

Edvan Alves Chagas³⁵

Patrícia Silva Flores³⁶

Rafael Pio³⁷

Pollyana Cardoso Chagas³⁸

Maria da Conceição da Rocha Araújo³⁹

Hélida Mara Magalhães⁴⁰

1 Introdução

A palavra pitaya é de origem indígena e significa fruto de escama (Junqueira et al., 2002). As Pitayas compreendem diferentes gêneros da família Cactaceae, a citar: *Hylocereus*, *Stenocereus*, *Selchicereus*, *Selenicereus*, *Mediocactus*, *Cereus*, *Acanthocereus*, e têm como centro de origem as florestas tropicais da América Latina e atualmente encontram-se distribuídas pela Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil, Colômbia e México (Canto, 1993). As espécies mais cultivadas são *H. undatus*, popularmente conhecida como pitaya vermelha ou roxa e *S. megalanthus* ou pitaya amarela ou colombiana (Mizrahi et al., 1997; Nerd et al., 2002).

35 Eng. Agr., D.Sc., Pesquisador da Embrapa Roraima. Rod. BR 174, km 08, C.P. 133, Distrito industrial, CEP 69301-970, Boa Vista-RR. E-mail: edvan.chagas@embrapa.br. Bolsista Produtividade em Pesquisa do CNPq

36 Eng. Agr., D.Sc., Pesquisadora da Embrapa Acre. Rod. BR 364, km 14, CEP 69900-056, Rio Branco-AC. E-mail: patricias.flores@embrapa.br

37 Eng. Agr., D.Sc., Professor da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA). C.P. 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG. E-mail: rafaelpio@hotmail.com.br. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq

38 Eng. Agr., D.Sc., Professora da Universidade Federal de Roraima (CCA/UFRR), BR 174, Km 12, Monte Cristo, CEP 69300-000, Boa Vista-RR. E-mail: pollyana.chagas@ufr.br

39 Bióloga, Doutoranda do Curso de Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte (UFAM/UFRR/Embrapa Roraima). BR 174, Km 12, Monte Cristo, CEP 69300-000, Boa Vista-RR. E-mail: nilmacoly@hotmail.com

40 Eng. Agr., D.Sc., Professora da Universidade Paranaense (UNIPAR). Email: helidamara@hotmail.com

Algumas pitayas possuem propriedades medicinais e outras comercializadas como ornamentais, mas seu uso mais conhecido é na alimentação, podendo ser consumidas *in natura* ou na forma de sorvetes, vinhos e saladas. O interesse no cultivo de pitayas tem aumentado por representar uma alternativa para o desenvolvimento da fruticultura em zonas áridas e semi-áridas (Mohamed-Yasseen, 2002). A fruta é amplamente consumida na Ásia que é o principal fornecedor para o mercado europeu, seguido por Israel (Le Bellec et al., 2006). No Brasil, a produção de pitayas ainda é incipiente, concentrando-se principalmente no estado de São Paulo, onde tem despertado o interesse dos fruticultores devido ao maior consumo de frutas exóticas e ao seu valor comercial (Bastos et al., 2006).

2 Técnicas da cultura de tecidos em pitayas

As pitayas podem ser propagadas via germinação de sementes (Martínez-Cárdenas et al., 2003), ou vegetativamente através da estaquia (Mizrahi & Nerd, 1999; López et al., 2000; Mizrahi et al., 2002; Hazarika, 2003; Razdan, 2003; Bastos et al., 2006; Andrade et al., 2007).

Apesar dos métodos convencionais de propagação de cactos serem satisfatórios, eles podem apresentar algumas dificuldades como o crescimento lento das plantas obtidas de sementes e a variabilidade genética que pode afetar negativamente a produção e qualidade de frutos, além da susceptibilidade ao *damping-off* (Hernández, 2000; Drew & Azimi, 2002).

Técnicas de cultura de tecidos podem superar as limitações associadas aos métodos de propagação convencional, como a produção de mudas saudáveis e tornando o processo de obtenção das mudas mais rápido. Há pouca informação sobre o uso destas técnicas com pitaya (Orea & Meandro, 2007) e os trabalhos têm se concentrado principalmente no desenvolvimento de protocolos para o estabelecimento de plantas *in vitro* e micropropagação via organogênese. Poucos trabalhos são encontrados sobre embriogênese somática, androgênese,

ginogênese e resgate de embriões, visando dar sustentação a programas de melhoramento.

A cultura de tecidos de cactáceas normalmente é iniciada partir de segmentos de plântulas obtidas da germinação *in vitro* (Infante, 1992; Drew & Azimi, 2002; Qing-Feng 2002; Mohamed-Yassen 2002; Pelah et al., 2002; Moebius-Goldammer, 2003; Martínez-Cárdenas et al., 2007) ou à partir de anteras (Garcia et al., 2009a) e óvulos (Garcia et al., 2009b).

2.1 Germinação *in vitro*

Para a germinação *in vitro* de sementes de cactáceas são utilizados meios de cultura com alta concentração de sais, como o meio Murashige & Skoog (1962) (MS) (Moebius-Goldammer, 2003). Martínez-Cárdenas et al. (2007) observaram a germinação de 95% das sementes de *Stenocereus griseus in vitro* em meio MS sem adição de reguladores de crescimento. Rêgo et al. (2009), trabalhando com germinação *in vitro* de sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru*) obtiveram 60% de germinação com a utilização de meio MS acrescido de 2,5 mg.L⁻¹ de sacarose.

2.2 Micropropagação

Para a organogênese *in vitro* em explantes de segmentos caulinares de diferentes espécies de pitaya, vários autores têm relatado a necessidade de suplementar o meio de cultura com auxinas em combinação com citocininas.

Segundo Martínez-Cárdenas et al. (2007), em segmentos de plântulas obtidas da germinação *in vitro* de sementes de *S. griseus* foi observada a produção de maior número de brotações e de melhor qualidade em meio de cultura suplementado com 0,1 mg.L⁻¹ de ácido indol acético (AIA) juntamente com 0,1 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP). Infante (1992) também observou que o uso de BAP juntamente com uma auxina (ácido naftaleno acético - ANA) suplementando o meio de cultura MS

proporcionou a proliferação de brotações axilares a partir de explantes de segmentos caulinares de plântulas de pitaya amarela (*M. coccineus*).

Para a multiplicação de brotações em culturas de *H. undatus* obtidas de segmentos caulinares de plântulas, Mohamed-Yasseen (2002) observou a produção de maior número de brotações suplementando o meio MS com 0,5µM de ANA e 0,5µM thidiazuron (TDZ). O autor observou que a remoção dos ápices caulinares dos explantes resultou em número maior de brotações que aqueles em que foram mantidos os ápices.

Além da presença dos ápices caulinares interferirem na resposta de explantes de segmentos caulinares de *H. undatus*, Drew & Azimi (2002) observaram que a produção de brotações foi afetada pelo tamanho dos explantes, sendo maior a produção a partir de explantes de maior tamanho. Os autores observaram a produção de brotações em meio isento de reguladores de crescimento, apesar de a adição de 5 µM de 2iP reduzir o tempo para iniciação de brotações.

Ao contrário da maioria dos autores que relataram sucesso na micropropagação de pitayas a partir de segmentos caulinares, Pelah et al. (2002), ao avaliar o potencial organogênico de diferentes partes de plântulas de *S. megalanthus*, verificaram que segmentos cotiledonares são mais responsivos que segmentos de hipocótilos ou epicótilos. Os autores obtiveram a máxima produção de primórdios foliares em segmentos proximais de cotilédones em meio MS suplementado com 200 µM de TDZ.

Durante a fase de enraizamento, alguns autores têm relatado a necessidade da adição de reguladores de crescimento ao meio para induzir a rizogênese em pitayas. Mohamed-Yasseen (2002) e Pelah et al. (2002) utilizaram ANA para promover o enraizamento de brotações de pitaya *in vitro*, sendo observado bom desenvolvimento das mudas quando transplantadas para o solo. Resultado semelhante foi obtido por QingFeng (2002), que com a utilização de ANA obteve uma taxa de enraizamento de 96% e sobrevivência de 86% das mudas.

Orea & Medrano (2007) utilizaram substratos comerciais autoclavados para o enraizamento e aclimatização de plantas

de *Hylocereus undatus* obtidas *in vitro*, sem utilização de reguladores de crescimento. O método foi eficiente para a aclimatização das mudas, com taxas de enraizamento e sobrevivência acima de 90%. Segundo os autores, a *H. undatus* possui grande capacidade de adaptação quando transferida do ambiente *in vitro* para condições *ex vitro*, bem como grande capacidade de enraizamento das brotações, tendo em vista que não foi necessária a adição de regulador de crescimento para que o processo ocorresse. Resultado semelhante foi obtido por Drew & Azimi (2002) e Martínez-Cárdenas et al. (2007), que observaram o enraizamento de brotações de pitaya independente da aplicação de reguladores de crescimento no meio de cultura. Em um processo de micropropagação, o enraizamento das brotações sem a necessidade da adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura representa redução nos custos de produção de mudas de pitaya.

2.3 Embriogênese somática

A regeneração de plantas por organogênese é mais frequentemente relatada que a indução de embriões somáticos em cactáceas (Moebius-Goldammer et al., 2003). A embriogênese somática normalmente é obtida pelo fornecimento de altas concentrações de auxina ao meio de cultura e baixas concentrações de citocinina.

Infante (1992) obteve calos embriogênicos a partir de cotilédones e raízes de plântulas de pitaya amarela (*Mediocactus coccineus*) obtidas da germinação *in vitro*, em meio MS contendo 2,7 ou 5,4 µM de ANA; houve desenvolvimento dos embriões somáticos em meio sem reguladores.

Garcia et al. (2009b) estudaram a embriogênese somática a partir da cultura de anteras de *Hylocereus polyrhizus*, *H. undatus* e *S. megalanthus* para obtenção de plantas haplóides de pitaya. Na androgênese, o pólen é forçado a seguir uma rota embriogênica que resulta na formação de plantas haplóides por

embriogênese somática direta ou indireta. As plantas haplóides podem então ser convertidas em homozigotas através de técnicas de duplicação do número cromossômico. Para algumas pitayas, que possuem um longo período juvenil, alto nível de heterozigose e que apresentam auto-incompatibilidade, esta técnica representa uma ferramenta muito útil para acelerar os programas de melhoramento genético das espécies quando comparadas as técnicas de melhoramento convencionais (Garcia et al., 2009b). Segundo os autores a resposta embriogênica foi altamente dependente da espécie. Em *Selenicereus megalanthus*, a embriogênese direta foi obtida facilmente em meio com ou sem regulador de crescimento e em *H. polyrhizus* foi obtido apenas um embrião somático com meio de cultura suplementado com 0,1 mg.L⁻¹ de TDZ. Em *H. undatus* os autores não obtiveram sucesso para converter os calos embriogênicos em plântulas em qualquer um dos meios testados.

Resultado semelhante foi observado com a utilização de óvulos para a indução da embriogênese somática em *Selenicereus megalanthus*, *Hylocereus polyrhizus* e *Hylocereus undatus* (Garcia et al., 2009a). Os autores testaram diferentes concentrações de sacarose em meio MS contendo 2,4-D e TDZ para a ginogênese a partir de óvulos não fecundados. Como no trabalho anterior, verificou-se que a melhor resposta foi obtida com *S. megalanthus*, indicando que a espécie apresenta grande competência para formar embriões somáticos. O uso de 0,18 e 0,26 M de sacarose foi fundamental para a regeneração direta ou indireta de plantas a partir dos embriões.

2.4 Cultura de embriões

O resgate de embriões *in vitro* é a técnica mais eficiente na cultura de tecidos, para produção de plantas a partir de embriões zigóticos imaturos provenientes de hibridações que produzem sementes inviáveis (Reed, 2004). Em hibridações interespecíficas em pitayas, a técnica representa uma ferramenta muito

útil no melhoramento da cultura, pois segundo Tel-Zur et al. (2004) a taxa de fecundação nestes cruzamentos é muito baixa.

Cisneros & Tel-Zur (2010) também salientaram a influência da sacarose nas respostas morfogênicas durante o resgate de embriões zigóticos provenientes do cruzamento entre *H. polyrhizus* e *H. undatus*. Para o resgate dos embriões, os autores inocularam óvulos fertilizados em MS (50%) suplementado com 680 µM de glutamina, 0,54 µM de ANA, 0,45 µM de TDZ, 0,17 M de sacarose e 0,25% de Gelrite. O embrião foi isolado depois de quatro semanas e transferido para meio MS (50%) isento de reguladores de crescimento e com diferentes concentrações de sacarose para regeneração das plântulas. Os autores observaram que com 0,09 M de sacarose ocorreu a maior taxa de conversão dos embriões em plantas e que no meio contendo 0,17 M de sacarose ocorreu poliembrião a partir de um único embrião, o que é muito raro nestas cactáceas em condições naturais. Segundo os autores, a sacarose é um importante componente do meio de cultura para resgate de embrião de espécies de *Hylocereus*, regulando a pressão osmótica e servindo como fonte de energia para o adequado desenvolvimento dos embriões, funcionando também como um “gatilho” para a ocorrência de poliembrião *in vitro*, dependendo da concentração utilizada.

3 Considerações finais

O interesse em pitayas é recente e por esta razão, o conhecimento das técnicas para a produção de mudas *in vitro* é importante, porém escasso. Apesar de existirem poucos estudos sobre o assunto, observa-se que a técnica é viável para a multiplicação de pitayas, bem como para ser utilizada como ferramenta para auxiliar em programas de melhoramento genético da cultura. Verifica-se também que as respostas *in vitro* são muito dependentes da espécie, sendo necessário o desenvolvimento de protocolos próprios para cada uma delas. No entanto, a necessidade de suplementar o meio de cultura com auxinas e citocininas na fase de multiplicação das brotações e de ser re-

movido o ápice caulinar para permitir o desenvolvimento das brotações laterais, parece ser um aspecto em comum entre muitas espécies. As pitayas também apresentam certa facilidade no enraizamento e aclimatização, o que representa menor tempo para produção das mudas.

Em virtude da crescente demanda da pitaya pelos consumidores e fruticultores brasileiros e a carência de informações técnicas e científicas relacionada à multiplicação e produção de mudas *in vitro*, há necessidade premente de concentrar maiores esforços em estudos sobre a aplicação das diversas técnicas de cultura de tecidos para se obter maior êxito na produção de mudas de qualidade, bem como, avançar nos conhecimentos sobre a fisiologia da cultura e programas de melhoramento genético.

4 Referências

ANDRADE, R.A.; MARTINS, A.B.G.; SILVA, M.T.H. Influência da fonte de material e do tempo de cura na propagação vegetativa da pitaya vermelha (*Hylocereus undatus* Haw). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 183-186, dez. 2007.

BASTOS, D.C.; PIO, R.; SCARPARE FILHO, J.A.; LIBARDI, M.N.; PAES DE ALMEIDA, L.F.; GALUCHI, T.P.D.; BAKKER, S.T. Propagação da pitaya 'vermelha' por estaquia. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1106-1109, nov./dez. 2006.

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

CISNEROS, A.; TEL-ZUR, N. Embryo rescue and plant regeneration following interspecific crosses in the genus *Hylocereus* (Cactaceae). **Euphytica**, Wageningen, v. 174, n. 1, p. 73-82, jul. 2010.

DREW, R.A.; AZIMI, M. Micropropagation of Red Pitaya (*Hylocereus undatus*). **Acta Horticulturae**, Cairns, v. 575, n.1, p.93-98, abr. 2002.

GARCIA, R.B.; SCHNEIDER, B.; TEL-ZUR, N. Androgenesis in the vine cacti *Selenicereus* and *Hylocereus* (Cactaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 96, n. 1, p. 191-199, dez. 2009a.

GARCIA, R.B.; CISNEROS, A.; SCHNEIDER, B.; TEL-ZUR, N. Gynogenesis in the vine cacti *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 28, n. 1, p. 719-726, mai. 2009b.

HAZARIKA, B.N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Stanford, v. 85, n. 12, p. 1704-1712, dez. 2003.

HERNÁNDEZ, Y.D.O. **Hacia el conocimiento y la conservación de la pitahaya**. Oaxaca: IPN-SIBEJ-CONACYT-FMCN, 2000, 124p.

INFANTE, R. *In vitro* axillary shoot proliferation and somatic embryogenesis of yellow pitaya *Mediocactus coccineus* (Salm-Dyck). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 31, n.1, p. 155-159, nov. 1992.

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V.; RAMOS, J.D.; PEREIRA, A.V. **Documentos 62: Informações preliminares sobre uma espécie de pitaya do cerrado**. Embrapa: Planaltina, 2002, 18p.

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, Paris, v. 61, n. 1, p. 237-250, jul. 2006.

LÓPEZ, G.R.; DÍAZ, P.J.C.; FLORES, M.G. Vegetative propagation of three species of cacti: pitaya (*Stenocereus griseus*), tunillo (*Stenocereus stellatus*) and jiotilla (*Escontria chiotilla*). **Agrociencia**, Montecillo, v. 34, n. 3, p. 363-367, may-jun. 2000.

MARTÍNEZ-CÁRDENAS, M.L.; CARMONA, A.A.; CABREIRA, J.M.C.; VARELA, H. G. Germination Studies on *Stenocereus griseus* and *Escontria chiotilla*. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 598, p. 39-41, 2003.

MARTÍNEZ-CÁRDENAS, M.L., VICENTE-SOLANO, R.; MARTÍNEZ-HERRERA, A.; CARMONA, A.; VARELA, G.H. Survival and growth on soil of micropropagated pitaya de mayo plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 748, p. 237-240, ago. 2007.

MIZRAHI, Y.; NERD, A. Climbing and columnar cacti-new arid lands fruit crops. In: JANICK, J. (Ed.). **Perspective in new crops and new crops uses**. Alexandria: ASHS, p.358-366, 1999.

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

MIZRAHI, Y.; NERD, A.; SITRIT, Y. New fruits for arid climates. In: Janick, J.; Whipkey, A. (Eds.). **Trends in new crops and new uses**. Alexandria: ASHS, p.378-384, 2002.

MOEBIUS-GOLDAMMER, K.G.; MATA-ROSAS, M.; CHAVEZ-AVILA, V.M. Organogenesis and somatic embryogenesis in *Ariocarpus kotschoubeyanus* (lem.) K. Schum. (cactaceae), an endemic and endangered mexican species. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Berlin, v. 39, p. 388-393, jul./ago. 2003.

MOHAMED-YASSEEN, Y. Micropropagation of Pitaya (*Hylocereus Undatus* Britton et Rose). **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Berlin, v. 38, n. 5, p. 427-429, sep./oct. 2002.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plant**, Copenhagen v. 15, n. 3, p. 473-497, jul. 1962.

NERD, A.; TEL-ZUR, N.; MIZRAHI, Y. Fruits of vine and columnar cacti. In: **Cacti, Biology and Uses**. Nobel P. (ed.). University of California Press. Berkeley, U.S.A. pp. 185-197, 2002.

OREA, D.P.C.; MEDRANO, A.V. Pitahaya (*Hylocereus undatus*) Acclimatization: a pedagogical model. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 748, p. 195-198, 2007.

PELAH, D.; KAUSHIK, R.A.; MIZRAHI, Y.; SITRIT, Y. Organogenesis in the vine cactus *Selenicereus megalanthus* using thidiazuron. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 71, n. 1, p. 81-84, oct. 2002.

QINGFENG, H. *In vitro* culture of prism of *Hylocereus undatus*. **Fujian Journal of Agricultural Sciences**, China, v. 17, n. 3, p. 186-189, 2002.

RAZDAN, M.K. **Introduction to Plant Tissue Culture**. Science Publishers Inc. USA. 2003. 376p.

REED, S. Embryo rescue. In: Trigiano RN, Gray DJ (eds) **Plant development and biotechnology**. CRC Press, BocaRaton, FL, pp 235-239, 2004.

RÊGO, M.M.; ARAÚJO, E.R.; RÊGO, E.R.; CASTRO, J.P. *In vitro* seed germination off mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C.). **Revista Caatinga**, Moçoró. v. 22, n. 4, p. 34-38, out./dez. 2009.

TEL-ZUR, N.; ABBO, S.; BAR-ZVI, D.; MIZHRAHI, Y. Genetic relationships among *Hylocereus* and *Selenicereus vine cacti* (Cactaceae): evidence from hybridization and cytological studies. **Annals of Botany**, Londres, v.94, p.527-534, ago. 2004.