERD, Avinoam; GUTMAN, Feiga; MIZRAHI, Yosef. Ripening and postharvest behaviour of fruits of two *Hylocereus* species (Cactaceae). **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, n. 1, p. 39-45, 1999.

NOBEL, Park S. et al. (Ed.). **Cacti: biology and uses**. University of California Press, 2002.

NUNES, Ernane Nogueira et al. Pitaia (*Hylocereus* sp.): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, 2014.

OSENI, Ojo Michael; PANDE, Veena; NAILWAL, Tapan Kumar. A review on plant tissue culture, a technique for propagation and conservation of endangered plant species. **International journal of current microbiology and applied sciences**, v. 7, n. 7, p. 3778-3786, 2018.

PERULLO, N. et al. Seed cryopreservation and micropropagation of the critically endangered species swamp pink (*Helonias bullata* L.). **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 51, n. 3, p. 284-293, 2015.

RETES-PRUNEDA, José Luis et al. Propagación *in vitro* de especies de Echinocereus, Escontria, Mammillaria, Melocactus y Polaskia (Cactaceae). **Botanical Sciences**, n. 81, p. 9-16, 2007.

RODRÍGUEZ CANTO, Adolfo. **El cultivo de pitahaya en Yucatán**. Yucatán: Universidad Autónoma de Chapingo, 1993. 53p.

RUBLUO, Abraham et al. Strategies for the recovery of endangered orchids and cacti through *in-vitro* culture. **Biological Conservation**, v. 63, n. 2, p. 163-169, 1993.

Ruiz-Domínguez, Catalina et al. "Systematic relevance of pollen morphology in tribe Hylocereeae (Cactaceae)." **PhytoKeys** vol. 128 121-140. Ago, 2019.

SHENG, Winson Koe Wei et al. Effects of plant growth regulators on seed germination and callus induction of *Hylocereus costaricensis*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 48, n. 3, p. 977-982, 2016.

SILVA, Adriana de Castro Correia da. **Pitaya: Melhoramento e produção de mudas**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.

SILVA, Rafael de Carvalho et al. Potencial germinativo e morfoanatomia foliar de plântulas de pinhão-manso originadas de germoplasma criopreservado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 836-845, 2011.

SKOOG, FOLKE.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, [Cambridge], v. 11, p. 118-131, 1957.

TEL-ZUR, N. Research and development of pitahayas-dragonfruit-vine cacti: limitations and challenges and the current global market. In: **VIII International Congress on Cactus Pear and Cochineal 1067**. 2013. p. 365-370.

TENORE, Gian Carlo; NOVELLINO, Ettore; BASILE, Adriana. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of functional foods**, v. 4, n. 1, p. 129-136, 2012.

Tyagi, RK, Agrawal, A., Mahalakshmi, C., Hussain, Z., Tyagi, H. Low-cost media for *in vitro* conservation of turmeric (*Curcuma longa* L.) and genetic stability assessment using RAPD markers. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 43, n. 1, p. 51-58, 2007.

VIÑAS, María et al. *In vitro* propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [FAC Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 48, n. 5, p. 469-477, 2012.

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

WICHIENTHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food chemistry**, v. 120, n. 3, p. 850-857, 2010.

ZAPPI, Daniela. et al. Plano de ação nacional para conservação das cactáceas. Brasília: Instituto Chico Mendes de conservação da biodiversidade, ICMBio, 2011, 113p.

ZIMMERMANN, Helmuth G.; GRANATA, Giovanni. Insect pests and diseases. **Cacti: biology and uses**, p. 235-254, 2002.

ZUGE, P. G. U. **Produção de Mudanças de Pitaya Através da Micropropagação**. 2019. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.