

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

**SIMULAÇÃO DE ESTRESSE ABIÓTICO NO CULTIVO *IN VITRO*  
DE PITAIA (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose)**

THAYNA COSTA NUNES



**Thayna Costa Nunes**

**SIMULAÇÃO DE ESTRESSE ABIÓTICO NO CULTIVO *IN VITRO* DE PITAIA  
(*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose)**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do curso de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Claudinéia Ferreira Nunes

Montes Claros, 2017

ICA/UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DA DISCIPLINA TRABALHO DE CONCLUSÃO  
DE CURSO II

Aluno (A): *Thaynã Costa Nunes*

Curso: *Agromecânica*

Orientador(A): *Claudineia Ferreira Nunes*

Título da Monografia: *Simulação de Estresse abiótico no cultivo in vitro de pitomba [Hylocereus undatus (Haw.) Britton &*

Local e data da defesa: Montes Claros MG, *24* de *novembro* de *2017*

Banca de avaliadores (Orientador e no mínimo mais dois membros):

Nome: *Claudineia Ferreira Nunes*

Assinatura: *C. Nunes* Nota(0 a 100 pontos): *95*

Nome: *Elka Fabiana Aparecida Almeida*

Assinatura: *E. Almeida* Nota(0 a 100 pontos): *95*

Nome: *Jailson Ramos Magalhães*

Assinatura: *J. Magalhães* Nota(0 a 100 pontos): *95*

Nome: *Laura Souza Santos*

Assinatura: *L. Santos* Nota(0 a 100 pontos): *95*

Média: *95*

Conceito Final: *A*

Aprovado(A):  Reprovado(A):

## **AGRADECIMENTOS**

A Nossa Senhora Aparecida por passar na frente de todos os obstáculos ocorridos ao longo do curso.

Á minha mãe Aldiele por cuidar tão bem de mim e me apoiar mesmo quando eu estava errada.

Ao meu Pai Magno que me ensinou o valor da terra e a lutar pelos meus objetivos.

Ao meu irmão e melhor amigo Carlosmagnum por me orientar e acreditar em mim, por me ensinar o valor dos estudos e me escutar nas horas de angústia e alegria.

Aos membros do GECULT e Laboratório de Biotecnologia pela ajuda, conversas na hora lanche e dedicação nas pesquisas.

A minha mestra professora, Claudinéia por me orientar de forma tão doce e paciente, oferecendo seu conhecimento e paixão pela cultura de tecidos.

Aos colegas que se tornaram amigos Allef, Mel, Rogério, Kelson, Manu, Eduardo, Lorena e William pelos trabalhos, farras, almoços, choros e convivência. Que nossa amizade se conserve além do ICA.

A família que escolhi: Camila, Maria Cecília, Paula, Adriana, Selma, Mariana, Paola e Gabriel que me acolheram na cidade de Janaúba no início da graduação e me ensinaram a ser uma pessoa melhor.

Ás amigas, Heloá, Ana Luiza, Anna Clara, Mellyne, por estarem sempre do meu lado.

A família Fiúza e Costa por acreditar no meu potencial.

**MUITO OBRIGADA!**

*“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito  
debaixo do céu. Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de  
plantar, e tempo de arrancar o que se plantou.”*

(Eclesiastes 3:1,2)

## RESUMO

A pitiaia vermelha de polpa branca (*Hylocereus undatus*) é uma fruta tropical da família das cactáceas. Fruta exótica e considerada promissora para o cultivo devido ao seu sabor diferenciado e rusticidade. Diferentes tipos de estresse podem afetar a produtividade da cultura da pitiaia, mesmo sendo uma espécie rústica e até mesmo restringir o seu cultivo. Em resposta à incidência de um determinado estresse, uma série de eventos acontece nas plantas e por esse motivo o estudo propõe simular *in vitro*, condições de déficit hídrico com diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG 6000) e de deficiência de oxigênio com doses crescentes de phytigel na germinação e desenvolvimento *in vitro* de pitiaia para observar seu comportamento morfofisiológico. Aplicou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco potenciais osmótico de PEG (0,0; -0,25; -0,5; - 0,67 e 1,03MPa ) e cinco diferentes concentrações de phytigel (1,8; 2,8; 3,8; 4,8 e 5,8 gL<sup>-1</sup>) sendo 15 repetições, uma semente por tubo de ensaio. Em câmara de fluxo as sementes passaram por assepsia com etanol 70% (v/v) por 1 minuto, hipoclorito de sódio 1% por 15 minutos e tríplice lavagem em água estéril. Posteriormente foram inoculadas individualmente em 15mL de meio MS, sendo distribuídas nos diferentes tratamentos. Após a finalização dos experimentos foram realizadas as seguintes avaliações: IVG, comprimento do cladódio, número e comprimento das raízes. Para o experimento (1) foi possível obter respostas significativas para o:IVG,comprimento e número de raízes e comprimento do cladódio. Estes parâmetros foram inversamente proporcional ao aumento da concentração de PEG, ou seja, potenciais hídricos que correspondem a um aumento da concentração de PEG,a partir de -0,5 MPa foram prejudiciais a germinação e o desenvolvimento das plântulas. No experimento (2) não houve diferença estatística para análises do cladódio e houve significância para comprimento e números de raízes das plântulas. A adição do phytigel na concentração de 3,8 gL<sup>-1</sup> simula uma camada de impedimento físico que também promove modificações morfológicas nas plântulas de pitiaia.

**Palavras-chave:** Agente osmótico. Camada de impedimento físico. Micropropagação.

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - A- Planta de Pitaia(hábito de crescimento); B-Cladódio ;C-Flor; D-Fruto.....                                   | 13 |
| Figura 2-Desinfestação e inoculação das sementes de pitaia vermelha de polpa branca em câmara de fluxo laminar.....       | 19 |
| Gráfico 1 – Índice de velocidade de germinação aos 60 dias de cultivo em meio MS com diferentes concentrações de PEG..... | 21 |
| Gráfico 2–Comprimento das raízes aos 60 dias de cultivo em meio MS com diferentes concentrações de PEG.....               | 23 |
| Gráfico 3–Comprimento do cladódio aos 60 dias de cultivo em meio MS com diferentes concentrações de PEG.....              | 24 |
| Gráfico 4 –Comprimento da raiz aos 60 dias de cultivo em meio MS com doses crescentes de Phytigel®.....                   | 25 |
| Gráfico 5–Número de raízes aos 60 dias de cultivo em meio MS com doses crescente de Phytigel®.....                        | 26 |

## LISTAS DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Tratamentos correspondentes às concentrações de polietilenoglicol (PEG 6000) conforme Michel <i>et al.</i> (1973) e potenciais hídricos induzidos..... | 18 |
|--|----|

## **LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**IVG**-Índice de velocidade de germinação

**MS** – Murashige e Skoog

**PEG**-Polietilenoglicol

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | 10 |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....  | 11 |
| 2.1 Frutíferas exóticas .....   | 11 |
| 2.2 Pitaia .....  | 11 |
| 2.3 Cultura de tecidos de plantas .....                                   | 14 |
| 2.4 Estresse abiótico .....   | 15 |
| 2.5 Estresse hídrico: condições in vitro .....                            | 15 |
| 2.6 Estresse por deficiência de O <sub>2</sub> : condições in vitro ..... | 16 |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....   | 17 |
| 3.1 Local .....   | 17 |
| 3.2 Material genético .....   | 17 |
| 3.3 Tratamentos .....   | 17 |
| 3.4 Condução do experimento .....   | 19 |
| 3.5 Avaliações .....  | 19 |
| 3.6 Análise Estatística .....   | 20 |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                                     | 20 |
| 4.1 Potencial hídrico induzido por polietilenoglicol: .....               | 20 |
| 4.2 Camada de impedimento físico induzido por Phytigel®: .....            | 25 |
| <b>5 CONCLUSÃO</b> .....  | 27 |
| <b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....                                 | 27 |

## 1 INTRODUÇÃO

A pitiaia (*Hylocereus undatus* (Haw) Britton & Rose) é uma frutífera exótica pertencente à família das cactáceas e por se adaptar a ambientes adversos foi introduzida em vários países. Suas características exuberantes, organolépticas e propriedades nutracêuticas chamam a atenção de fruticultores e consumidores (ORTIZ, 2014; RODRIGUES, 2017), além de ser uma frutífera com grande potencial econômico.

Sua propagação pode ser realizada por via sexuada e assexuada, tendo nessa segunda, a micropropagação como destaque, a qual proporciona uma produção em larga escala comercial de indivíduos geneticamente idênticos. Na cultura de tecidos, os materiais são cultivados em meio de cultura e em condições controladas de temperatura e luminosidade. Dessa forma, a condição laboratorial permite ao pesquisador simular condições desfavoráveis de cultivo, as quais podem ser encontradas pelas plantas em condições de campo, além também de proporcionar ao pesquisador o acompanhamento mais detalhado do comportamento fisiológico dos materiais, uma vez que estes se encontram *in vitro*.

Condições adversas, como por exemplo, a restrição hídrica e a deficiência de oxigênio podem ser simuladas *in vitro* com o objetivo de verificar o comportamento fisiológico de diferentes espécies, além de selecionar materiais que mesmo em situações de estresse sustentam seu desenvolvimento. Sabe-se que os estresses abióticos podem restringir o cultivo e afetar a produtividade das culturas.

Um dos objetos do presente estudo é a restrição hídrica, estresse abiótico que vem preocupando agricultores e em alguns casos dizimando lavouras, pois a água é um bem cada vez mais escasso. Taiz e Zeiger (2013) relatam com muita notoriedade a importância da água para as plantas. Para os autores, a água é fundamental para as plantas e fisiologicamente dizendo, é o constituinte mais abundante de sua fitomassa das plantas. A água é considerada o recurso mais abundante e mais limitante para o desenvolvimento e sobrevivência das plantas.

Outro tipo de estresse pouco estudado é a deficiência de oxigênio no solo, segundo objeto de estudo do trabalho. O estresse por deficiência de oxigênio está relacionado com a inundação e compactação do solo. Nessas condições o desenvolvimento da planta, em especial as raízes, sofrem limitações, prejudicando dessa forma a absorção de nutrientes e conseqüentemente a assimilação dos mesmos pela planta (LARCHER, 2000; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Assim, o estudo propõe simular *in vitro*, condições de déficit hídrico com diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG 6000) e de deficiência de oxigênio com doses crescentes de Phytigel® na germinação e desenvolvimento *in vitro* de pitaia para observar seu comportamento morfofisiológico.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Frutíferas exóticas**

A fruticultura é um dos setores de destaque no agronegócio brasileiro, ocupando o terceiro lugar no setor exportador. No ano de 2016, dados do IBGE mostraram que as exportações somaram US\$ 45 bilhões, sendo 49,99% pertencente ao setor de frutíferas e a expectativa da produção para 2017 será de aproximadamente 44 milhões de toneladas (IBGE, 2016).

É rotineiro encontrar frutas na mesa dos brasileiros, no entanto, estudos apresentam estatísticas que mostram que o consumo de frutas entre os brasileiros é inferior à quantidade recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Em contrapartida, a busca por uma vida mais saudável e pelo consumo de frutas não convencionais é crescente (CAVALCANTE, 2008), com destaque para as frutas exóticas.

A fruta é considerada exótica quando é oriunda de outros países, apresenta formato e sabor diferenciado, é rica em compostos antioxidantes, fibras e minerais. Por ser produzida em pequena escala chega ao mercado com alto valor agregado. Tais características tem chamado a atenção de fruticultores e comerciantes (WATANABE,2014).Alguns exemplos são: physalis (*Physalis peruvian*) lichia (*Litchi chinensis*), rambutan (*Nephelium lappaceum*), kiwano (*Cucumis metuliferus*), noni (*Morinda citrifolia*) e pitaia (*Hylocerous undatus*), objeto de estudo do trabalho.

### **2.2 Pitaia**

A pitaia é uma fruta exótica rústica que pertence à família cactáceae, originada nas Américas. É uma dicotiledônea com elevado potencial econômico, industrial e agrônômico (ORTIZ-HERNÁNDEZ,2012).

De acordo com os dados da Prohort (Programa Brasileiro de Modernização do Mercado Hortigranjeiro) em 10 anos, a comercialização do fruto teve um aumento de 175% no seu valor comercial chegando a 50,68 R\$/kilo da fruta, sendo os meses de dezembro a maio os de maiores

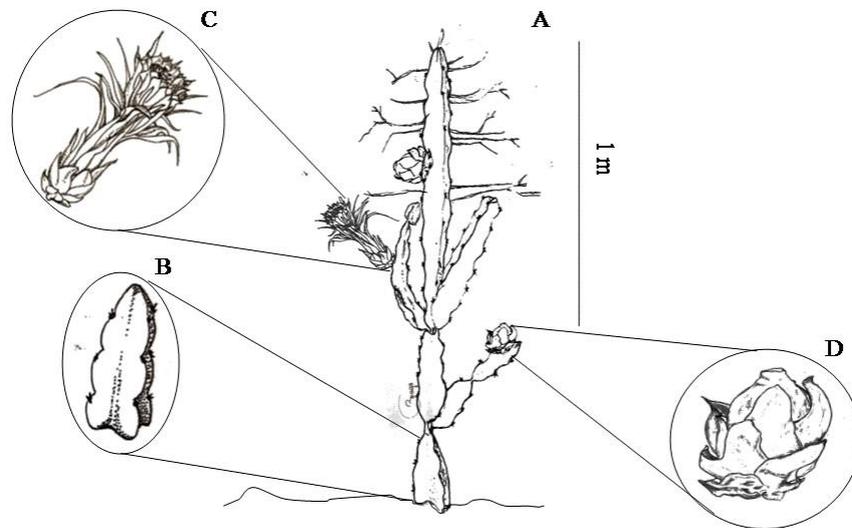
ofertas, podendo atingir 20t/ha toneladas de frutos (BASTOS *et al.*, 2006; WANTENEBA, 2014).

Existem três espécies de pitáia, a *Hylocereus undatus*, a pitáia branca (rosa por fora e branca por dentro), *H. monacanthus megalanthus*, a pitáia amarela (amarela por fora e branca por dentro) e *H. guatemalensis*, a pitáia vermelha (avermelhada por dentro e por fora) (ÓRTIZ-HERNÁNDEZ, 2012). A pitáia de polpa branca [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] é a mais facilmente encontrada, comercializada e cultivada no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo e Ceará (SILVA, 2014). A fruta tem se realçado pela exuberância dos frutos, sabor único, rusticidade e aptidão como planta ornamental (RODRIGUES, 2017).

A pitáia é conhecida por diversos nomes ao redor do mundo como: *Dragon fruit, red pitaya, strawberry pear, pitaya, night blooming e queen of the night* (CAVALCANTE, 2008). É uma planta semi-epífita, perene rupícola ou terrestre ramificada, com ramos trigonos ou trialados (DONADIO, 2009).

As flores são hermafroditas noturnas esbranquiçadas e perfumadas formadas na primavera e possuem mecanismos que inibe a autopolinização (MARQUES, 2008). Seu florescimento está relacionado ao fotoperíodo de dias longos com duração de 12 horas sendo que as flores se abrem a noite e fecham ao amanhecer. As raízes são superficiais, fasciculadas e podem assimilar baixos teores de nutrientes do solo (LE BELLEC *et al*, 2006). O caule é classificado morfológicamente como cladódio e apresenta, geralmente, a forma triangular, onde se encontra as aréolas e gemas axilares (SILVA, 2014). O fruto é uma baga indeiscente, de formato globoso a elipsoide, não climatério, sensível às injúrias causada pelo frio “*chilling*” (Figura 1). Além disso, é envolto por brácteas, com casca que difere sua coloração de verde a vermelho durante o período de maturação. A polpa é suculenta com inúmeras sementes pequenas e pretas ricas em ácidos graxos essenciais.

Figura 1:A-Planta de Pitaia(hábito de crescimento); B-Cladódio ;C-Flor; D-Fruto



Fonte: Marques, 2008.

Estudos como o de Menezes (2015) e Cavalcante (2008) afirmam que, para a produção em escala comercial, são necessários agentes polinizadores ou de manipulação das flores. O período entre o florescimento e a maturação dos frutos depende da região. Em Lavras-MG esse período varia entre 50 a 60 dias e em Jaboticabal – SP de 34 a 43 dias (SILVA, 2011).

A fruta pode ser consumida *in natura* ou utilizada em geleias, sorvetes, sucos, vinhos e saladas. O consumo da fruta *in natura* colabora com qualidade de vida e propicia uma ação benéfica para a saúde devido à suas características nutricionais, com alto teor de umidade, capacidade antioxidante, presença de potássio, cálcio, ferro e manganês, baixo teor de proteínas, vitaminas C e lipídios (JERONOMIO, 2016; CORDEIRO, 2015).

Por pertencer à família das cactáceas, o fruto possui o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) que beneficia o seu crescimento em regiões de seca e aridez, apresenta eficiência no seu desenvolvimento fisiológico, por armazenar água em seus tecidos e possuir crescimento lento (MARQUES, 2008).

A pitaia é uma espécie que pode ser propagada, pelos métodos vegetativo, seminífero ou propagação *in vitro*. O método vegetativo de estaquia é comumente utilizado no cultivo da pitaia por ser uma forma barata e rápida de originar plantas que florescem entre um ou dois anos após o plantio e obtêm pomares mais uniformes. Os cladódios são destacados de uma planta que, sob condições adequadas, emitem raízes e originam nova planta com características idênticas àquela

que lhe deu origem. Entretanto, esse procedimento gera materiais de baixa taxa de multiplicação. Outra técnica vegetativa é a enxertia, que origina uma nova planta pelo contato de duas partes de tecido vegetal, mas ainda não é um método utilizado comercialmente (SILVA 2014).

Na propagação seminífera o tempo do plantio à colheita pode demorar mais de três anos ou ser superior a sete. Essa forma de propagação apresenta elevada taxa de germinação, alta variabilidade genética e desuniformidade, características não desejáveis para plantação comercial (SILVA, 2005). Uma alternativa para produzir plantas uniformes em larga escala e num curto espaço é a utilização da técnica de propagação *in vitro*, os autores Mohamed-Yassen (2002), Rodrigues (2017), Ojeda-Zacarías *et al.* (2012) obtiveram sucesso no cultivo da espécie *H. undatus*.

### **2.3 Cultura de tecidos de plantas**

A cultura de tecidos engloba diferentes técnicas, as quais podem contribuir para o aumento da produção de plantas em escala comercial, com a vantagem de produzir indivíduos idênticos a planta-mãe. Tal evento é possível por considerar o fato de que uma única célula vegetal se adequadamente estimulada é capaz de se regenerar e dar origem a um novo indivíduo, uma nova planta, capacidade essa denominada de totipotência.

Na cultura de tecidos os explantes, sementes ou fragmentos vegetais da planta são cultivados em meio nutritivo artificial e asséptico, sob condições ambientais controladas, promovendo assim um ambiente propício para seu crescimento e desenvolvimento (CARVALHO *et al.*, 2006;).

Existem diversas técnicas aplicadas na cultura de tecido, as quais podem citar: cultivo de protoplastos, cultivo de anteras, microenxertia, suspensão celular, micropropagação, sementes sintéticas, embriogênese somática, organogênese e outras. A de maior aplicabilidade é a micropropagação, propagação vegetativa que consiste na produção de plantas saudáveis, em larga escala e em curto espaço de tempo, obtendo materiais com as mesmas características genéticas da planta-mãe.

Conforme Ulissees (2010) “as mesmas vias bioquímicas e metabólicas básicas que funcionam nas plantas em condição de campo são conservadas nas células cultivadas *in vitro*”, pelo meio nutritivo sólido ou líquido que fornece macro e micronutrientes, água, carboidratos, regulares de crescimento e outros aditivos específicos para uma fase específica de cultivo.

Nesse contexto, pode-se afirmar que a cultura de tecidos é uma ferramenta importante na compreensão de distúrbios morfológicos, fisiológicos e bioquímicos das plantas, fatores estes relacionados à consistência e componentes do meio de cultura (ALMEIDA, 2015). O cultivo *in vitro* permite, por exemplo, simular condições de estresse abiótico para o estudo da fisiologia e comportamento de diferentes espécies.

## **2.4 Estresse abiótico**

O estresse é um fator que exerce influência negativa sobre a planta e está relacionado com a aptidão dessa em enfrentar um ambiente desfavorável, induzido mudanças e respostas em todos níveis funcionais do organismo, os quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes. Alguns fatores de estresse são: deficiência de O<sub>2</sub>, estresse térmico, salinidade, congelamento e déficit hídrico, os quais limitam o crescimento das plantas e em consequência a produtividade (LARCHER, 2000; CARVALHO *et al.*, 2006;).

Para o presente trabalho é importante destacar dois fatores, o estresse causado por deficiência de O<sub>2</sub> e o déficit hídrico. O primeiro diminui a energia para sustentação dos processos fisiológicos, danifica as raízes, prejudica as partes aéreas e bloqueia a síntese de proteínas. Efeitos deletérios causados pela deficiência de O<sub>2</sub> são encontrados comumente em solos inundados ou compactados (PAIVA, 2006). Já o segundo afeta vários processos metabólicos das plantas, como o fechamento estomático, redução da condutância estomática, redução da fotossíntese e transpiração, levando ao declínio da taxa de crescimento (SILVA *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 2004; PORTES *et al.*, 2006).

## **2.5 Estresse hídrico: condições *in vitro***

O estresse abiótico de maior limitação para o crescimento vegetal é o estresse hídrico relacionado com a falta de precipitação em algumas épocas, ou seja, a falta de água do solo que diminui a disponibilidade de água do solo para as plantas (SANTOS, 1998).

A absorção da água ocorre do solo para as raízes por difusão e quando o solo seca, o seu potencial hídrico diminui, as plantas perdem turgor, murcham e há um aumento na concentração de solutos (OLIVEIRA, 2006).

A falta de água também influencia no processo de germinação das sementes. Conforme Ortiz (2012), o potencial osmótico inferior ao potencial das células dificulta a absorção de água, pois afeta a velocidade, porcentagem e tempo de germinação. Em condições *in vitro* é possível

simular condições de estresse e assim avaliar o comportamento, morfologia e fisiologia da planta com a utilização de agentes osmóticos.

Os agentes osmóticos limitam o crescimento dos explantes *in vitro* ao reduzirem o potencial hídrico no meio de cultura, conseqüentemente inibe a absorção de água e nutrientes pelo explante e diminui o vigor das plantas. Além disso, afetam a germinação das sementes de forma diferente devido suas diferenças químicas (ORTIZ, 2014; PEREIRA *et al.*, 2014). Para a simulação do estresse hídrico *in vitro* utilizam-se diferentes agentes osmóticos, tais como sacarose, manitol, sorbitol e PEG. O PEG é o agente osmótico comumente utilizado na restrição hídrica pois é atóxico e não é absorvido pelas células devido seu alto peso molecular. Entretanto pode provocar um atraso no processo germinativo das sementes (VILLELA *et al.*, 1991).

Alguns autores relatam o comportamento de diferentes plantas em condições de simulação *in vitro* de estresse hídrico utilizando o PEG, como Meneses (2007) que verificou um desenvolvimento maior da radícula em relação à parte aérea no cultivo *in vitro* do algodoeiro. Pelegrini *et al.* (2013) observaram que a simulação do déficit hídrico com o uso de Polietilenoglicol (PEG) inibiu drasticamente a germinação de corticeira-da-serra.

O uso de PEG para simular o estresse hídrico tem sido utilizado em várias espécies: *Erythrina falcata* (PELIGRINI *et al.*, 2013), *Ateleia glazioviana* (ROSA *et al.*, 2005), *Triticum aestivum* L. (FURLAN *et al.*, 2014) e *Hylocereus undatus* (ORTIZ *et al.*, 2013). Esses estudos concluíram que a germinação das sementes é inversamente proporcional a concentração de Polietilenoglicol, pois ocasiona a inibição do crescimento pelo efeito osmótico (KAZUO *et al.*, 2000). Assim como o agente osmótico PEG, as concentrações do agente geleificante Phytigel® afeta o potencial osmótico do meio de cultura. Além da indução do estresse hídrico promovido pelo PEG, outro fator relevante é o estresse causado pela deficiência de O<sub>2</sub> que também é objeto de estudo desse trabalho e que será tratado abaixo.

## **2.6 Estresse por deficiência de O<sub>2</sub>: condições *in vitro***

O estresse por deficiência de oxigênio está relacionado com a inundação e compactação do solo, pois o O<sub>2</sub> se distribuem lentamente nesses ambientes devido o preenchimento dos poros pela água e redução dos espaços gasosos nos solos. Livre de oxigênio no solo microrganismos anaeróbios transformam e criam um meio redutor liberando metabólitos que em altas concentrações são tóxicas as plantas (LARCHER, 2000; TAIZ e ZEIGER, 2013).

De acordo com Muller (2001), simular a compactação no meio de cultura, estimula as modificações metabólicas de cada espécie com o intuito de se adaptarem. A consistência do meio de cultura pode reduzir a quantidade de oxigênio no sistema radicular além de influenciar na absorção de nutrientes, o que causa efeitos indesejáveis no crescimento do explante (SIQUEIRA *et al.*, 2013).

O meio pode ser líquido, o que requer uma agitação para fornecer oxigênio necessário para a respiração vegetal e não utilizar agentes solidificantes, reduzindo os custos. No meio líquido há uma maior absorção dos nutrientes pelo contato direto pela epiderme das folhas, caules e raízes (ULISSES *et al.*, 2010).

Outro meio também rotineiramente utilizado é o sólido, sua consistência funciona como suporte para a planta e pode ser ajustado pela adição de agentes gelificantes como ágar ou Phytigel<sup>®</sup>. Um aumento nas concentrações desses solidificantes no meio de cultura pode dificultar a absorção dos nutrientes, causar anoxia no sistema radicular e conseqüentemente reduzir a multiplicação dos explantes (SIQUEIRA *et al.*, 2013; VASCONSELOS *et al.*, 2012). De acordo com Almeida (2015) análises de crescimento de plantas cultivadas *in vitro* podem auxiliar no entendimento do metabolismo, para o desenvolvimento de plantas que produzam em condições de estresses.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local**

O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia do Centro de Pesquisas em Ciências Agrárias (CPCA) no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, campus Montes Claros, no período de abril a outubro de 2017.

#### **3.2 Material genético**

As sementes foram doadas pelo setor de fruticultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras e ficaram armazenadas em pacote de papel em geladeira (10°C) até a montagem do experimento.

#### **3.3 Tratamentos**

Foram instalados dois experimentos.

### Experimento (1) Potencial hídrico induzido por polietilenoglicol:

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e quinze repetições, sendo uma semente por tubo de ensaio. Os tratamentos foram constituídos de cinco diferentes potenciais hídricos, que foram obtidos pela adição de polietilenoglicol (PEG 6000) durante o preparo do meio de cultura, conforme estabelecido por Michel *et al.* (1973), nas concentrações de 0 g.L<sup>-1</sup> (controle, tratamento 1), 24 g.L<sup>-1</sup> (tratamento 2), 48 g.L<sup>-1</sup> (tratamento 3), 96 g.L<sup>-1</sup> (tratamento 4) e 120 g.L<sup>-1</sup> (tratamento 5), que induziram potenciais hídricos médios de (0; -0,25 -0,50; -0,67 e -1,03 MPa), respectivamente (TABELA 1).

Tabela 1. Tratamentos correspondentes às concentrações de polietilenoglicol (PEG 6000) conforme Michel *et al.* (1973) e potenciais hídricos induzidos

| Tratamentos | Concentrações de PEG      |                    |
|-------------|---------------------------|--------------------|
|             | 6000 (g L <sup>-1</sup> ) | PEG $\Psi_w$ (MPa) |
| 1           | 0                         | 0                  |
| 2           | 24                        | -0,25              |
| 3           | 48                        | -0,5               |
| 4           | 96                        | -0,67              |
| 5           | 120                       | -1,03              |

Fonte: Do autor, 2017

Após a desinfestação as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura MS distribuídos nos diferentes tratamentos para indução do potencial hídrico com polietilenoglicol (PEG 6000), sendo o meio de cultura gelificado com 1,8 g L<sup>-1</sup> de Phytigel<sup>®</sup>.

### Experimento (2) Camada de impedimento físico induzido por Phytigel<sup>®</sup>:

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por cinco concentrações crescentes de Phytigel<sup>®</sup> (1,8; 2,8; 3,8; 4,8 e 5,8 g L<sup>-1</sup>) para a indução da camada de impedimento físico. Foram utilizadas quinze repetições, sendo uma semente por tubo de ensaio. As sementes foram inoculadas em tubos de ensaio distribuídos nos diferentes tratamentos, sendo composto por meio de cultura MS com diferente resistência, sendo a parte inferior do tubo composta por 10mL de meio gelificado com concentrações crescentes de de Phytigel<sup>®</sup> (1,8; 2,8; 3,8; 4,8 e 5,8 g.L<sup>-1</sup>) simulando a compactação do solo e a parte superior com 5mL de meio de cultura gelificado com 1,8 de Phytigel<sup>®</sup>.

### 3.4 Condução do experimento

As sementes foram lavadas em água corrente durante 20 minutos. Em câmara de fluxo laminar as sementes foram imersas em álcool 70% (v/v) por 1 minuto e em seguida no hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por 15 minutos em agitação constante, com posterior lavagem em água destilada e autoclavada por 4 vezes (Figura 1).

As sementes foram inoculadas individualmente em tubo de ensaio contendo meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  e 1,05 atm, durante 20 minutos. As culturas foram mantidas em ambiente de cultivo sob condições de luminosidade (fotoperíodo 16 h) e temperatura ( $26^\circ\text{C}$ ) controladas.

Figura 2. Desinfestação e inoculação das sementes de pitáia vermelha de polpa branca em câmara de fluxo laminar



Fonte: Do autor, 2017.

### 3.5 Avaliações

Aos 60 dias após a germinação foram realizadas as avaliações com base nos seguintes parâmetros: número de raízes, comprimento das raízes, diâmetro e comprimento do cladódio. Índice de velocidade de germinação (IVG) calculado de Maguire (1962), sendo:  $IVG = (G1 / N1) + (G2 / N2) + \dots + (Gn / Nn)$ , onde: G1 = número de sementes germinadas na primeira contagem; N1 = número de dias decorridos até a primeira contagem; G2 = número de sementes

germinadas na segunda contagem; N2 = número de dias decorridos até a segunda contagem; n = última contagem.

### **3.6 Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada no software R<sup>®</sup>. Os dados quantitativos foram submetidos à análise de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Potencial hídrico induzido por polietilenoglicol:**

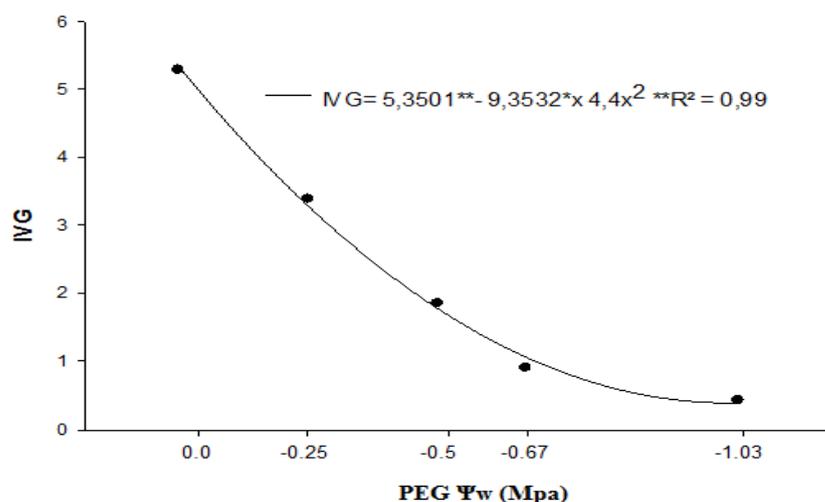
Ao término do experimento e com o objetivo de verificar o comportamento da germinação de sementes de pitaia em condição de estresse hídrico simulado por polietilenoglicol foi possível obter respostas significativas para as variáveis de crescimento avaliadas.

Para índice de velocidade de germinação apresentado no gráfico (1) pode-se observar que potenciais osmóticos mais negativos dificultam a germinação da semente. Os resultados revelam que a ausência de PEG no meio de cultivo é uma condição ótima para a germinação da semente, reduzindo essa resposta à medida que aumenta a concentração de PEG no meio, ou seja, o índice de velocidade de germinação reduz com a redução do potencial hídrico da solução de cultivo.

Potenciais hídricos que correspondem a altas concentrações de PEG, principalmente a partir de  $-0,67\text{MPa}$  no meio de cultivo prejudicam sensivelmente a germinação das sementes de pitaia, mas não impedem a ocorrência do processo. Para as condições apresentadas pode-se notar que a partir da concentração de  $-0,50\text{MPa}$  já pode considerar uma condição de estresse hídrico para sementes de pitaia, não sendo estes recomendados para a germinação e posterior desenvolvimento das plântulas de pitaia. Isso pode ser explicado pelo fato de que maiores concentrações de PEG reduzem os níveis de potencial osmótico das soluções.

O resultado apresentado no gráfico (1) demonstra que a semente precisa absorver água para germinar, então observa-se que nos tratamentos com maior concentração de PEG, correspondendo a um menor potencial hídrico, a semente tem sua absorção de água dificultada, ou seja, o menor potencial hídrico provavelmente limitou a realização do processo germinativo. Porém, mesmo considerando uma condição estressante, causada pelo agente osmótico PEG, as sementes conseguiram resistir tal condição e germinaram.

Gráfico 1 – Índice de velocidade de germinação de sementes de pitiaia aos 60 dias de cultivo em meio MS com diferentes concentrações de PEG.



Fonte:Do autor,2017.

O PEG no meio de cultura afeta o desenvolvimento da planta, pois à sua alta viscosidade impede a absorção de água pelos tecidos e,além disso, a baixa taxa de difusão de O<sub>2</sub> pode ter comprometido a disponibilidade de oxigênio para as sementes durante o processo germinativo (BRACCINI *et al.*, 1996).

A redução da germinação das sementes em maiores concentrações de PEG 6000 é atribuída basicamente à redução da quantidade de água absorvida pelas sementes, uma vez que não foram constatadas na literatura informações sobre possíveis efeitos tóxicos provocados pelo agente osmótico PEG 6000. Taiz e Zeiger (2013) atribuem o fato à aparente inibição da síntese e, ou, à atividade das enzimas hidrolíticas necessárias à germinação das sementes, com o aumento da concentração das soluções osmóticas.

Para a germinação de sementes, a absorção de água dá início a uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos no interior da semente, os quais, na ausência de outro fator limitante, resultam na emergência da plântula (BRACCINI *et al.*, 1998). No presente trabalho o fator limitante foi a diminuição do potencial osmótico causado pela adição do PEG em meio de cultivo. Tal evento permitiu a observação do comportamento de sementes de pitiaia e a resposta da germinação em condição de simulação de déficit hídrico.

Tais resultados se aproximam dos encontrados por Ortiz (2014), que em diferentes genótipos de pitiaia, o potencial osmótico mais negativo (abaixo de -0,25MPa) foi prejudicial ao vigor e viabilidade da semente. Ao comparar com outras espécies pode-se observar que os

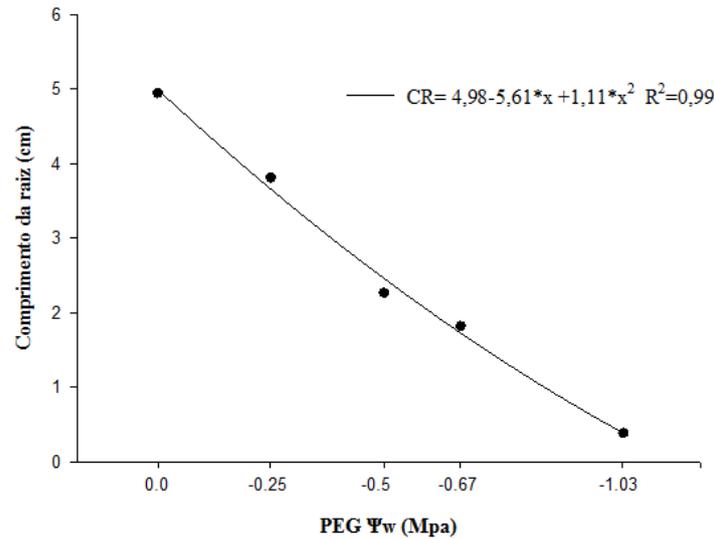
potenciais são próximos, como por exemplo, a espécie *Discocactus* da família das cactáceas estudada por Nascimento *et al* (2013), em que não se observaram germinação entre os potenciais -0,8 e -1,0 Mpa. Na espécie *Erythrina falcata* Benth. (Fabaceae) pesquisada por Pelegrini *et al* (2013), o limite para germinação está entre -0,2 e -0,4 MPa e para as espécies de *Eucalyptus* estudada por Martins *et al* (2014) verificou-se que o limite de germinação está entre -0,4 e -0,8 MPa.

É importante ressaltar que mesmo a pitiaia sendo uma planta rústica e possuidora de metabolismo CAM, a diminuição do potencial osmótico no meio de cultivo, simulado pelo agente estressante PEG foi capaz de promover uma condição de déficit hídrico, afetando sua germinação. Para Carvalho (2005), para cada espécie existe um potencial hídrico limitante, inferior ao qual as sementes não germinam.

Em relação ao comprimento da raiz, houve um decréscimo expressivo com o aumento da concentração de PEG conforme pode ser observado pelo Gráfico (2). Nota-se que a testemunha apresentou o maior comprimento, ou seja, o potencial hídrico para o tratamento com a testemunha é maior, sem a presença do agente osmótico. Nos potenciais osmóticos entre -0,67 e -1,03MPa houve uma redução drástica do comprimento das raízes de 1,8 para 0,3 cm. Tal fato pode ser explicado pela resposta ao déficit hídrico que tem como uma das suas consequências a diminuição da turgência e do processo de crescimento das células uma vez que as raízes são o principal meio de absorção da água pelas plantas (LARCHER,2000; TAIZ; ZEIGER,2013).

De acordo com Queiroz *et al* (1998) na cultura de *Phaseolus vulgaris*, assim como no presente estudo ocorreu uma redução acentuada da radícula à partir de -0,2Mpa, atingindo o valor zero de comprimento no potencial -0,8MPa. Já no *Gossypium hirsutum* o crescimento decresceu com valores próximos de -1,0MPa, havendo crescimento acentuado até -0,4 MPa (MENESES,2007). Resultado também encontrado por Almeida *et al* (2014) em plântulas de *Amburana cearensi*, confirmando que baixos níveis de potencial osmótico restringe a absorção de água inibindo o alongamento da radícula.

Gráfico 2 –Comprimento das raízes de plântulas de pitaia aos 60 dias de cultivo em meio MS com diferentes concentrações de PEG.

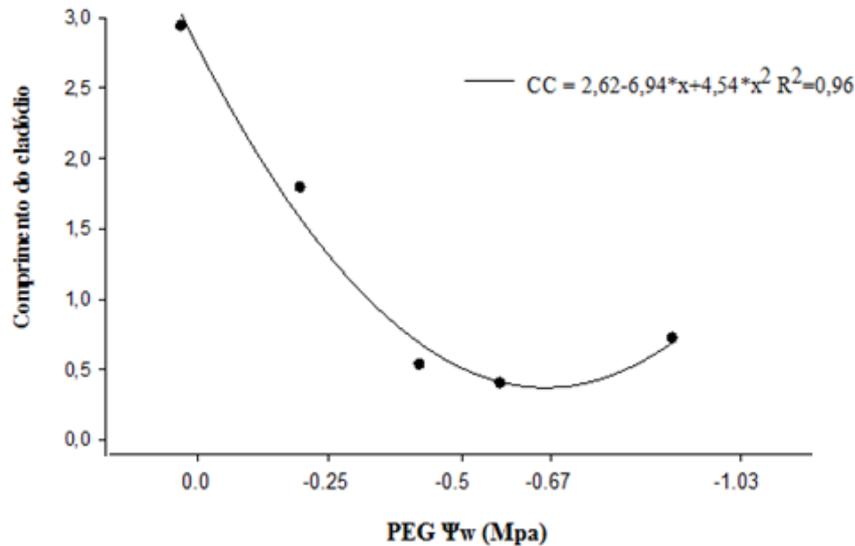


Fonte:Do autor,2017

O comprimento da parte aérea (cladódio) apresentado pelo gráfico (3) teve um comportamento similar ao do comprimento da raiz, também acentuando seu decréscimo no potencial -0,2MPa. A baixa disponibilidade de água atua reduzindo a velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos e, desta forma, as plântulas de pitaia em condições de menores potenciais hídricos apresentaram menor desenvolvimento, resultando em menor comprimento de plântulas e certamente menor acúmulo de matéria seca.

Giroto *et al.* (2012) trabalhando com sementes de trigo verificaram que para a maior concentração testada de potencial osmótico do agente PEG (-0,80MPa) não verificaram desenvolvimento satisfatório da parte aérea. Resultado similar aos observados para pitaia, onde altas concentrações também desfavoreceu o comprimento da parte aérea das plântulas.

Gráfico 3–Comprimento do cladódio de plântulas de pitaia aos 60 dias de cultivo em meio MS com diferentes concentrações de PEG.



Fonte:Do autor,2017.

Pelos resultados apresentados verificou-se que o desempenho das plântulas foi inibido pelos potenciais osmóticos mais negativos. As características comprimento das raízes e parte aérea foram severamente afetadas pelo estresse hídrico.

O PEG tem sido utilizado com sucesso em trabalhos de pesquisa para simular os efeitos do déficit hídrico nas plantas, por não penetrar nas células, não ser degradado e não causar toxidez, devido ao seu alto peso molecular (HASEGAWA *et al.*, 1984). De fato a presença do PEG no meio de cultivo não causou toxidez nas plântulas de pitaia e o que podemos inferir é que esse agente osmótico alterou o potencial hídrico do meio de cultivo provocando modificações no comportamento fisiológico das plântulas. Percebe-se que as respostas fisiológicas das plântulas de pitaia provavelmente é dependente da qualidade inicial das sementes quando submetidas a uma situação de estresse hídrico.

As respostas fisiológicas das plântulas de pitaia verificadas no trabalho podem ser explicadas por Taiz e Zeiger (2013). Os autores explicam que o primeiro efeito mensurável da baixa disponibilidade de água é a redução no crescimento das plantas, causada pela diminuição da expansão celular. O processo de alongamento celular e a síntese de parede são extremamente

sensíveis ao déficit hídrico e a redução do crescimento como consequência da diminuição do alongamento celular seria causada por um decréscimo na turgescência dessas células.

Para a pitaiá, cultura que vem conquistando produtores da região norte de Minas, trabalhos relacionados com condições de estresse hídrico são relevantes e podem responder algumas perguntas importantes que possivelmente irão colaborar para um melhor desempenho da cultura na região.

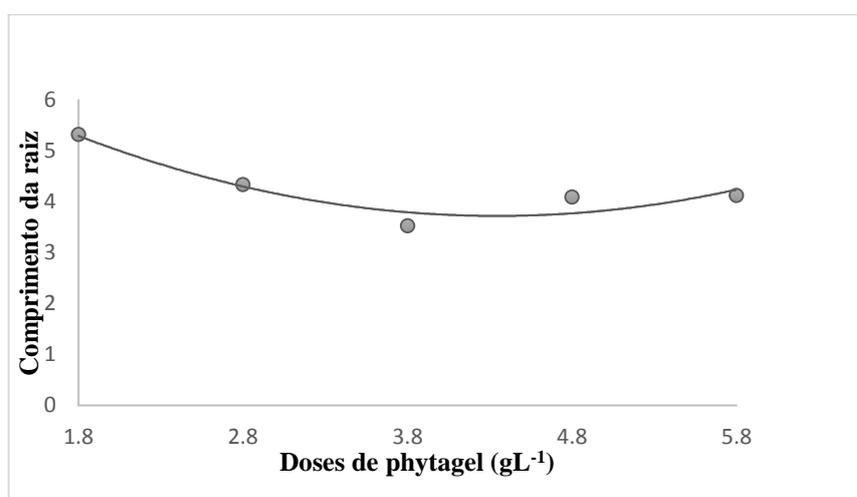
#### 4.2 Camada de impedimento físico induzido por Phytigel®:

Os parâmetros avaliados na simulação da deficiência de oxigênio induzido por doses crescentes de Phytigel® apresentou significância para o crescimento e número de raízes de plântulas cultivadas *in vitro* da pitaiá..

Pelo gráfico (4) verifica-se que o maior comprimento (5,32cm) foi obtido na menor dose de Phytigel® 1,8gL<sup>-1</sup>(testemunha), com redução significativa até a dose de 3,8gL<sup>-1</sup>, sendo essa a mais prejudicial ao comprimento das raízes. Observa-se um retorno do crescimento na dose 4,8gL<sup>-1</sup>, com comprimento médio de 4,09.

Diferindo do presente estudo, Almeida (2015) trabalhando com cultivares de *Musa sp.* teve o crescimento prejudicial das raízes na dosagem de 4, 8gL<sup>-1</sup>. Já Gopal (2007) utilizando o agente solidificador ágar, em genótipos de *Solanum tuberosum* na concentração de 6gL<sup>-1</sup> verificou um comprimento de 2,96cm e na concentração de 14 gL<sup>-1</sup> 86cm.

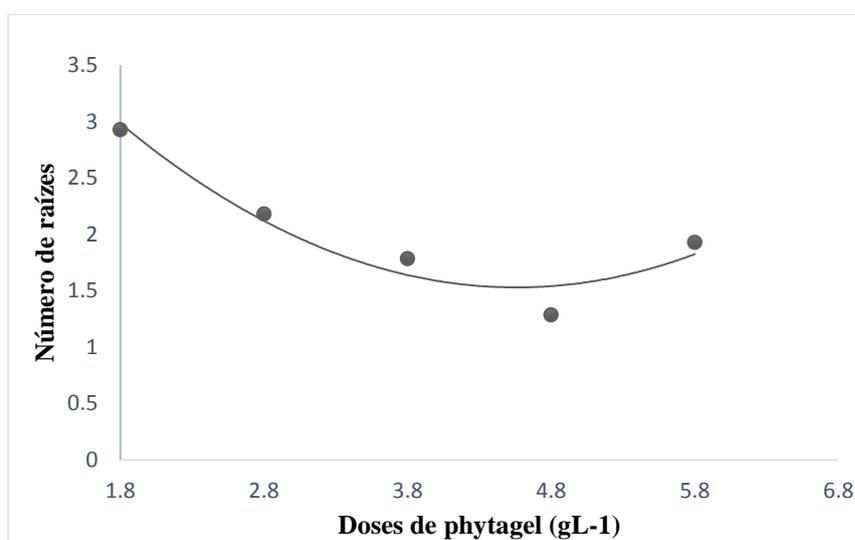
Gráfico 4 –Comprimento da raiz de plântulas de pitaiá aos 60 dias de cultivo em meio MS com doses crescente de Phytigel®.



Fonte: Do autor,2017.

Em relação ao número de raízes (Gráfico 5), os resultados foram semelhantes aos do comprimento de raízes, observando maior quantidade de raízes na menor concentração de Phytigel® 1,8gL<sup>-1</sup>(testemunha), visualizando uma diminuição dessa característica com o aumento das concentrações do agente gelificante até 4,8gL<sup>-1</sup>. Novamente se observa uma retomada do número de raízes após a dose de 4,8gL<sup>-1</sup>.

Gráfico 5 –Número de raízes de plântulas de pitiaia aos 60 dias de cultivo em meio MS com doses crescentes de Phytigel®.



Fonte:Do autor,2017.

O aumento das concentrações do agente gelificante afeta negativamente o desenvolvimento da plântula de pitiaia, pois aumenta a resistência do meio de cultivo, dificultando a absorção de água e nutrientes pelo explante. Sabe-se que para que ocorra os processos fisiológicos e bioquímicos referentes à germinação, deve haver uma boa disponibilidade de água para a semente. Uma condição de maior concentração de phytigel no meio de cultivo aumenta a resistência do mesmo e conseqüentemente limita o desenvolvimento do processo germinativo, comprometendo também as respostas fisiológicas de crescimento da plântula.

Tais resultados podem ser explicados por Siqueira *et al* (2013), onde os autores explicam que o aumento da consistência do meio de cultura pode causar sérios transtornos ao crescimento e desenvolvimento do explante, onde uma maior resistência, consistência do meio, reduz a quantidade de oxigênio. Gopal *et al* (2008) relatam que altas concentrações de phytigel também pode afetar o potencial osmótico reduzindo a quantidade de água do meio nutritivo e

de acordo com Almeida (2015) altas doses de Phytigel® no meio de cultura prejudica o desenvolvimento do sistema radicular.

Fazendo um paralelo do estado físico do meio de cultura solidificado com altas concentrações de Phytigel®, com solos compactados, podemos inferir que a estrutura do solo, assim como do meio de cultura, tem influência no crescimento e alongamento radicular das culturas, podendo dificultar a absorção de água e nutrientes. É importante destacar que as raízes são de fundamental importância para a nutrição das plantas, pois são estruturas responsáveis pela absorção de água e nutrientes, os quais são translocados via xilema para realização da fotossíntese.

Estudos de simulação de camada de impedimento em condições *in vitro* são relevantes e pode auxiliar estudos de fisiologia das plantas.

## 5 CONCLUSÃO

O polietilenoglicol é um osmorregulador que pode ser usado para simular as condições de déficit hídrico na cultura da pitáia *in vitro* em que a concentração de  $-0,67$  MPa é suficiente para promover modificações morfológicas e de potenciais osmóticos nas plântulas de pitáia.

A adição do Phytigel® na concentração de  $3,8$  gL<sup>-1</sup> simula uma camada de impedimento físico que também promove modificações morfológicas nas plântulas de pitáia.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. O. **Impedimento físico do crescimento radicular de bananeiras cultivadas *in vitro***.2015.50p.Dissertação (Mestrado acadêmico) —Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG,2015.

ALMEIDA,J.P. Estresse hídrico e massa de sementes na germinação e crescimento de plântulas de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith<sup>1</sup>. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 4, p. 777-787, out-dez, 2014.

ANDRADE, S. R. M. de. Princípios da cultura de tecidos vegetais. **Embrapa Cerrados- Documentos (INFOTECA-E)**,Planaltina-DF,16p,1ºed, 2002.

BASTOS, D. C. Propagação da pitaya ‘vermelha’ por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**,Lavras,2006.Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1590/S141370542006000600009>.Acesso: 20 de fev.2017.

BRACCINI, A. L.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C. S.; SEDIYAMA, T.; ROCHA, V. S. Influência do potencial hídrico induzido por polietilenoglicol na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, set 1998.

CAVALCANTE, I. H. L. **Pitaya: propagação e crescimento de plantas**. 2008. 94p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

CORDEIRO, M. H. M. *et al*. Caracterização física, química e nutricional da pitaya-rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 37, n. 1, p.20-26, mar. 2015.

DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, 2009, v.31, n° 13, set.

FURLAN, F. *et al*. Influência do potencial hídrico induzido por polietilenoglicol in vitro na morfologia do trigo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, 2014.

GIROTTO, L. *et al*. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 192-199, Apr. 2012.

GOMES, G. R. Família Cactácea: breve revisão sobre sua descrição e importância. **Revista Técnico-Científica do CREA-PR**, Paraná, v. 1, n. 2, p 1-10, 2014.

GOMES, M. M. A. *et al*. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 3, p. 155-161, Sept./Dec. 2004.

GOPAL J; IWANA K. In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. **Plant Cell Rep**, Japão, v 26, n 5, p 693-700, jan, 2007.

HASEGAWA, P.M. *et al*. Cellular mechanisms of tolerance to water stress. **HortScience**, Alexandria, v.19, n.3, p.371-377, 1984.

HASEGAWA, Paul M. *et al*. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual review of plant biology**, v. 51, n. 1, p. 463-499, 2000.

JERONIMO, M. C. **Caracterização química, físico-química, atividade antioxidante e avaliação dos efeitos citotóxicos da pitaya-vermelha [Hylocereus undatus (Haw.) Britton & Rose] cultivada no Brasil**. 2016. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)—Universidade de Brasília.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos[SP]: Rima Artes e Textos, 2000. 531p.

LE BELLEC F. Pollinisation et fécondation de *Hylocereus undatus* et de *H. costaricensis* à l'île de la Réunion, **Réunion Fruits**, v 59, n 6, p 411-422, 2005.

MARQUES, Virna Braga. **Germinação, fenologia e estimativa do custo de produção da pitaia [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose]**. 2010. 141p. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Lavras.

MARQUES, Virna Braga. **Propagação seminífera e vegetativa de pitaia (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose)**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras.

MARTINS, C. C.; PEREIRA, M. R. R.; LOPES, M. T. G. Germinação de sementes de eucalipto sob estresse hídrico e salino. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.

MENEZES, T. P. *et al.* Autopolinização e qualidade de fruto em pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*). **Magistra**, Cruz das Almas – BA, v. 27, n.3/4, p.387-394, Jul./Set.2015.

MENESES, C. H. S. G. *et al.* **Potencial hídrico induzido por polietilenoglicol-6000 no vigor de semente de algodoeiro**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 17p

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. “The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000” **Plant Physiology** 51.5 (1973): 914–916.

MULLER, M.M.L.; CECCON, G.; ROSOLEM, C.A. Influência da compactação o do solo em subsuperfície sobre o crescimento aéreo e radicular de plantas de adubação verde de inverno. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 3, p. 531-538, 2001.

NASCIMENTO, J. P. B. *et al.* Comportamento germinativo de sementes de dicocactus (cactácea) submetidas a estresses hídrico e salino. **In: CONGRESSO DE BOTÂNICA, 64ª**, 2013, Belo Horizonte.

OJEDA-ZACARÍAS, M. del. C. *et al.* Micropropagación de pitahaya, *Hylocereus undatus* (HAWORTH). **In: X Simposium-Taller Nacional y III Internacional “Producción y Aprovechamiento del Nopal y Maguey”**, 4, 2012, México. **Anais eletrônicos...** México: 2012.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, v. 3, n. 4, p. 220-237, 2012.

PAIVA,R.;OLIVEIRA,L. M. de. **Fisiologia e produção vegetal**. Lavras:Ed Lavras,2006.104p.

PELEGRINI, L. L. *et al.* Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, manitol e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata Benth.* **Ciência Florestal**, v. 23, n. 2, 2013.

PEREIRA, M. R. R. *et al.* Estresse hídrico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal** ,Uberlândia, mai /jun.2014.

PEREIRA, M. R. R. *et al.* Estresse hídrico induzido por soluções de peg e de nacl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, May/June, 2014.

QUEIROZ, M, F.; ALMEIDA, F. A.C.; FERNANDES, P. D.Efeito do condicionamento osmótico no vigor de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista brasileira engenharia agrícola ambiental**, Campina Grande , v. 2, n. 2, p. 148-152, Aug. 1998.

REZENDE, I. F. *et al.* Cultivo da pitaiá. **Boletim de Extensão**. São João Del-Rei-MG,2017.

RODRIGUES, M. A. **Micropropagação de pitaiá com ênfase em diferentes densidades de fluxo de fótons e organogênese indireta**.2017.65 p. Dissertação (Mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras.

ROSA,L. S.Avaliação da germinação sob diferentes potenciais osmóticos e caracterização morfológica da semente e plântula de *Atelia glazioviana* Baill (Timbó).**Cerne**,set,2005.

SANTOS,R. F.; CARLESSO,R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológico das plantas. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, Campina Grande,v. 2, n.3, p. 287-294, Dec. 1998.

SILVA, A. C. C. **Produção e qualidade de frutos de pitaya (*Hylocereus undatus*)**.2011.53p.Dissertação(Mestrado em produção vegetal).-Universidade Estadual Paulista,Campus Jaboticabal.

SILVA, A. C. C.**Pitaya: Melhoramento e produção de mudas**.2014.132p.Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

SILVA, N. D. G. *et al.* Conservação in vitro de amoreira-preta: Crescimento lento. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 7-12, 2016.

SIQUEIRA, D. L. *et al.* Micropropagação da bananeira ‘Maçã’, cultivada in vitro em diferentes volumes de meio líquido. **Revista Ceres**, v. 60, n. 6, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae). **Annals of Botany**, Japan, v. 85, n. 3, p. 391-396, mar, 2000.

ULISSES, C. *et al.* Clonagem vegetal. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p. 86-91, 2013.

VILLELA, A. F.; FILHO, L. D.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.

WATANABE, H. S.; DE OLIVEIRA, S. L. Comercialização de frutas exóticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 23-38, 2014.