



FONTES E CONCENTRAÇÕES DE CITOCININAS NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PITAIAS

SOURCES AND CONCENTRATIONS OF CYTOKININS *IN VITRO* MULTIPLICATION OF PITAYAS

Pollyana Cardoso Chagas¹; Vinicius da Costa Silva²; Maria da Conceição da Rocha Araújo³; Marcos Eduardo Moraes Lima²; Bilovenie Etienne²; Caroline Marques Silva²; Marcos Vinicius da Costa Ericeira²; Beatriz Emanuela Pereira da Silva²

¹Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR 174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. pollyana.chagas@ufr.br. Apresentador do trabalho. ²Universidade Federal de Roraima (UFRR), Campus do Cauamé, BR 174, Km 12, Monte Cristo - Boa Vista - Roraima, CEP 69.301-970, Brasil. viniciuss03@gmail.com, marcoseduardomoraeslima@outlook.com, etiennebilovenie96@gmail.com, carolinemarques169@gmail.com, marcos.vinicius.ericeira@gmail.com, beatriz.e.p.c@gmail.com. ³Biotech Mudas, BR 174, Km 8, Distrito Industrial, Boa Vista-RR, CEP 69301-970, Brasil. nilmacolby@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

A propagação da pitaita é comumente realizada por meio de sementes ou estaquia. No entanto, quando se trata da produção comercial, a propagação via semínifera é desaconselhável devido à juvenildade, enquanto a propagação vegetativa por estacas pode propagar doenças. Por outro lado, a cultura de tecidos pode auxiliar na propagação de mudas de melhor qualidade, uma vez que esta técnica possibilita obtenção de plantas saudáveis e produção de mudas em larga escala a partir de pequena quantidade de material propagativo (MENEZES et al., 2012).

A formulação do meio de cultura deve fornecer os nutrientes e substâncias indispensáveis para o crescimento das plantas. Para a fase de multiplicação foram adicionados os reguladores de crescimento ao meio de cultura, como as citocininas, para que ocorresse estímulo para emissão de novas brotações. As citocininas tem importante papel no crescimento e desenvolvimento da planta, estando envolvidas em atividades de biossíntese, inativação, transporte e sinalização, além de que interagem na regulação dos meristemas apicais, na padronização da raiz, na organogênese, na filotaxia da parte aérea e sobre a formação de órgãos florais feminino (SOUSA, 2020).

Nas cactáceas a micropropagação é realizada por indução da embriogênese somática, brotações adventícias ou pela ativação de gemas axilares (aréolas) (LEMA- RUMIŃSKA; KULUS, 2014; SILVA; FERREIRA, 2016). No entanto, para a produção de mudas de pitaias micropropagadas é necessário a geração de protocolos, tendo em vista que cada espécie responde de maneira diferente às condições de multiplicação, enraizamento e de aclimatização (ESTRADA-LUNA et al., 2008; HUA et al., 2014). Assim, o objetivou-se com este estudo avaliar o desempenho de diferentes fontes e concentrações de citocininas na multiplicação *in vitro* de pitaias (*Hylocereus undatus* Haw).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Roraima. Foram utilizados como fonte de explantes brotações (cladódios) de plantas matrizes cultivadas em casa de vegetação. Com o auxílio de uma tesoura de poda, os cladódios foram retirados e levados para o



laboratório para realização da desinfestação. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram desinfestados em solução de álcool 70% durante um minuto, e posteriormente, em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) acrescido de duas gotas de Tween 20® durante 10 minutos e, em seguida, foi realizado triplice enxague com água destilada, deionizada e autoclavada.

Após a desinfestação, os cladódios foram excisados, com seguimentos de aproximadamente 2 cm, deixando-se duas a três aréolas (gema) por explante. Os explantes foram inoculados em tubos contendo 10 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG,1962) modificado. Após a inoculação, os explantes foram mantidos no escuro em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por sete dias, visando reduzir a oxidação, posteriormente foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e $48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fluxo de fótons.

Após 60 dias de cultivo, foram transferidos para meio de multiplicação. Na fase de multiplicação, foram testadas diferentes fontes de citocininas: BAP (6-benzilaminopurina) e Cinetina (6- furfurilaminopurina) em diferentes concentrações (1, 2, 3 e 4 mg L⁻¹), visando a indução de brotações adventícias. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento com as mesmas condições acima citadas por 120 dias, sendo que a cada 30 dias, foi realizado a troca de meio de cultura contendo os mesmos tratamentos, visando elevar a taxa de multiplicação dos explantes. Aos 120 dias, foram avaliados o número de brotos, diâmetro e comprimento das brotações e massa fresca (raiz e parte aérea).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, conduzido em esquema fatorial 2 (fontes de citocininas) x 4 (concentrações) para a fase de multiplicação. Todos os tratamentos foram constituídos 8 repetições contendo 2 explantes cada, totalizando 16 amostras por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e posteriormente a análise de regressão ($p < 0,05$) pelo programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, houve diferenças significativas entre os fatores testados. Os tratamentos contendo cinetina apresentaram melhores resultados tanto em quantidade de brotos quanto no desenvolvimento dos mesmos, quando comparados com os tratamentos contendo BAP.

Na Figura 1, para as concentrações de cinetina foi possível observar um acréscimo no número de brotos até a concentração de 3,36 mg L⁻¹, que obteve média de 7,51 brotos por explante, ocorrendo o decréscimo do número de brotos com o aumento da concentração. Já nos tratamentos contendo BAP é possível notar um decréscimo no número de brotos a medida em que se elevou a concentração da citocinina no meio de cultura.

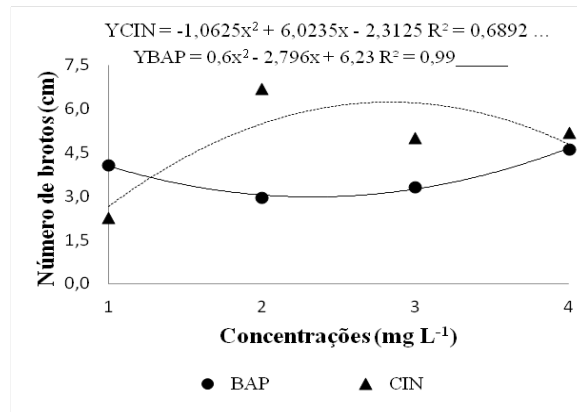


FIGURA 1 - Número de brotos de pitáia cultivados *in vitro* sob diferentes concentrações de BAP e cinetina.

Vale ressaltar que foi observado uma formação de uma massa de brotos subdesenvolvidas (Figura 2).

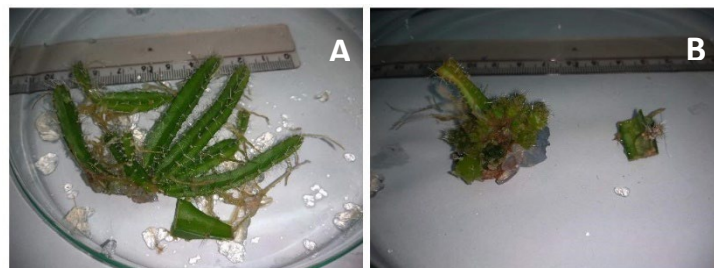


FIGURA 2 - Estrutura dos explantes de pitáia cultivados *in vitro* sob diferentes fontes de citocininas: (A) cinetina e (B) BAP.

Gonsalves (2020), observou em seus testes que o meio QL modificado, na ausência de BAP, apresentou médias superiores para variável número de brotações. Também aponta que menores concentrações de BAP formaram brotações de pitáia sem anormalidades.

Lopes et al. (2017), observaram na propagação *in vitro* de pitáia vermelha com diferentes concentrações de BAP, melhor resultado com número de brotações de (12,2 brotos) na concentração de 1,0 mg L⁻¹.

Também avaliando o efeito de BAP e cinetina no desenvolvimento *in vitro* de pitáia. Román et al. (2014) obtiveram em média 3,2 brotos por explante na micropropagação da pitáia vermelha. Estes mesmos autores afirmam que para a multiplicação *in vitro* de cactáceas, o meio MS é o mais adequado, especialmente quando suplementado com baixos níveis de auxina em combinação com níveis moderados a elevados de citocinina.

Para variável comprimento de broto observada na figura 3, houve uma tendência de aumento no comprimento a medida em que se elevou a concentração de cinetina no meio de cultura até a concentração de 2,83 mg L⁻¹ (6,85 cm), após essa concentração, nota-se o decréscimo do comprimento



dos brotos. Nos tratamentos contendo BAP, a medida em que se aumentou a concentração no meio, houve uma redução do comprimento dos brotos, sendo na concentração 1 mg L^{-1} obteve-se o comprimento médio de $1,59 \text{ cm}$.

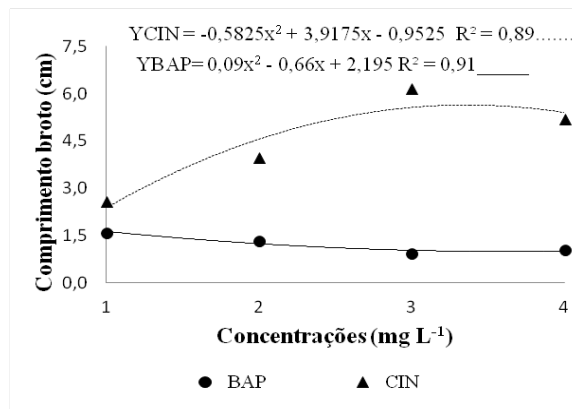


FIGURA 3 - Comprimento de brotos de pitaiia cultivados *in vitro* sob diferentes concentrações de BAP e Cinetina.

Ribeiro (2021), observou que o comprimento médio de brotações, diminuiriam com a adição da citocinina BAP. Fráguas, Pasqual e Pereira (2004), também observaram que altas concentrações de cinetina induz ao decréscimo no comprimento dos brotos, principalmente na ausência de ácido giberélico (GA_3). Vale ressaltar que a obtenção de brotações bem formadas e de maior tamanho proporciona rápido crescimento das plântulas e diminuição no tempo de permanência no laboratório, otimizando a produção de mudas e reduzindo o custo.

Para a variável diâmetro dos brotos (Figura 4) houve comportamento semelhantes as demais variáveis, onde a medida em que houve o acréscimo da concentração de cinetina ocorreu o aumento no diâmetro dos brotos. Já os tratamentos contendo BAP apresentaram efeito contrário, com o aumento da concentração observou-se a diminuição do diâmetro dos brotos.

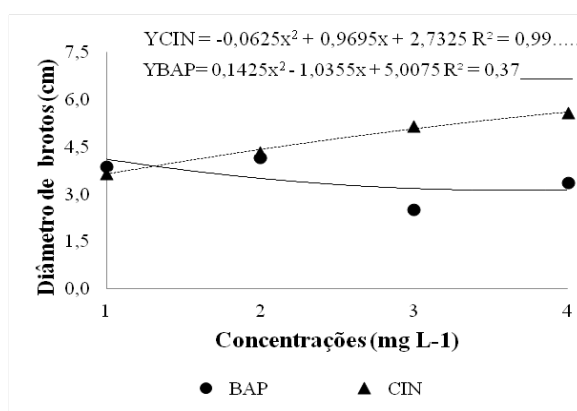


FIGURA 4 - Diâmetro dos brotos de pitaiia cultivados *in vitro* sob diferentes concentrações de BAP e Cinetina.



Para variável massa fresca com o acréscimo de cinetina no meio houve o aumento da massa, sendo a concentração de 4 mg L⁻¹ a maior média observada com 8,49 g. Os tratamentos contendo BAP tiveram relação inversa, quanto maior a concentração do hormônio, menor foi a massa adquirida (Figura 5). Esses valores podem ser explicados devido ao grande número de brotos não desenvolvidos que foram formados nos tratamentos contendo BAP, enquanto os tratamentos contendo as concentrações mais elevadas de cinetina apresentaram brotos bem desenvolvidos e com maiores diâmetros.

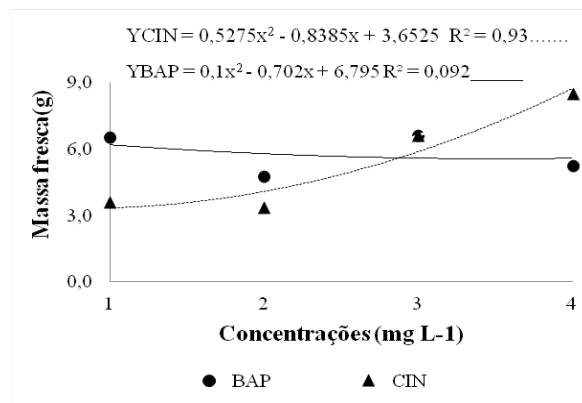


FIGURA 5 - Massa fresca da parte aérea e raiz de pitáia cultivadas *in vitro* sob diferentes concentrações de BAP e cinetina.

Menezes et al. (2012) observou que o incremento de citocininas como BAP, ácido naftalenoacético (ANA) e cinetina causaram o aumento da massa fresca de mudas de pitáia, isso se dá pelo fato da citocinina estimular crescimento de zonas meristemáticas, e com isso favorecer o aumento do número de brotações, comprimento e diâmetro do explante, e conseqüentemente maior massa (TAIZ; ZEIGER, 2004).

CONCLUSÃO

Nas condições testadas, para multiplicação *in vitro* de pitáia recomenda-se como fonte de citocinina a cinetina na concentração de 3 mg L⁻¹.

AGRADECIMENTOS

À Capes e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

CRUVINEL, F. F.; VASCONCELLOS, M. A. da S.; MARTELLETO, L. A. P. Efeitos da citocinina benzilaminopurina na estaquia da pitáia. **Nativa: Pesquisas Agrárias e Ambientais**, Sinop, v. 7, n. 1, p. 43-49, jan./fev. 2019.

ESTRADA-LUNA, A. A.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J.J.; TORRE-TORRES, M.E.; CHABLE-MORENO, F. *In vitro* micropropagation of the ornamental prickly pear cactus *Opuntia lanigera*



- Salm–Dyck and effects of sprayed GA3 after transplanted to ex vitro conditions. **Scientia Horticulturae**. v.117, n.4, p.378-385, 2008.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- FRÁGUAS, C. B., PASQUAL, M.; PEREIRA, A. R. Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 1, p. 49-55, 2004.
- GONÇALVES, M. J.; CAMARGO, S.S.; ARRUDA, A.L.; RUFATO, L. Rápida produção de mudas de pitáia (*Hylocereus undatus*, Cactaceae) por meio da técnica da micropropagação. **Acta Biológica Catarinense**, v. 7, n.1, p. 75-81, 2020.
- HUA, Q.; CHEN, P.; LIU, W.; MA, Y.; LIANG, R.; WANG, L.; WANG, Z.; HU, G.; QIN, Y. A protocol for rapid *in vitro* propagation of genetically diverse pitaya. **Plant Cell Tiss Organ Cult**. v. 120, p. 741-745, 2014.
- LEMA-RUMIŃSKA, J. E. KULUS, D. Micropropagation of Cacti - a Review. **Haseltonia**. n.19, 46-63, 2014.
- LONDE, L. C. N.; CALARES, J. G. Uso de citocininas conjugadas a ácido indol butírico no cultivo *in vitro* de pitáia, em biorreatores de imersão temporária. In: **Geração e Difusão de Conhecimentos nas Ciências Agrárias 2**, Ed: Tullio, L., Editora ATENA, Ponta Grossa, Brasil. 2022.
<https://doi.org/10.22533/at.ed.5442211048>
- LOPES, C. A.; DIAS, G.M.G.; SILVEIRA, F.A.; RODRIGUES, F.A.; PIO, L.A.S.; PASQUAL, M. Propagação *in vitro* de pitáia vermelha. **Revista Plant Cell Cult. Micropropagation**, Lavras, v.13, n.1, p.105-440, nov./mai. 2017.
- MENEZES, T. P. de, GOMES, W. A., PIO, L. A. S., PASQUAL, M.; RAMOS, J. D. Micropropagação e endorreduplicação em pitáia vermelha, *Hylocereus undatus* haw. **Bioscience Journal**, v.28, n.6, p868-876, 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v.15, n.3, p.473-479. 1962.
- RIBEIRO C. H. M; CARLOS, R.P.; BONIFÁCIO, T.C.; SOUZA, M.M.; PAZ, J.I.V.; TAVARES, Q.G.; PONTES, D.S.; DIAS, M.V.; ABRANCHES, M.O.; CURI, P.N. Indução *in vitro* de brotações em explantes de pitáia vermelha em diferentes concentrações de BAP. **Revista Científica Rural**, Bagé-RS, v.23, n.2, 2021.
- ROMÁN, R. S. S.; CAETANO, C.; RAMIREZ, H.; OSORIO, J.G.M. Multiplicación de *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) e *Hylocereus polyrhizus* (pitahaya roja) vía organogénesis somática. **Acta Agronómica**, v.32, n.2, p.272-281, 2014.
- SILVA, M. M. A.; FERREIRA, L. T. **Cultivo *in vitro* de plantas e suas aplicações em cactáceas**. Campina Grande: INSA, 2016.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.- **Fisiologia Vegetal**- 3ª Edição, Artmed, Porto Alegre, 2004.