

CULTIVO IN VITRO DE PITAYA

Vitor Alexandre Moral Castilho Baraldi Kok¹
Daniela Defavari do Nascimento²

¹Aluno Fatec Piracicaba; e-mail: vitoralexandreicastilho@gmail.com
²Professora Fatec Piracicaba; e-mail: daniela.nascimento01@fatec.sp.gov.br

Área do conhecimento: 5.01.03.04-0

Palavras-chave: Micropropagação. Clonagem vegetal. Biotecnologia.

INTRODUÇÃO

A pitaya é conhecida popularmente como “Fruta do dragão” em países orientais, porém sua origem é mexicana, e foi cultivada no Brasil na década de 90, a fruta é escamosa possuindo três variedades para o consumo: pitaya vermelha, pitaya amarela e pitaya branca a mais conhecida (MASCARENHAS, 2018). Essa fruta exótica tem muitos benefícios para a saúde, tem pouco lipídios, o que pode auxiliar na dieta equilibrada, ajudando com prevenção de doenças crônicas como diabetes e câncer, e ajuda a combater o envelhecimento precoce (MELO, 2021).

Um dos desafios a ser vencido é a produção e obtenção de mudas selecionadas a partir de plantas adaptadas a região sudeste, possibilitando um futuro plantio comercial. Com isso, a micropropagação aparece como alternativa viável para obtenção de plantas livres de patógenos e para a obtenção de elevada quantidade de plantas, em curto período de tempo.

OBJETIVO

Estabelecer protocolo para micropropagação de pitaya.

METODOLOGIA

Foram utilizados cladódios de plantas cultivadas e já estabelecidas in vitro, no campus da Fatec Piracicaba “Dep Roque Trevisan” como explantes. A Pitaya usada no estudo foi a espécie *Hylocereus undatus*, (pitaya branca).

Após coletados os explantes foram lavados com detergente neutro por cinco minutos e transferidos para um recipiente com água destilada autoclavada. Após a lavagem, os explantes foram levados para a câmara de fluxo para a realização de assepsia com solução de hipoclorito de sódio comercial por 2 minutos, seguida de lavagem em solução e etanol 70% por 30 segundos. Após, foram então enxaguados em água autoclavada e inoculados nos meios de cultura.

O preparo dos meios foi feito conforme os tratamentos empregados: P1 – 50% dos sais do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Anexo 1); P2 – 50% dos sais do meio MS + 0,1mg L⁻¹ de BAP; P3 – 50% dos sais do meio MS + 0,5mg L⁻¹ de BAP; P4 – 50% dos sais do meio MS + 1,0mg L⁻¹ de BAP; P5 – 50% dos sais do meio MS + 1,5mg L⁻¹ de BAP. Todos os meios foram suplementados com sacarose (30 g L⁻¹) e agente solidificante phytigel (2,4 g L⁻¹). O pH foi aferido para 5,7±0,1 antes da autoclavagem (esterilização) a 120°C e 1 Kg f cm⁻¹ por quinze minutos.

A incubação foi realizada em sala climatizada de crescimento com temperatura 25 ± 3 °C, sob fotoperíodo de 16 horas de luz.

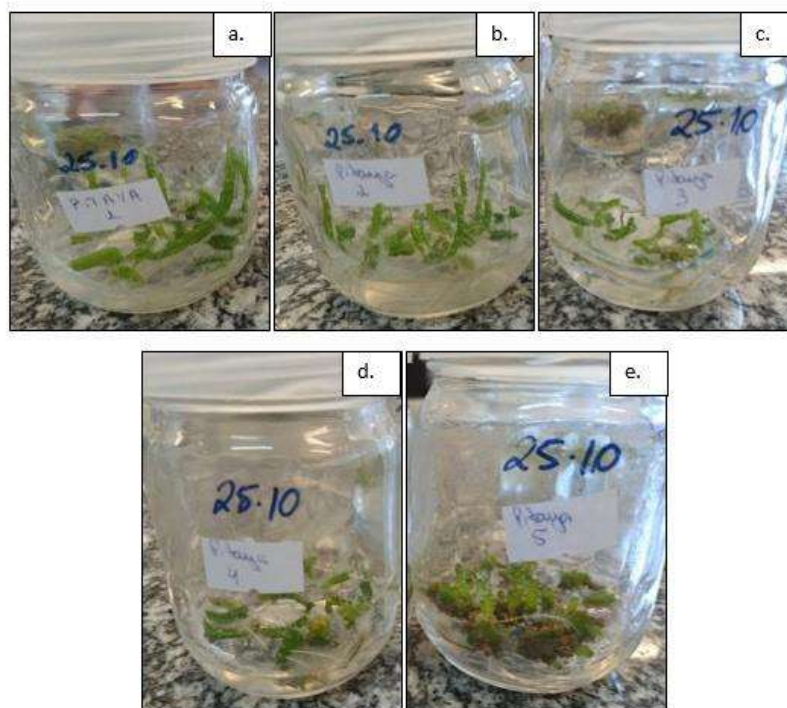
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Num primeiro experimento, foi utilizado material in vitro como fonte de explantes. Desta forma, foi possível estabelecer o experimento com uma perda mínima por contaminação de apenas 5%. Logo após inoculação nos diferentes tratamentos com concentrações crescentes de BAP, foi possível observar diferenças características relacionadas à formulação do meio. Quanto maior a concentração de BAP

maior foi o aparecimento de brotos e menor a formação de raízes, conforme pode ser observado na figura 1.

Após 60 dias da inoculação, contagem geral de explantes remanescentes e do número de brotos formado em cada um deles foi feita. A partir destes dados, procedeu-se o cálculo da média de brotos obtidos por explante para cada tratamento, conforme pode ser observado na tabela 1. Através da análise destes resultados fica evidente que quanto maior a concentração de BAP no meio, maior o número de brotos. No entanto, é necessário mencionar também que os brotos obtidos no meio P5 se apresentaram mais intumescidos que os demais, indicando possível mutação somaclonal. Tais alterações genéticas tendem a aparecer de forma proporcional à concentração de hormônios usados nos meios de cultura (MENEZES et al., 2012).

Figura 1: a. P1, b. P2, c. P3, d. P4 e e. P5. Após 60 dias da inoculação pode-se observar diferença no crescimento de raízes, bem menor no tratamento P5.



Fonte: Elaboração própria.

Optou-se, após estes 60 dias da inoculação nestes meios com BAP, por fazer a transferência de todo este material para meio de cultura controle (P1), visando crescimento dos brotos obtidos e possível enraizamento dos mesmos. Após período de mais 60 dias, foi possível observar que todos brotos emitiram raízes, embora aqueles provenientes dos meios com as concentrações mais altas de BAP tenham demorado mais. Procedeu-se nova contagem geral de explantes remanescentes (não perdidos por contaminação) e do número de brotos obtido em cada um. (Tabela 1).

Mesmo após transferência do material para o meio controle (P1), vários brotos continuaram a aparecer. As plantas obtidas inicialmente na formulação P5 continuaram se apresentando mais intumescidas que as demais. Outra observação feita é que os cladódios que foram inoculados deitados no meio, apresentaram mais brotos que aqueles inoculados verticalmente (dados não apresentados).

Um segundo experimento foi estabelecido contemplando apenas as concentrações de meios onde se obtiveram melhores resultados, tratamentos P3, P4 e P5. Assim, novos explantes, também provenientes de material in vitro foram inoculados.

Após 30 dias da inoculação foi possível observar desenvolvimento de novos brotos em cada explante (Tabela 2). Passados 45 dias da inoculação, explantes não contaminados, meios P3 e P4 apenas (tratamento P5 contaminou), foram transferidos para meio P1 (sem hormônio). Passados mais 15 dias, nova contagem de brotos obtidos foi feita e apresentada na tabela 2.

Tabela 1: Número médio de novos brotos por explante, obtidos após 60 e 120 dias de inoculação em cada um dos tratamentos com concentrações crescentes de BAP (P1 a P5).

Tratamento	Brotos / Explante	
	60 dias	120 dias
P1	0,94	0,67
P2	1,71	1,50
P3	2,64	4,59
P4	2,67	5,25
P5	8,54	4,39

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 2: Número médio de brotos por explante, obtidos após 30 e 60 dias de inoculação, em cada um dos tratamentos com concentrações crescentes de BAP (P3 a P5).

Tratamento	Brotos / Explante	
	30 dias	60 dias
P3	2,9	11,1
P4	4,65	6,8
P5	3,9	-

Fonte: Elaboração própria.

Pelas tabelas 1 e 2 fica evidente que a melhor concentração de BAP está entre 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹, representada pelos tratamentos P3 e P4, respectivamente. O que corrobora com resultados obtidos por Zugue (2019), que obteve maior número de brotos e taxa de multiplicação entre as doses 0,6 e 0,9 mg.L⁻¹. Como o processo in vitro pode propiciar alterações genéticas, como a polissomatia, endopoliploidia ou endoreduplicação em plantas micropropagadas de pitaya, e quanto maior a concentração de hormônios, mais alterações são observadas (MENEZES et al., 2012), sugere-se aqui usar 0,5 mg.L⁻¹ de BAP. Trabalho similar desenvolvido na Turquia, usando uma variedade chamada cometa Halley, onde melhor coeficiente de multiplicação de plantas foi obtido em meio MS suplementado com 2,0 m.L⁻¹ de BAP (BOZKURT et al., 2020), o que indica que diferentes variedades podem apresentar respostas distintas quanto ao BAP.

Um terceiro e último experimento foi estabelecido, visando micropropagar pitaya a partir de explantes de plantas do campo. Para isso, cladódios foram colhidos, cortados, lavados em água corrente com detergente neutro, depois foram transferidos para recipiente, em câmara de fluxo laminar, contendo hipoclorito de sódio (50%) e H₂O previamente autoclavada por 15 minutos. Passados os 15 minutos, foram transferidos para solução de álcool 70% por mais 5 minutos e finalmente enxaguados 3 vezes com H₂O autoclavada. Ainda sob condições de assepsia, os explantes foram repicados, para remoção de tecido oxidado e inoculados. Os meios usados foram as formulações testadas no segundo experimento: P3, P4 e P5, porém 100% dos explantes contaminou. Quando se colhe do campo, é normal presença maior de contaminação, mesmo que se tome todos os cuidados na manipulação. Não foi assertivo da primeira vez, sendo indicada repetição futura do procedimento, testando-se soluções de assepsia mais fortes e maior tempo de imersão nas mesmas. Uma vez que a perda por oxidação e morte do material vegetal não foi observada, procedimento de assepsia mais severo pode ser viável.

CONCLUSÃO

O meio P3 – 50% dos sais do meio MS + 0,5 mg.L⁻¹ de BAP é o meio mais indicado para micropopagação de pitaya in vitro.

Um mês e 13 dias, é tempo suficiente para induzir brotação nos explantes.

Inocular os explantes na posição horizontal melhora formação de brotos e crescimento de raiz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOZKURT, T.; NAN1, S.; DÜNDAR, I. Micropropagation of different pitaya varieties. International Journal of Agricultural and Natural Sciences. E-ISSN: 2651-3617 13(1): 3946, 2020

MASCARENHAS, KARINA. Pitaya, 2018. Acesso dia 16 de fevereiro de 2022. Disponível em <https://www.ufla.br>

MELO, CAROL. Diário nordeste, 2021. Acesso dia 16 de fevereiro de 2022. Disponível em <https://diariodonordeste.verdesmares.com.br>

MENEZES, T.P.; GOMES, W.A.; PIO, L.A.S.; PASQUAL, M.; RAMOS, J.D. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha, *Hylocereus undatus* HAW. Biosci. J., Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 868-876, Nov./Dec. 2012.

ZUGUE, P.G.U. Produção de Mudas de Pitaya Através da Micropropagação. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área Fruticultura de Clima Temperado da Universidade Federal de Pelotas. 69p. 2019.

AGRADECIMENTOS

Meu muito obrigado ao CNPQ, aos funcionários e professores da Fatec Piracicaba, a minha orientadora Daniela Defavari do Nascimento, e a minha colaboradora de laboratório Juliana kok Duarte Moral Castilho.