



Revista
Técnico-Científica



ATUAÇÃO DO BAP NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE EXPLANTES DE PITAIA VERMELHA (*HYLOCEREUS UNDATUS*)

Carlos Henrique Milagres Ribeiro¹, Roni Peterson Carlos¹, Thatyelle Cristina Bonifácio¹, Marília Maia de Souza², Jusceléia Isabel Vieira da Paz¹, Teresa Drummond Correia³, Stéfanie Cristina de Oliveira⁴, Pedro Henrique Ferreira Costa¹, Jacqueline Paula do Nascimento Mateus¹, Mariana de Vasconcelos Dias⁵

¹Eng. Agr., Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais – Campus Barbacena, Barbacena – MG, Brasil;

²D. Fitotecnia., Docente do Departamento de Agricultura do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais – Campus Barbacena,

³D. Ciências Agrárias., Docente do Departamento de Agricultura do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais – Campus Barbacena,

⁴D. Genética e Melhoramento., Universidade Federal do Espírito Santo – Centro de Ciências Agrárias, CCA UFES, Espírito Santo - ES, Brasil,

⁵Eng. Agr., Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Areia – PB, Brasil;

RESUMO: A pitaia é considerada uma das frutas tropicas que mais vem ganhando espaço na mesa dos consumidores devido apresentar diversas vantagens para a saúde, além do seu sabor agradável. O método de propagação *in vitro* de pitaia, vem se destacando pelas as diversas vantagens que vão desde produção massal em um pequeno espaço até o desenvolvimento de mudas de alta qualidade. Diante do exposto este trabalho objetivou-se avaliar a influência de diferentes concentrações de BAP no enraizamento e comprimento das raízes, em meio MS modificado. Foram testadas cinco concentrações de BAP (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg L⁻¹) contendo 4 unidades experimentais (tubos contendo um explante), sendo realizado o sorteio ao acaso dos 100 tubos, divididos em 5 grades, e colocados 20 tubos com 4 repetições de cada tratamento. Após 80 dias da inoculação, foram contabilizados o número de raízes basais, aéreas e a média do comprimento das raízes. As concentrações sem adição de BAP resultaram maior resultado em todas as variáveis analisadas. Dessa forma, recomenda-se para o enraizamento *in vitro* de explantes de pitaia (*Hylocerus undatus*), meio MS modificado sem adição de BAP.

Palavras-chave: Micropropagação, cactacea, 6-benzilaminopurina.

BAP'S PERFORMANCE IN THE IN VITRO ROOTING OF RED PITAIA EXPLANTS (*HYLOCEREUS UNDATUS*)

ABSTRACT: *The pitaia is considered one of the tropic fruits that has been gaining more space on the consumers' table due to its several health benefits, besides its pleasant taste. The method of in vitro propagation of pitaia has been gaining ground due to the several advantages since mass production in a small space, as well as the development of high quality seedlings. In view of this purpose, this study aimed to evaluate the influence of different BAP options on the rooting and length of the roots, in modified MS medium. Five BAP children (0.0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.0 mg L⁻¹) containing 4 experimental units (tubes containing an explant) were tested, with a random drawing of 100 tubes, divided into 5 degrees, and patterns 20 tubes with 4 repetitions of each treatment. After 80 days of inoculation, the number of basal and aerial roots and the average root length were counted. The configurations without the addition of BAP resulted in a greater result in all the variables analyzed. Thus, it is recommended for the in vitro rooting of explants of pitaya (*Hylocerus undatus*), modified MS medium without the addition of BAP.*

Keywords: *Micropropagation, cactaceae, 6-benzylaminopurine*

INTRODUÇÃO

Dentre o grupo de frutas tropicais exóticas, que atualmente no Brasil vem crescendo seu cultivo, podemos citar a pitaia (*Hylocereus undatus*) de casca vermelha e polpa branca, devido seu alto potencial agrônomo, valor econômico, sabor agradável, além de apresentar diversos benefícios para à saúde (LOPES et al., 2016).

Originária de florestas sombreadas e úmidas do México, América Central e América do Sul, é uma cactácea epífita, planta perene, composta por raízes adventícias que auxiliam desde da sustentação da planta, e também na fixação e obtenção de nutrientes (SILVA et al., 2011).

Conforme Román et al. (2014), a sua propagação pode ser por sementes, estaquia e atualmente vem crescendo estudos na parte da micropropagação, pois apresenta vantagens desde produção massal em um pequeno espaço, como também desenvolvimento de mudas de alta qualidade (MENEZES et al., 2012).

Segundo Couto et al. (2020), no processo de micropropagação é de suma importância a execução dos procedimentos adequados, tanto assepsia do material e local de trabalho, quanto a escolha do meio de cultura, por exemplo, o meio MS MURASHIGE; SKOOG (1962), onde serão fornecidos ao explante macronutrientes, micronutrientes, vitaminas e mio-inositol (JUNGHAS; SOUZA, 2013).

Podendo ser acrescentados neste meio reguladores de crescimento, como auxina, citocinina e giberelina, que desencadeiam respostas fisiológicas nos explantes, desde o seu desenvolvimento, auxiliando no processo de divisão celular (ARRUDA et al., 2019), sendo que esses reguladores de crescimento podem atuar sozinhos, ou em conjuntos com outras substâncias compondo o balanço hormonal (FAGAN et al., 2015).

Dentre os benefícios da adição desses reguladores ao meio de cultura para obtenção de plantas, podemos citar o enraizamento, sendo que plantas que apresentam número suficiente de raízes, poderão absorver mais nutrientes, além de fornecer arquitetura necessária para estabelecimento da planta em campo (COUTO et al., 2020), para que consiga se desenvolver ao meio *ex vitro*, onde as mudas formadas são retiradas dos frascos que apresenta um ambiente totalmente controlado de iluminação, solução nutritiva, para um novo ambiente que não existe este controle (RODRIGUES et al., 2018).

A citocinina BAP (6 benzilaminopurina) é um dos hormônios mais utilizados na micropropagação, devido ser responsável pela divisão celular, auxiliando na indução de brotos adventícios a partir de calos, podendo ser utilizados para indução de multibrotação de gemas axilares ou apicais (KERBAUY, 2012). Entretanto, em alguns experimentos podem-se perceber a influência da concentração de citocininas endógenas, na inibição do crescimento radicular (ARRUDA et al., 2018). Mesmo sendo relatados à utilização da citocinina, em diversas pesquisas com pitaia, necessita de estudo em relação a sua influência no enraizamento.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do meio MS modificado com diferentes concentrações de BAP no enraizamento *in vitro* de pitaia vermelha.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Micropropagação situado no núcleo de Química, do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - *Campus Barbacena*.

I. Estabelecimento *in vitro* dos explantes:

Cladódios de plântulas de pitaia vermelha de polpa branca (*Hylocereus undatus*) previamente germinadas e estabelecidas *in vitro*, e cultivadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) modificado acrescido de 8g/L de ágar, 0,1 mg L⁻¹ de ANA e BAP, foram utilizados como explantes. A seleção dos explantes, foi estabelecida quanto ao tamanho de 4 cm, com coloração verde clara.

Em câmara de fluxo laminar, em condições assépticas, com auxílio de uma pinça flambada, foi retirado o material vegetal do frasco, sendo colocado em prato inox. Após a seleção dos cladódios inteiros, de acordo com os critérios estabelecidos, foram submetidos ao *toalete*, que consiste na eliminação de raízes danificadas e escuras, e a diminuição do comprimento das raízes laterais e basais. Em seguida, os explantes foram inoculados individualmente na posição vertical em tubos de ensaio contendo 25 ml de meio MS modificado autoclavados. Durante 80 dias os tubos foram mantidos em sala de crescimento com regime de 16 horas de luz, temperatura 25 ± 2° C e fotoperíodo intensidade luminosa de 27 μmol m⁻² s⁻¹.

Tabela 1. Composição do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) modificado, testado para o cultivo *in vitro* de explantes de pitaia vermelha.

Table 1. Composition of the modified MS culture medium (Murashige & Skoog, 1962), tested for *in vitro* cultivation of red pitaia explants.

Macronutrientes	Concentração do MS (mg L ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1650
(NH ₄) ₂ H ₂ O	1362
Ca(NO ₃) ₂ H ₂ O	2433,2
KNO ₃	1900
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27,8
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,3

Micronutrientes	Concentração do MS (mg L⁻¹)
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Na ₂ M0O ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Componentes orgânicos	Concentração do MS (mg L⁻¹)
Tiamina - HCL	0,1
Piridoxina - hcl	0,5
Ácido nicotínico	0,5
Glicina	2,0
Mio - inositol	100
Sacarose (g)	15 g
Reguladores de crescimento	Concentração do MS (mg L⁻¹)
ANA	1,0
GA ₃	1,0
BAP (Tratamento 1)	0,0
BAP (Tratamento 2)	0,25
BAP (Tratamento 3)	0,50
BAP (Tratamento 4)	0,75
BAP (Tratamento 5)	1,0

Os tratamentos utilizados no experimento consistem em Tratamento 1: 0,0 mg L⁻¹ de BAP; Tratamento 2: 0,25 mg L⁻¹ de BAP; Tratamento 3: 0,50 mg L⁻¹ de BAP; Tratamento 4: 0,75 mg L⁻¹ de BAP e Tratamento 5: 1,0 mg L⁻¹ de BAP. O pH dos meios de cultura foram ajustados para 5,8 antes da inclusão do ágar.

Cada tubo de ensaio constituiu de 25 ml de meio de cultura e submetidos a autoclavagem durante 20 minutos em temperaturas de 120°C e pressão de 1,05 Kg.cm⁻².

Aos 80 dias de cultivo, analisaram-se as seguintes variáveis: número de raízes basais e aéreas e o comprimento médio de raízes, sendo o comprimento das raízes medidas com uma fita métrica graduada em centímetros, a partir da inserção da raiz no cladódio até seu tamanho máximo.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com 5 tratamentos (5 concentrações de BAP), com 5 repetições (blocos) e sendo utilizado 4 unidades experimentais (tubos contendo um explante). A distribuição dos tratamentos foi de acordo o sorteio, realizado ao acaso, dos 100 tubos que foram divididos em 5 grades, com 20 tubos por grade, sendo 4 tubos (unidade experimental) de cada tratamento.

A análise estatística para as variáveis raízes basais e aéreas por explante, foi através da equação de regressão, realizadas no programa R versão 3.2.2 (2019). Sendo realizada, uma análise descritiva quanto o comprimento das raízes por gráfico de barra.

RESULTADOS

As concentrações de BAP influenciaram negativamente no enraizamento dos explantes de pitaia. Houve uma diminuição no número de raízes nas diferentes concentrações de BAP, sendo que no modelo de regressão linear verificada através da Figura 1, a maior média (4,65) para esta variável, foi obtida sem a adição de BAP no meio de cultura.

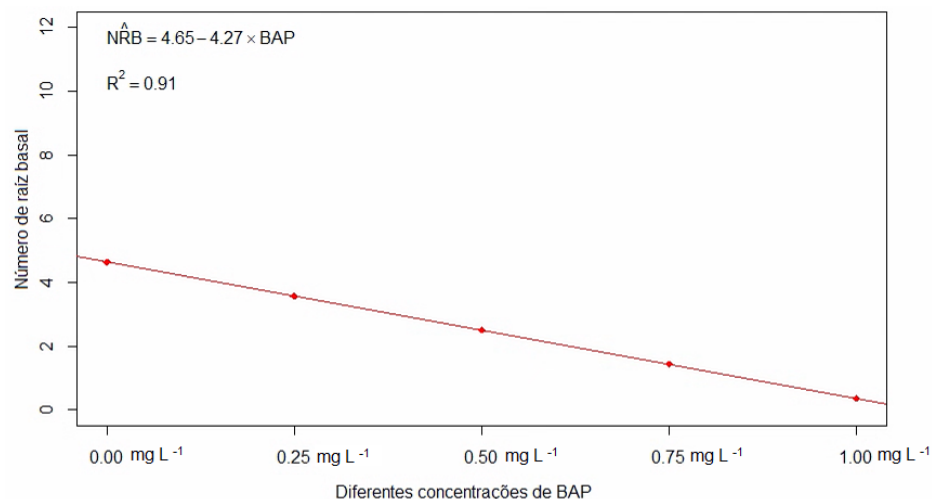


Figura 1. Tendência comportamental do número de raízes basais em explantes de pitaia vermelha em função da adição de diferentes concentrações de BAP ao meio de cultura após 80 dias de inoculação.

Figure 1. Behavioral trend in the number of basal roots in red pitaia explants as a function of addition of different concentrations of BAP to the culture medium after 80 data of inoculations.

Os resultados obtidos em relação à raiz aérea na Figura 2, através da regressão quadrática, observa-se que na ausência do BAP houve a maior média (1,57) na quantidade de raiz.

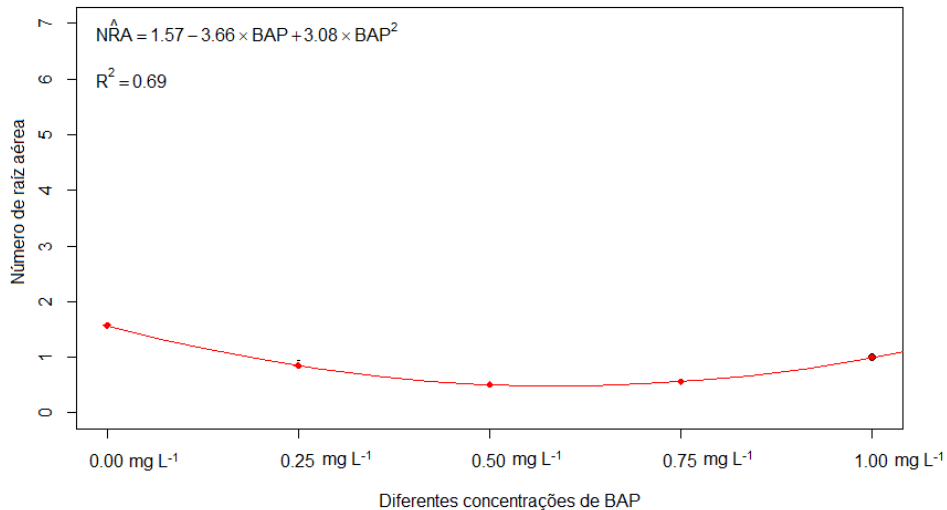


Figura 2. Tendência comportamental do número de raízes aérea em explantes de pitaia vermelha em função da adição de diferentes concentrações de BAP ao meio de cultura após 80 dias de inoculação.

Figure 2. Behavioral trend in the number of aerial roots in red pitaia explants as a function of addition of different concentrations of BAP to the culture medium after 80 data of inoculations.

Em relação à soma das médias dos comprimentos da raiz basal e aérea, observou-se que os explantes de pitaia, apresentaram maiores comprimentos de raízes (tanto basal e aérea) no meio de cultura sem adição de BAP.

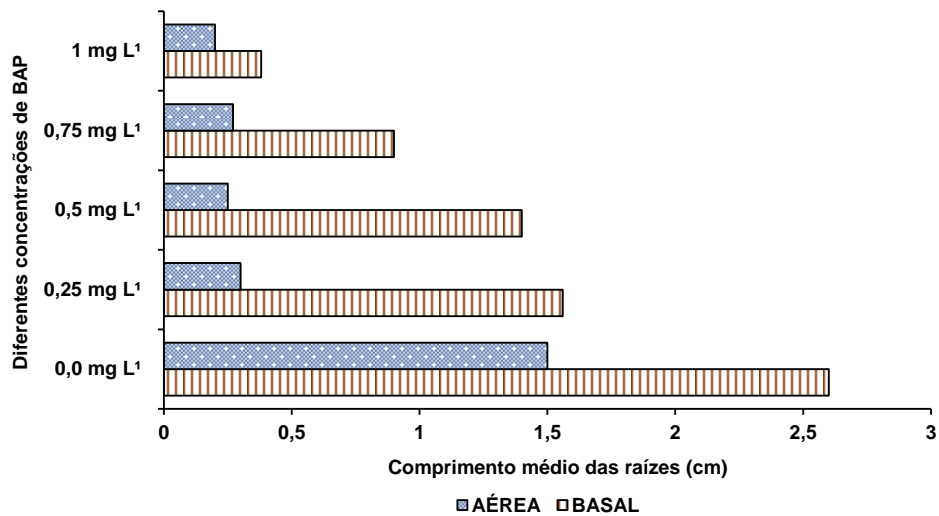


Figura 3. Soma das médias dos comprimentos das raiz basal e aérea, por explante em pitaia vermelha em função da adição de diferentes concentrações de BAP ao meio de cultura após 80 dias de inoculação.
 Figure 3. Sum average of the lengths shoots emitted by explant in red pitaia as a function addition of different concentrations of BAP to the culture medium after 80 days of inoculation.

DISCUSSÃO

No presente estudo, mesmo apresentando enraizamento em todas as doses testadas, foi constatado que as concentrações de BAP inibiu o sistema radicular basal e aéreo, sendo, que a maior presença de raiz foi verificada apenas na ausência do regulador de crescimento (Figura 4).

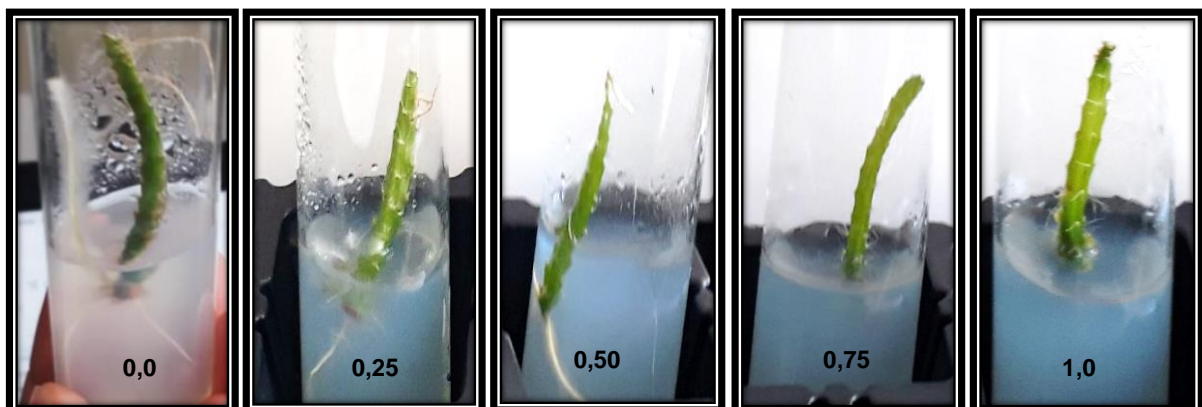


Figura 4. Enraizamento de explantes de pitaia vermelha em função da adição de diferentes concentrações de BAP ao meio de cultura.
 Figure 4. Rooting of red pitaia explants due to the addition of different concentrations of BAP to the culture medium.

Os mesmo resultados encontrados neste estudo, em relação à formação do sistema radicular, foram verificados por Menezes et al. (2012), e por Gonçalves et al. (2020), na micropropagação de pitaiá vermelha, onde, na ausência do BAP os explantes de pitaiá (*Hylocerus undatus*) apresentaram maior concentração de raízes e quando se aumentou as concentrações de BAP no meio de cultura houve diminuição na sua concentração.

Este fato pode ser justificado que mesmo ocorrendo uma alta concentração de BAP nas raízes, para que aconteça o crescimento radicular é necessário ter uma interação entre os hormônios auxina e citocina (TAIZ et al., 2017). Além de comprovar que em explantes de pitaiá (*Hylocerus undatus*), para que ocorra o enraizamento é desnecessária a aplicação exógena de BAP, pois da mesma forma que em explantes de manjeriço, eles enraízam facilmente *in vitro* na ausência de BAP (COSTA et al., 2015).

Conforme Couto et al. (2020), geralmente baixas concentrações ou até mesmo a não adição da auxina, em algumas espécies ou plantas, são suficiente para ocorrência do acréscimo de raízes em plantas *in vitro*. Já em algumas espécies de plantas, como, por exemplo, a do presente estudo, é necessário que ocorra uma regulação antagonista entre os fitorreguladores auxina e BAP para o desenvolvimento de raízes (FAN et al., 2017).

Sendo constatados em diversos estudos, que os reguladores de crescimento interagem entre si, acarretando desde o crescimento radicular, entretanto em alguns casos ocasiona um efeito inibitório, como, por exemplo, o hormônio etileno que é inibidor do surgimento de raízes (PETRICKA et al., 2012; VANSTRAELEN; BENKOVÁ, 2012). Segundo Street (2015), o impedimento do sistema radicular é devido à utilização de citocininas através da sinalização do etileno, onde, afetam o alongamento radicular ocasionado pela citocinina e parcialmente bloqueados pela ação dos inibidores do etileno, em virtude das enzimas da rota de biossíntese do etileno serem regulados pelo BAP (ZD 'ÁRSKÁ, 2013).

As concentrações de BAP agiram de forma negativa tanto na formação quanto no comprimento das raízes (cm). Os mesmos resultados encontrados nesse

estudo em relação ao comprimento das raízes (cm), foram também verificados por Menezes et al. (2012), Gonçalves et al. (2020) na micropropagação de pitaia vermelha e por Monfort et al. (2012), no cultivo *in vitro* de *Ocimum selloi* Benth, onde na ausência da BAP houve maior comprimento das raízes. Isto indica que não há necessidade da adição de BAP para o desenvolvimento do comprimento das raízes (cm).

Este fato está relacionado à inibição de raízes em altas concentrações de BAP, acarretando um menor comprimento radicular (cm), devido ocasionar um efeito fitotóxico, visto que afetará no balanço hormonal entre auxina e citocina, e o decréscimo da auxina afetará no comprimento das raízes (MONFORT et al., 2012), promovendo apenas o desenvolvimento da parte aérea.

CONCLUSÕES

Conclui-se que adição de BAP (6 benzilaminopurina) no meio de cultura MS modificado, utilizado no experimento, não favoreceu positivamente no número e nem no comprimento de raízes de plântulas de pitaia (*Hylocerus undatus*). Portanto, os melhores resultados dos parâmetros avaliados foram obtidos no tratamento sem adição de BAP.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, A. L.; BUSS, M.; NERBASS, F.R.; RUFATO, L. CONCENTRAÇÕES DE CITOCININA INFLUENCIAM A MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE KIWIZEIRO. *Evidência, Joaçaba* v. 19, n. 1, p. 45-56, jan./jun. 2019. DOI:<https://orcid.org/0000-0001-9545-7035>.
- ARRUDA, A.L.; SILVA, P.S.; GRIMALDI, F.; RICHTER, A.F.; RUFATO, L.; KRETZCHMAR, A.A. Multiplicação in vitro do porta enxerto de macieira G.202. *Revista Científica Rural. Bagé*. v.20, n.2. set. 2018.
- COSTA, A.S. da; BLANCK, M. de F.; SILVA, J. H. S.; TORRES, M. F.; SANTOS, O. N. A.; BLANCK, A. F. Multiplicação in vitro e indução de calos embriogênicos em híbrido de manjeriço. *Scientia Plena, Sergipe*, v.11, n.1, p.1-12, 2015.
- COUTO, R. T.; ARAUJO, J. S. P.; ALMEIDA, L. M.; AGUILAR, J. P. ENRAIZAMENTO IN VITRO DE CULTIVARES DE *Gerbera hybrida* (ASTERACEAE). *Revista Científica Rural, Bagé*. v.22, n.1, p.125-142. mar./mai. 2020. DOI:<https://doi.org/10.30945/rcr-v22i1.3207>.
- COUTO, T. R.; ARAUJO, J.S. P.; ALMEIDA, L. M.; AGUILAR, J. P. L. ENRAIZAMENTO IN VITRO DE CULTIVARES DE *Gerbera hybrida* (ASTERACEAE). *Revista Científica Rural, Bagé-RS*, v. 22, n. 1, p. 125 – 140, 2020
- FAGAN EB, Ono EO, Rodrigues JD, Chalfun J, Dourado Neto D (2015). *Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais*. 1ª edição. Editora Andrei. 302p.
- FAN, S.; JIANB, D.; WEI, X.; CHEN, J.; BEESON, R. C.; ZHOU, Z.; WANG, X. Micropropagation of blueberry ‘Bluejay’ and ‘Pink Lemonade’ through in vitro shoot culture. *Scientia Horticulturae*, v. 226, p. 277-284, 2017.
- GONÇALVES, M. J.; CAMARGO, S. S.; ARRUDA, A. L.; RUFATO, L. Rápida produção de mudas de pitaita (*Hylocereus undatus*, Cactaceae) por meio da técnica da micropropagação. *Acta Biológica*. v.7, n.1, p. 75-81, jan./mar. 2020.

- JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos práticos da micropropagação de plantas. 2 ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 407p.
- KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 431 p.
- LOPES, C. A.; DIAS, G. M. D.; PIO, L. A. S.; SILVEIRA, F. A.; RODRIGUES, F. A.; PASQUAL, M. Indução de calos, potencial embriogênico e estabilidade genética em pitaia vermelha. *Agrária*, Recife, v.11, n.1, p.21-25, out./ fev. 2016. DOI:10.5039/agraria.v11i1a5355.
- MENEZES, T. P. D.; GOMES, W. A.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha, *Hylocereus undatus haw.* *Bioscience Journal*, Uberlandia, v.28, n.6, p. 868-876, nov./dez 2012.
- MONFORT, L.E.F.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; ROSSI, Z.T.T.; SANTOS, F.M. Efeito do BAP no cultivo in vitro de *Ocimum selloi* Benth. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.14, n.3, p.458-463, dez./fev 2012
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tabacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Kobenhavn, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PETRICKA, J. J.; WINTER, C, M.; BENFEY, P. N. Control of Arabidopsis Root Development. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, v.63, p.563- 590, 2012. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042811-105501.
- R CORE TEAM (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 30 ago 2019.
- RODRIGUES, D.; ASSIS, A. M.; PEIL, R. M. N.; SCHUCH, M. W. RESÍDUOS AGRÍCOLAS PARA ACLIMATIZAÇÃO DE *Oncidium Baueri Lindl.* *Revista Científica Rural*, Bagé-RS, v.20, n.2, p. 102-112, mar./jul. 2018. <https://doi.org/10.30945/rcr-v20i2.288>.

ROMÁN, R. S. S.; CAETANO, C. M.; RAMÍREZ, H.; OSORIO, J. G. M. Multiplicación de *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) e *Hylocereus polyrhizus* (pitahaya oja) vía organogénesis somática. *Acta Agronómica*, v. 63, n. 2, p. 272-281, nov./jan. 2014. DOI:10.15446/acag.v63n3.40980.

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

STREET, I. H.; AMAN, S.; ZUBO, Y.; RAMZAN, A.; WANG, W.; SHAKEEL, S, N.; KIEBER, J. J.; SCHALLER, G. E. Ethylene inhibits cell proliferation of the Arabidopsis root meristema. *Plant Physiology*, v.169, p.338-350, 2015. DOI: 10.1104/pp.15.00415.

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

VANSTRAELEN, M.; BENKOVÁ, E. Hormonal Interactions in the Regulation of Plant Development. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, v.28, p.463- 487, 2012. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155741

ZD'ÁRSKA, M.; ZATLOUKALOVÁ, P.; BENÍTEZ, M.; ŠEDO, O.; POTEŠIL, D.; NOVÁK, O.; SVACINOVÁ, J.; PEŠEK, B.; MALBECK, J.; VAŠICKOVÁ, J.; ZDRÁHAL, Z.; HEJÁTKO, J. Proteome analysis in arabidopsis reveals shoot and root specific targets of cytokinin action and differential regulation of hormonal homeostasis. *Plant Physiology*, v.161, p.918-930, 2013. DOI: 10.1104/pp.112.202853.