



JULIE PINTO QUINTÃO

**INDUÇÃO AO ESTRESSE SALINO NA
MICROPROPAGAÇÃO DE PITAIA**

**LAVRAS - MG
2021**

JULIE PINTO QUINTÃO

INDUÇÃO AO ESTRESSE SALINO NA MICROPROPAGAÇÃO DE PITAIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues
Orientadora

**LAVRAS- MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Quintão, Julie Pinto.

Indução ao estresse salino na micropropagação de pitaia / Julie
Pinto Quintão. - 2021.

50 p. : il.

Orientador(a): Joyce Dória Rodrigues.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. *Hylocereus* sp. 2. *In vitro*. 3. Tolerância. I. Dória, Joyce. II.
Rodrigues, Filipe Almendagna. III. Título.

JULIE PINTO QUINTÃO

INDUÇÃO AO ESTRESSE SALINO NA MICROPROPAGAÇÃO DE PITAIA

INDUCTION TO SALINE STRESS IN PITAIA MICROPROPAGATION

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 29 de julho de 2021.

Dra. Claudineia Ferreira Nunes UFMG

Dra. Leila Aparecida Salles Pio UFLA

Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues
Orientadora

LAVRAS- MG
2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agronomia.

À orientadora Professora Joyce Dória, pela prontidão e ensinamentos.

À Banca examinadora, Professora Dra. Claudineia Ferreira Nunes e Dra. Leila Aparecida Salles Pio, pela disponibilidade de me avaliarem.

A todos do Laboratório de cultura de tecidos que ajudaram na realização deste trabalho.

Aos colegas do Mestrado pelos conhecimentos compartilhados e amizade.

À minha mãe, Maria Nélia, pelo apoio e ao meu pai, Reinaldo, pelo seu cuidado.

Aos meus irmãos Juvana, Juan e Juarle, que mesmo distantes estiveram presentes.

Aos meus queridos sobrinhos Henri (*in memoriam*) e Henrico.

Ao meu Tio Isaías, que nos deixou no início deste ano. Saudades!

A todos aqueles que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito obrigada!

RESUMO

A pitaia é uma cultura tolerante a ambientes adversos, o que a torna potencial no uso de áreas afetadas, além de ser apreciada pelo sabor adocicado. Técnicas de cultivo como a cultura de tecidos têm sido utilizadas para alcançar alta taxa de multiplicação com o controle das variáveis ambientais, além de possibilitar a seleção de materiais tolerantes ao serem expostos a agentes seletivos. Segmentos de cladódio das espécies de pitaia *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polirhysus*, *Hylocereus megalanthus* e híbrida *Hylocereus polyrhysus* x *Hylocereus undatus* foram multiplicados *in vitro*, submetidos às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl, com o objetivo de avaliar a tolerância das espécies em função do aumento das concentrações de NaCl no que se refere ao desenvolvimento vegetativo e características fisiológicas. Foram avaliadas as características fitotécnicas, número e comprimento de brotos, comprimento de planta e raiz, biomassa fresca e seca e; fisiológicas, teor relativo de água, extravasamento de eletrólitos e pigmentos fotossintéticos. As maiores concentrações de NaCl foram prejudiciais ao desenvolvimento das espécies de pitaia, de forma que, a partir da concentração de 25 mM houve redução do desenvolvimento das espécies que apresentaram sensibilidade, inibindo, por vezes, o desenvolvimento da espécie de pitaia amarela. A espécie de pitaia híbrida foi predominantemente influenciada pelas concentrações de NaCl nas variáveis fisiológicas. Os resultados obtidos possibilitam concluir que a pitaia amarela foi sensível ao aumento das concentrações de NaCl nas variáveis fitotécnicas e fisiológicas, a pitaia branca e híbrida foram, de forma geral, tolerantes e, a pitaia vermelha apresentou comportamento intermediário.

Palavras-chave: *Hylocereus* sp. *In vitro*. Tolerância. NaCl.

ABSTRACT

The pitaya is a culture tolerant to adverse environments, which makes it with potential use in affected areas, in addition to being appreciated for its sweet taste. Cultivation techniques such as tissue culture have been used to achieve a high multiplication rate with the control of environmental variables, in addition to enabling the selection of tolerant materials when exposed to selective agents. Cladode segments of the pitaya species *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polirhysus*, *Hylocereus megalanthus* and hybrid *Hylocereus polyrhysus* x *Hylocereus undatus* were multiplied in vitro, submitted to concentrations of 0, 25, 50 and 100 mM of NaCl in order to evaluate the tolerance of the species as a function of the increase in NaCl concentrations. The phytotechnical characteristics were evaluated: number and length of shoots, plant and root length, fresh and dry biomass; and physiological relative water content, electrolyte leakage and photosynthetic pigments. The highest concentrations of NaCl were harmful to the development of pitaya species, so that, from the concentration of 25 mM, there was a reduction in the development of species that showed sensitivity, sometimes inhibiting the development of the species of yellow pitaya. The hybrid pitaya species was predominantly influenced by NaCl concentrations in physiological variables. The results obtained allow us to conclude that the yellow pitaya was sensitive to the increase of NaCl concentrations in the phytotechnical and physiological variables, the white and hybrid pitaya were, in general, tolerant and the red pitaya showed an intermediate behavior.

Keywords: *Hylocereus* sp. *In vitro*. Tolerance. NaCl.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Desenvolvimento das variedades de pitaia branca (a) vermelha (b), híbrida (c) e amarela (d) submetidas às concentrações de NaCl (0, 25, 50 e 100 mM).....	33
Figura 2 –	Número de brotos emitidos das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	34
Figura 3 –	Comprimento de brotos das espécies de pitaia branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	35
Figura 4 –	Comprimento de planta das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	36
Figura 5 –	Comprimento de raiz das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	37
Figura 6 –	Biomassa fresca de planta das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	38
Figura 7 –	Biomassa seca de planta das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	39
Figura 8 –	Teor relativo de água das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.	40
Figura 9 –	Extravasamento de eletrólitos das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	41
Figura 10 –	Teor de clorofila a da espécie de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	43
Figura 11 –	Teor de clorofila b das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	43
Figura 12 –	Teor de clorofila total da espécie de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 Mm de NaCl.	44
Figura 13 –	Microscopia eletrônica de varredura em segmentos de cladódio das espécies de pitaia vermelha (a) e amarela (b), submetidas ao tratamento de NaCl de 100 mM e controle (e).	45

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	10
1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1	Descrição da cultura	12
2.1.1	Mercado internacional e importância econômica	14
2.2	Micropropagação de pitaia	15
2.3	Indução de estresse salino <i>in vitro</i>.....	16
2.4	Efeitos da salinidade em plantas.....	16
2.4.1	Mecanismos de defesa de plantas expostas ao estresse salino.....	17
	REFERÊNCIAS.....	19
	CAPÍTULO 2 - ESTRESSE SALINO INDUZIDO <i>IN VITRO</i> NA PERFORMANCE VEGETATIVA E FISIOLÓGICA DE PITAIA.....	25
1	INTRODUÇÃO.....	27
2	MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1	Multiplicação <i>in vitro</i> de pitaia	29
2.2	Análise fitotécnica	29
2.3	Análise fisiológica.....	30
2.3.1	Teor relativo de água (TRA)	30
2.3.2	Extravasamento de eletrólitos (EE).....	30
2.3.3	Análise de pigmentos fotossintéticos	31
2.4	Análise microscopia eletrônica de varredura.....	31
2.5	Delineamento experimental e análise estatística	32
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1	Efeito da salinidade nas características fitotécnicas	33
3.1.1	Efeito da salinidade na emissão e comprimento de brotos secundários	34
3.1.2	Comprimento de planta e raiz	36
3.1.3	Biomassa fresca e seca de planta	38
3.2	Efeitos da salinidade nas características fisiológicas	39
3.2.1	Teor relativo de água (TRA)	40
3.2.2	Extravasamento de eletrólitos (EE).....	41
3.2.3	Pigmentos fotossintéticos.....	42

3.3	Microscopia eletrônica de varredura	44
4	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS.....	47

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas têm agravado a incidência de fatores prejudiciais ao desenvolvimento das plantas, como altas temperaturas, déficit hídrico e salinidade, que podem ocasionar diversas alterações nas plantas em nível molecular, e redução do rendimento agrônomico. O estresse salino é um dos fatores mais importantes que pode colocar em risco o cultivo de diversas culturas. Calcula-se que um terço das áreas agricultáveis no mundo são afetadas, principalmente pela salinidade, podendo causar estresse osmótico e toxidez (SHAHBAZ; ASHRAF, 2013; SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015).

As espécies da família *Cactaceae*, endêmicas de regiões áridas e semiáridas possuem mecanismos adaptativos, como fechamento estomático durante o dia, que confere eficiência no uso da água pela redução da transpiração e maior eficiência na assimilação de CO₂ relacionados ao metabolismo ácido crassuláceo (CELESTI-GRAPOW *et al.*, 2016; MIZRAHI, 2014).

A pitaita, considerada uma frutífera exótica, é apreciada pelo sabor suave, composta por substâncias como vitaminas, fibras alimentares solúveis, fitoalbuminas e minerais com propriedades funcionais (GARCÍA-CRUZ *et al.*, 2017). Seu potencial está relacionado a tolerância em ambientes salinos e secos devido às características anatômicas e morfológicas, sendo esperado que esta cultura se desenvolva em áreas afetadas. No entanto, informações relacionadas ao cultivo desta espécie ainda são escassas, de forma que foi recentemente introduzido.

As plantas quando expostas às condições ambientais adversas, respondem diferentemente ao ambiente, conforme a espécie e estágio de desenvolvimento devido a plasticidade. A intensidade com que a planta é exposta ao estresse pode influenciar na resposta à adaptação ao ambiente (ABDEL-FARID *et al.*, 2020; MICKELBART, 2015).

A micropropagação de plantas trouxe benefícios ao cultivo, sendo uma ferramenta importante a ser utilizada na seleção de materiais genéticos, possibilitando a realização de ensaios de estresse salino para avaliar seu efeito sobre as plantas, e que podem trazer resultados em um curto espaço de tempo, além de maior controle de fatores ambientais (GADAKH; PATEL; SINGH, 2017; GROVER; SHARMA, 2016; MARTINI; PAPAFOIOTOU, 2020). Diversas culturas quando expostas ao estresse salino induzido *in vitro* têm apresentado sensibilidade, de forma que, características relacionadas ao desenvolvimento são severamente

afetadas como surgimento de brotações e emissão de raízes, redução nos teores de pigmentos fotossintéticos.

A tolerância à salinidade é um tema ainda pouco abordado no que se refere ao cultivo de pitaia, sabe-se, porém, que a variabilidade genética desta espécie é ampla. Testar suas potencialidades torna-se uma ferramenta eficiente ao cultivo, uma vez que esta cultura está constantemente exposta a este fator. Este estudo abordará o efeito do aumento da concentração de NaCl no desenvolvimento vegetativo e características fisiológicas de diferentes espécies de pitaia micropropagadas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição da cultura

A pitiaia é uma planta rústica pertencente à família *Cactaceae* conhecida popularmente na Ásia como “Fruta do dragão”, com hábito de crescimento escandente, o que permite sua fixação em outros substratos. Seus frutos podem apresentar características físicas e químicas diversificadas quanto ao formato, presença de espinhos, cor da casca e da polpa, teores de sólidos solúveis, flavonoides e antioxidantes (DE LIMA *et al.*, 2013; HUA *et al.*, 2018).

A pitiaia possui amplas utilidades, sendo consumida ao natural por apresentar sabor suave, pode também ter seu valor agregado quando processada e transformada em subprodutos, como sucos, geleia, sorvetes, bolos, vinagre e ‘vinho’. Além disso, pode ser utilizada na indústria farmacêutica de produtos de beleza, na composição de *shampoos*, esfoliantes, sabonetes e medicamentos (LIAOTRAKOON *et al.*, 2013).

Dentre seus benefícios para a saúde está a redução do risco de doenças crônicas, como hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes, doenças cardiovasculares e prevenção à anemia, contribuindo também para o fortalecimento do sistema imunológico (KHALILI *et al.*, 2006; NURMAHANI *et al.*, 2012) na prevenção do câncer, com ação antioxidante pela presença de compostos bioativos como antocianinas (GUIMARÃES *et al.*, 2017) e potencial terapêutico pelo efeito ansiolítico no tratamento de distúrbios psiquiátricos relacionados ao estresse (LIRA *et al.*, 2020).

O centro de origem da pitiaia está localizado em regiões de sub-bosque na América do Sul e Central, provavelmente a partir do México e da Colômbia, seu metabolismo CAM possibilita adaptação a condições ambientais extremas, com o fechamento de estômatos durante o dia sendo caracterizada como uma cultura tolerante à seca com eficiência no uso da água, mas precisa de suprimento nos estágios de floração e desenvolvimento de frutos.

Os principais gêneros os quais a pitiaia pertence são *Hylocereus*, *Stenocereus*, *Selenicereus* e *Cereus*, que podem apresentar grande polimorfismo de flores, caule e frutos (TEL-ZUR *et al.*, 2011; TISARUM *et al.*, 2018). Apresenta caule grosso, esverdeado e segmentado, denominado cladódio, que desempenha função fotossintetizante, desprovido de folhas verdadeiras, mas provido de folhas modificadas, os espinhos, que protegem as auréolas (DE PAULA; DE CASTRO RIBEIRO, 2004). Suas raízes, caracterizadas como fasciculadas, são fibrosas, abundantes e desenvolvem também numerosas raízes adventícias, que auxiliam na

fixação e obtenção de nutrientes (CANTO *et al.*, 1993). Considerada planta de dias longos, o fotoperíodo pode influenciar na formação de gemas floríferas (YI-LU *et al.*, 2012).

A reprodução de pitaia do gênero *Hylocereus* spp. pode apresentar incompatibilidade parcial ou total, as flores são hermafroditas e se abrem, na maioria das vezes, uma única vez durante a noite. Agentes polinizadores podem ser necessários, dentre eles estão espécies de hábito noturno como vespas, mariposas, morcegos e de hábito diurno como as abelhas; a polinização manual pode ser utilizada para atingir rendimentos comerciais mais expressivos no cultivo (DA SILVA; MARTINS; CAVALLARI, 2011; MUNIZ *et al.*, 2019; ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILLO-SALAZAR, 2012).

Os frutos se desenvolvem completamente 30 a 40 dias após a antese, com exceção da pitaia amarela que pode ter o período de frutificação estendido até 90 dias, podendo haver desuniformidade na quantidade de flores e frutos. Fatores ambientais como a temperatura podem explicar as diferenças observadas no período de desenvolvimento e maturação dos frutos. A fase de frutificação da maioria das espécies concentra-se de novembro a março (OSUNA-ENCISO *et al.*, 2016).

Características anatômicas e morfológicas propiciam maior adaptação aos fatores ambientais como cutículas espessas, hipoderme colenquimática e o desenvolvimento de grandes proporções de tecido parenquimático com células mucilaginosas, espinhos, células grandes e vacúolos com maior capacidade de armazenamento de água e quantidade de estômatos reduzida (TERRAZAS; MAUSETH, 2002).

Hoje, devido a sua rusticidade e a grande quantidade de materiais que são selecionados com características que propicia resistência, esta cactácea está amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais pelo mundo (LEMA-RUMIŃSKA; KULUS, 2014), sendo encontrada em paisagens variadas, que vão desde 700 metros até 1.840 m de altitude, com chuvas a partir de 350 até 2.000 mm e temperaturas entre 11 e 40 °C, e faixas ótimas de produção, variando entre 20 a 30 °C (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILLO-SALAZAR, 2012). É sensível à luminosidade intensa, sendo recomendado cultivo em áreas sombreadas ou uso de telados em ambientes com alta luminosidade (ALMEIDA *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2021).

Requer uma adubação rica em matéria orgânica e nutrientes, tais como nitrogênio, potássio e fósforo. O N estimula a produção de raízes e brotos, sendo necessário durante o crescimento vegetativo até a pré-floração da pitaia (ORTIZ-HERNÁNDEZ, 2000). O elemento P é requerido em grande proporção, sendo associado à fotossíntese e divisão celular (CASSÁN *et al.*, 2020). A adubação potássica desempenha importante papel na qualidade do fruto, estando

relacionada ao seu tamanho e à concentração de açúcares e teor de acidez da polpa, que confere sabor suave ao fruto, pois atua na ativação de enzimas, que são fundamentais nos processos metabólicos (RABELO *et al.*, 2020).

2.1.1 Mercado internacional e importância econômica

O consumo de pitaita tem crescido nas últimas décadas, sendo cultivada e comercializada em diversos países como uma nova frutífera. No entanto, esta cactácea é utilizada desde milhares de anos pelos povos indígenas das Américas (MIZRAHI, 2014). Considerada uma frutífera exótica, apresenta características distintas como sabor diferenciado e aspectos morfológicos, e menor volume de consumo (WATANABE; OLIVEIRA, 2014) o que pode dificultar a obtenção de informações relacionadas à produção.

Os maiores produtores mundiais de pitaita são o Vietnã, a Colômbia e México. O Vietnã é o maior produtor e exporta pitaita para aproximadamente 40 países, com produção de 30 a 50 toneladas/ha, o país possui um grande investimento em tecnologias como desenvolvimento de novas cultivares e técnicas de implantação do pomar. As principais espécies cultivadas são *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* (NGUYEN, 2020).

No Brasil, a pitaita é cultivada em todas as regiões, ocorrendo predominantemente na região sudeste, situada no estado de São Paulo, localizada na região de Catanduva, com a produção entre os meses de dezembro a maio, tendo em média, produção anual de 20 t de frutos por hectare que varia de acordo com as condições edafoclimáticas, técnicas de cultivo e idade do pomar (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006). De acordo com a Ceagesp (2020) o preço médio do fruto tem alcançado o valor de R\$ 16,65 o quilograma. A produção também é expressiva nos estados do Rio Grande do Sul e Ceará.

As principais espécies de pitaita cultivadas comercialmente no Brasil, são nomeadas *Hylocereus undatus* (fruto de polpa branca e casca vermelha), *Hylocereus polyrhizus* (fruto vermelho de polpa vermelha), e *Hylocereus megalanthus* (fruto amarelo de polpa branca) e *Hylocereus costaricensis* (fruto de polpa vermelha-arroxeadada) (SILVA *et al.*, 2017). A espécie *Hylocereus setaceus* Rizz. (casca vermelha com espinhos e polpa branca) é endêmica e pode ser encontrada dispersa no bioma cerrado.

2.2 Micropropagação de pitaia

Atualmente se tem intensificado a busca por técnicas de cultivo que acelerem as etapas de estabelecimento e multiplicação de mudas, de forma que a produção tenha elevada eficiência agrônômica obtendo propágulos com maior qualidade. A micropropagação permite a produção em larga escala e uniforme, em curto espaço de tempo, sendo vista como um método eficiente na regeneração de brotações de pitaia, assim como maior controle de fatores que podem prejudicar o desenvolvimento inicial da cultura (MENEZES *et al.*, 2012).

Existem diversos protocolos de propagação *in vitro* de pitaia para atender a demanda por grande quantidade de mudas. Dessa forma, o método de propagação vegetativa por fragmentos de cladódio é comumente utilizado, o qual é obtido, muitas vezes, através do estabelecimento de plântulas obtidas por sementes, ao originar clones que são repicados, mantendo sua identidade genética para superar as dificuldades da propagação seminífera, que pode gerar indivíduos com alta taxa de polimorfismo (ELIAS *et al.*, 2015; SHENG *et al.*, 2016).

Gemas axilares presentes nos segmentos de cladódio podem originar novos cladódios, ao serem inoculadas em meio de crescimento, pelos tecidos meristemáticos. As plantas com potencial morfogênico podem regenerar seus tecidos, dada sua alta plasticidade através da reprogramação de células somáticas que são desdiferenciadas, e desenvolverem-se originando novos órgãos por meio de organogênese direta ou indireta (IBÁÑEZ *et al.*, 2020).

Diversos fatores podem contribuir para que a planta ou explante se desenvolva como componentes do meio, fitohormônios, tipo de explante e luz (BIDABADI; JAIN, 2020; ZENG *et al.*, 2016). O meio sem regulador de crescimento pode ser adequado na micropropagação de pitaia, pois os cactos possuem, muitas vezes, níveis ótimos de reguladores endógenos (CHENG *et al.*, 2013; DREW; AZIMI, 2002; PASA *et al.*, 2012), embora sua adição possa estimular maior formação de brotações secundárias.

Trivellini *et al.* (2020), ao micropropagarem segmentos nodais de pitaia branca e um híbrido, concluíram que houve, em média, 7 brotações, utilizando-se a concentração de 0,5 mg L⁻¹ de BAP e 0,25 mg L⁻¹ de IBA. A formulação ideal do meio MS, suplementado com 5,5 mg L⁻¹ de 6-BAP e 0,10 mg L⁻¹ de ANA, proporcionou regeneração abundante e alta porcentagem de brotações em segmentos nodais de pitaia vermelha, apresentando em média 6,4 brotos em 30 dias (QIN *et al.*, 2017).

2.3 Indução de estresse salino *in vitro*

A micropropagação possibilita analisar o impacto de estresses em plantas como a indução de estresse salino, de forma que outros fatores, como patógenos, déficit hídrico, temperatura e luminosidade não interfiram nos resultados obtidos (PIWOWARCZYK; TOKARZ; KAMIŃSKA, 2016).

Essa técnica de cultivo pode ser utilizada para selecionar materiais tolerantes, visto que, cerca de 20% do total de terras cultivadas e mais que 30% das terras agrícolas irrigadas em todo o mundo são adversamente afetadas pela salinização do solo. Além disso, há um aumento de cerca de 10% nas áreas salinizadas por ano por causa da baixa precipitação, maiores concentrações de sal em água de irrigação, evaporação superficial elevada e muitos outros fatores (MACHADO; SERRALHEIRO, 2017), muitas vezes, agravados pelas mudanças climáticas (DONG *et al.*, 2020).

Os agentes seletivos comumente utilizados *in vitro* na indução ao estresse salino são o NaCl, KCl, sais solúveis que, muitas vezes, podem causar estresse iônico, alterações morfofisiológicas, o que permite avaliar a intensidade com que a espécie pode ser atingida (KIELKOWSKA, 2017; MU *et al.*, 2016). Embora baixos níveis de agentes estressores possam não ser prejudiciais ao crescimento e diferenciação, altos níveis podem resultar na inibição do crescimento e morte celular (AL-KHAYRI; IBRAHEEM, 2014).

2.4 Efeitos da salinidade em plantas

As alterações provocadas no metabolismo das plantas em consequência do estresse salino são dependentes de fatores como a espécie, os estágios de desenvolvimento, magnitude e duração do estresse (MIZRAHI, 2020).

O efeito da salinidade no crescimento da planta está relacionado a duas etapas sucessivas, sendo que na primeira fase, as condições salinas não alteram significativamente o crescimento da planta, porque Na^+ e Cl^- que entram no xilema são coletados nos vacúolos. Entretanto, à medida que os sais se acumulam dentro dos tecidos da planta, as células são incapazes de armazená-los nos vacúolos, de forma que a concentração no citoplasma aumenta e a atividade de muitas enzimas é severamente inibida (PARIHAR *et al.*, 2015).

Essa citotoxicidade iônica causada por Na^+ , Cl^- e SO_4^- , tem por consequência estresse iônico e o estresse osmótico nas células vegetais ocasionado pela redução do potencial de água

no solo, desequilíbrio nutricional, devido aos efeitos antagônicos na absorção e transporte de nutrientes dentro da planta, e redução da absorção de nitrogênio, devido as interações entre Na^+ e NH_4 ou Cl^- e nitrato e estresse oxidativo, pela produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que são tóxicas para as células vegetais em altas concentrações, ruptura da membrana, devido a substituição dos íons cálcio por íons sódio, e alteração da permeabilidade (FARHANGI-ABRIZ; TORABIAN, 2017).

As taxas fotossintéticas também diminuem, o estresse salino pode afetar a atividade da enzima ribulose bifosfato carboxilase-oxigenase, a eficiência de captura de luz do fotossistema II e a capacidade de transporte de elétrons, o que limita a translocação de fotoassimilados em direção às raízes, causando redução do crescimento da planta (ALDESUQUY; MICKKY, 2014; YANG *et al.*, 2006).

2.4.1 Mecanismos de defesa de plantas expostas ao estresse salino

Em resposta ao estresse salino e à seca, as plantas adotam várias estratégias, incluindo modificação em diferentes processos fisiológicos e bioquímicos, como percepções de sinal e cascatas de transdução para manterem sua sobrevivência (RANGANAYAKULU; VEERANAGAMALLAIAH; SUDHAKAR, 2013).

As plantas consideradas halófitas desenvolveram várias estruturas ou mecanismos específicos para se adaptar a ambientes salinos, como suculência das folhas e funções de órgãos especializados, sendo capazes de controlar ativamente a absorção, armazenamento e secreção de íons em condições salinas. No entanto, aquelas não halófitas são suscetíveis ao estresse salino e podem ter sua biomassa reduzida e não completar seus ciclos de vida (SONG *et al.*, 2017; YUAN *et al.*, 2019).

A manutenção do potencial de membrana, as atividades de várias enzimas e a concentração de osmólitos adequada na regulação do volume celular, são todas dependentes da homeostase iônica, que é integralizada à sinalização do fitormônio ABA e, mais especificamente, da homeostase do Na^+ e K^+ , sendo o K^+ principal osmorregulador e ativador de reações do metabolismo. Esse ajuste iônico, em que há regulação da entrada destes íons na membrana, ou transferência ao vacúolo pelos transportadores antiporteres, variam conforme cada espécie (CONDE *et al.*, 2011; EDEL; KUDLA, 2016; PUANGBUT; JOGLOY; VORASOOT, 2017).

As plantas acumulam solutos suficientes para corresponder, em osmolaridade, às concentrações aumentadas de íons no interior das células, o que facilita a entrada de água mantendo o turgor celular e o volume das organelas dentro das células (MUNNS *et al.*, 2020). A síntese de solutos orgânicos compatíveis de controle não permite que íons se acumulem no citosol da célula, essa adaptação osmótica é crítica para sustentar o turgor celular e enzimas antioxidantes (ARIF *et al.*, 2020).

Os fitohormônios podem desempenhar função de sinalizadores na adaptação a ambientes estressores. O ABA pode controlar a abertura estomática, sendo transportado até as células guarda, em plantas expostas à salinidade, reduzindo a perda de água (NIU, 2018). O crescimento da raiz inibido pelo sal está associado ao acúmulo reduzido de auxina, que consiste numa menor translocação deste hormônio (JIANG *et al.*, 2016). Pode haver um acúmulo de etileno que é modulado pela transcrição de proteínas importantes em plantas expostas ao estresse salino (YU *et al.*, 2020).

A expressão de genes na resposta aos fatores abióticos foi relatado por Qu *et al.* (2020) que descreveram a expressão do gene HuERF1 que pode regular a tolerância à salinidade, mediado por etileno, ao reduzir o acúmulo de superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e atividade de enzimas antioxidantes em pituaia (*Hylocereus undatus*); e por Li *et al.* (2019) que isolaram genes como miR396 em *Hylocereus polyrhizus* responsável por controlar genes alvo como HpGRF6 de fatores reguladores de crescimento em condições de estresse.

O pré-condicionamento *in vitro* pode ser uma técnica importante a ser utilizada na indução de biossíntese de compostos bioativos na planta ou aplicação de substâncias que são benéficas ao seu desenvolvimento, associada à fase de aclimatização ou campo. O *priming*, processo de rustificação, consiste na redução dos impactos causados pelo estresse, de forma que agentes adicionados ao meio possam mitigar eventuais danos à espécie vegetal e torná-las previamente tolerantes (GAMMOUDI *et al.*, 2020).

REFERÊNCIAS

- ABDEL-FARID *et al.* Effect of Salinity Stress on Growth and Metabolomic Profiling of *Cucumis sativus* and *Solanum lycopersicum*. **Plants**, [s.l.], v. 9, n. 11, p. 1626, 2020.
- AL-KHAYRI, J. M.; IBRAHEEM, Y. In vitro selection of abiotic stress tolerant date palm (*Phoenix dactylifera* L.): A review. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 26, n. 11, p. 921-933, 2014.
- ALDESUQUY, H.; BAKA, Z.; MICKKY, B. Kinetin and spermine mediated induction of salt tolerance in wheat plants: Leaf area, photosynthesis and chloroplast ultrastructure of flag leaf at ear emergence. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, [s.l.], v.1, n. 2, p. 77-87, 2014.
- ALMEIDA, E. I. B. *et al.* Shading of stock plants and the use of auxin in red pitaya cuttings. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 37, n. 5, p. 2977-2988, 2016.
- ARIF, Y. *et al.* Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 156, p. 64-77, 2020.
- BASTOS, D. C. *et al.* Propagação da pitaya 'vermelha' por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 30, n. 6, p. 1106-1109, 2006.
- BIDABADI, S. S.; JAIN, S. M. Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration. **Plants**, [s.l.], v. 9, n. 6, p. 702, 2020.
- CANTO, A. R. *et al.* El cultivo de pitahya en Yucatan: Universidad Autonoma Chapingo; **Gobierno del Estado de Yucatan**, 1993.
- CASSÁN, F. *et al.* Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, [s.l.], v. 56, n. 4, p. 461-479, 2020.
- CEAGESP. Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo. **Pitaia**. Cotação de Preços. São Paulo, 2020.
- CELESTI-GRAPOW, L. *et al.* Plant invasions on small Mediterranean islands: An overview. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, [s.l.], v. 150, n. 5, p. 1119-1133, 2016.
- CHENG, Z. J. *et al.* Pattern of Auxin and Cytokinin Responses for Shoot Meristem Induction Results from the Regulation of Cytokinin Biosynthesis by AUXIN RESPONSE FACTOR3. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 161, n. 1, p. 240, 2013.
- CONDE, A. *et al.* Mannitol transport and mannitol dehydrogenase activities are coordinated in *Olea europaea* under salt and osmotic stresses. **Plant and Cell Physiology**, [s.l.], v. 52, n.10, p. 1766-1775, 2011.

- LIMA, C. A. de *et al.* Physico-chemical characteristics, polyphenols and yellow flavonoids in fruits of commercial and wild pitaya species from the Brazilian savannas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 35, n. 2, p. 565-570, 2013.
- PAULA, C. C. de; CASTRO RIBEIRO, O. B. de. **Cultivo prático de cactáceas**. Viçosa: UFV, 2004.
- DONG, J. *et al.* Sustainable vegetable production under changing climate: The impact of elevated CO₂ on yield of vegetables and the interactions with environments-A review. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.], v. 253, n. 7, p. 119920, 2020.
- DREW, R. A.; AZIMI, M. Micropropagation of red pitaya (*Hylocereous undatus*). In: DREW, R. (Ed.). Proceedings of the International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits. **Leuven 1: International Society Horticultural Science**, [s.l.], v. 1 e 2, n. 575, p. 93-98, 2002.
- ELIAS, H. *et al.* The effects of plant growth regulators on shoot formation, regeneration and coloured callus production in *Echinocereus cinerascens in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 120, n. 2, p. 729-739, 2015.
- FARHANGI-ABRIZ, S.; TORABIAN, S. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 137, p. 64-70, 2017.
- FRESCHET, G. T. *et al.* Allocation, morphology, physiology, architecture: the multiple facets of plant above- and below-ground responses to resource stress. **New Phytologist**, [s.l.], v. 219, n. 4, p. 1338-1352, 2018.
- GADAKH, S.; PATEL, D.; SINGH, D. Use of RAPD Markers to Characterize Salt and Drought Lines of Sugarcane. **International Journal of Advanced Research in Biological Sciences**, [s.l.], v. 4, p. 50-57, 2017.
- GAMMOUDI, N. *et al.* Efficiency of pepper seed invigoration through hydrogen peroxide priming to improve in vitro salt and drought stress tolerance. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, [s.l.], v. 61, n. 4, p. 703-714, 2020.
- GARCÍA-CRUZ, L. *et al.* Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus spp.*) fruit from two species (*S. Pruinusus* and *S. stellatus*). **Food chemistry**, [s.l.], v. 234, p. 111-118, 2017.
- GROVER, A.; SHARMA, P. Development and use of molecular markers: past and present. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s.l.], v. 36, n. 2, p. 290-302, 2016.
- GUIMARÃES, D. D. A. B. *et al.* Pitaya Extracts Induce Growth Inhibition and Proapoptotic Effects on Human Cell Lines of Breast Cancer via Downregulation of Estrogen Receptor Gene Expression. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2017, p. 7865073, 2017.

- EDEL, K.H.; KUDLA, J. Integration of calcium and ABA signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.*, [s.l.], v. 33, p. 83–91, 2016.
- HUA, Q. *et al.* Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors. *Plant Physiology and Biochemistry*, [s.l.], v. 126, p. 117-125, 2018.
- IBÁÑEZ, S. *et al.* Advances in Plant Regeneration: Shake, Rattle and Roll. *Plants*, [s.l.], v. 9, n. 7, p. 897, 2020.
- JIANG, K. *et al.* Salt stress affects the redox status of Arabidopsis root meristems. *Frontiers in Plant Science*, [s.l.], v. 7, p. 81, 2016.
- KHALILI, R. M. A. *et al.* Proximate composition and selected mineral determination in organically grown red pitaya (*Hylocereus* sp.). *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, [s.l.], v. 34, n. 2, p. 269, 2006.
- KIELKOWSKA, A. Cytogenetic effect of prolonged in vitro exposure of *Allium cepa* L. root meristem cells to salt stress. *Cytology and Genetics*, [s.l.], v. 51, n. 6, p. 478-484, 2017.
- LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. *Fruits*, [s.l.], v. 61, n. 4, p. 237-250, 2006.
- LEMA-RUMIŃSKA, J.; KULUS, D. Micropropagation of cacti-A review. *Haseltonia*, [s.l.], v. 19, p. 46-63, 2014.
- LI, A.-LI *et al.* Conserved miR396b-GRF regulation is involved in abiotic stress responses in pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 20, n. 10, p. 2501, 2019.
- LIAOTRAKOON, W. *et al.* Dragon fruit (*Hylocereus* spp.) seed oils: their characterization and stability under storage conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, [s.l.], v. 90, n. 2, p. 207-215, 2013.
- LIRA, S. M. *et al.* Metabolic profile of pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose) by UPLC-QTOF-MSE and assessment of its toxicity and anxiolytic-like effect in adult zebrafish. *Food Research International*, [s.l.], v. 127, p. 10, 2020.
- MACHADO, R.; SERRALHEIRO, R. Soil Salinity: Effect on Vegetable Crop Growth. Management Practices to Prevent and Mitigate Soil Salinization. *Horticulturae*, [s.l.], v. 3, p. 13, 2017.
- MARTINI, A. N.; PAPAFOITIOU, M. In Vitro Propagation and NaCl Tolerance of the Multipurpose Medicinal Halophyte *Limoniastrum monopetalum*. *HortScience Horts*, [s.l.], v. 55, n. 4, p. 436, 2020.

MENEZES, T. P. D. *et al.* Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha.

Bioscience Journal, v. 28, n. 6, 2012. Disponível em:

<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13986>. Acesso em: 10 nov. 2020.

MICKELBART, M.; HASEGAWA, P.; BAILEY-SERRES, J. Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. *Nature reviews. Genetics*, [s.l.], v. 16, n. 4, p. 237-251, 2015.

MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 36, p. 124-138, 2014.

MIZRAHI, Y. Do We Need New Crops for Arid Regions? A Review of Fruit Species Domestication in Israel. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, n. 12, p. 1995, 2020.

MU, D. *et al.* Genotypic variation in salt tolerance of *Ulmus pumila* plants obtained by shoot micropropagation. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s.l.], v. 38, n. 8, p. 188, 2016.

MUNIZ, J. P. D. *et al.* Floral biology, pollination requirements and behavior of floral visitors in two species of pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, Lavras, v. 50, n. 4, p. 640-649, 2019.

MUNNS, R. *et al.* Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. **New Phytologist**, v. 225, n. 3, p. 1091-1096, 2020.

NGUYEN, N. The Marketing for Vietnamese Dragon Fruit. **Archives of Business Research**, [s.l.], v. 8, n. 5, 2020.

NIU, M. *et al.* An early ABA-induced stomatal closure, Na⁺ sequestration in leaf vein and K⁺ retention in mesophyll confer salt tissue tolerance in Cucurbita species. **Journal of Experimental Botany**, [s.l.], v. 69, n. 20, p. 4945-4960, 2018.

NURMAHANI, M. *et al.* Antibacterial property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts. **International Food Research Journal**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 77, 2012.

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

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D. **Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* spp.)**. [s.l.]: IPN, 2000.

OSUNA-ENCISO, T. *et al.* Fenología reproductiva, rendimiento y calidad del fruto de pitahaya (*Hylocereus undatus* (How.) Britton and Rose) en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. **Agrociência**, [s.l.], v. 50, p. 61-78, 2016.

PARIHAR, P. *et al.* Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 6, p. 4056-4075, 2015.

PASA, M. D. S. Qualidade de luz e fitorreguladores na multiplicação e enraizamento in vitro da amoreira-preta 'Xavante'. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 42, n. 8, p. 1392-1396, 2012.

PIWOWARCZYK, B.; TOKARZ, K.; KAMIŃSKA, I. Responses of grass pea seedlings to salinity stress in vitro culture conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [s.l.], v. 124, n. 2, p. 227-240, 2016.

PUANGBUT, D.; JOGLOY, S.; VORASOOT, N. Association of photosynthetic traits with water use efficiency and SPAD chlorophyll meter reading of Jerusalem artichoke under drought conditions. **Agricultural Water Management**, [s.l.], v. 188, p. 29-35, 2017.

QU, Y. et al. An AP2/ERF Gene, HuERF1, from pitaya (*Hylocereus undatus*) positively regulates salt tolerance. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 21, n. 13, p. 4586, 2020.

QIN, J. M. et al. "High-efficiency Micropropagation of Dormant Buds in Spine Base of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) for Industrial Breeding". **International Journal of Agriculture and Biology**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 193-198, 2017.

RABELO, J. M. et al. Potassium fertilization in the quality improvement and centesimal composition of pitaya. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 32, n. 9, p. 658-665, 2020.

RANGANAYAKULU, G.; VEERANAGAMALLAIAH, G.; SUDHAKAR, C. Effect of salt stress on osmolyte accumulation in two groundnut cultivars (*Arachis hypogaea* L.) with contrasting salt tolerance. **African Journal of Plant Science**, [s.l.], v. 7, n. 12, p. 586-592, 2013.

SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Improving Salinity Tolerance in Cereals. **Critical Reviews in Plant Sciences**, [s.l.], v. 32, n. 4, p. 237-249, 2013.

SHENG, W. K. W. et al. Effects of plant growth regulators on seed germination and callus induction of *hylocereus costaricensis*. **Pakistan Journal of Botany**, [s.l.], v. 48, n. 3, p. 977-982, 2016.

SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.

SILVA, A. D. C. C. D. et al. Morphological traits as tool to verify genetic variability of interspecific dragon fruit hybrids. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 39, n. 1, 2017.

SILVA, A. D. C. da; MARTINS, A. B. G.; CAVALLARI, L. D. Fruit quality of pitaya as a function of pollination time, pollen source and environment for cultivation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 33, n. 4, p. 1162-1168, 2011.

SONG, J. et al. The role of the seed coat in adaptation of dimorphic seeds of the euhalophyte *Suaeda salsa* to salinity. **Plant Species Biology**, [s.l.], v. 32, n. 2, p. 107-114, 2017.

- SOUSA, G. G. de *et al.* Effect of saline water and shading on dragon fruit ('pitaya') seedling growth1. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 25, p. 547-552, 2021.
- TEL-ZUR, N. *et al.* Phenotypic and genomic characterization of vine cactus collection (Cactaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s.l.], v. 58, n. 7, p. 1075-1085, 2011.
- TERRAZAS, T.; MAUSETH, J. Stem anatomy and morphology. the cacti: biology and uses. Berkeley: California University Press, 2002. p. 47-60.
- TISARUM, R. *et al.* Free proline, total soluble sugar enrichment, photosynthetic abilities and growth performances in dragon fruit (*Hylocereus undatus* (Haw) Britt. & Rose) grown under mannitol-induced water deficit stress. In: KONDO, S. (Ed.). INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT BIOREGULATORS IN FRUIT PRODUCTION, 2018, 13., **Proceedings** [...], v. 1206, p. 113-119, 2018.
- TRIVELLINI, A. *et al.* Pitaya, an Attractive Alternative Crop for Mediterranean Region. **Agronomy**, [s.l.], v. 10, n. 8, p. 1065, 2020.
- WATANABE, H. S.; OLIVEIRA, S. L. D. Comercialização de frutas exóticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 36, p. 23-38, 2014.
- YANG, Y. *et al.* Cyclic electron flow around photosystem 1 is required for adaptation to salt stress in wild soybean species *Glycine cyrtoloba* ACC547. **Biologia Plantarum**, [s.l.], v. 50, n. 4, p. 586-590, 2006.
- YI-LU, J. *et al.* The Photoperiod-regulated Bud Formation of Red Pitaya (*Hylocereus* sp.). **HortScience Horts**, [s.l.], v. 47, n. 8, p. 1063-1067, 2012.
- YU, Z. *et al.* How plant hormones mediate salt stress responses. **Trends in Plant Science**, [s.l.], v. 25, n. 11, p. 1117-1130, 2020.
- YUAN, F. *et al.* Beneficial Effects of Salt on Halophyte Growth: Morphology, Cells, and Genes. **Open Life Sciences**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 191-200, 2019.
- ZENG, S. *et al.* In vitro propagation of *Paphiopedilum orchids*. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s.l.], v. 36, n. 3, p. 521-534, 2016.

CAPÍTULO 2 ESTRESSE SALINO INDUZIDO *IN VITRO* NA PERFORMANCE VEGETATIVA E FISIOLÓGICA DE PITAIA

RESUMO

A salinidade é um dos principais estresses abióticos que afetam as lavouras em todo o mundo. A avaliação de genótipos para ter conhecimento do grau de tolerância ao agente seletivo, através da cultura de tecidos, considerada uma ferramenta biotecnológica eficiente, com maior controle dos fatores ambientais, tem sido comumente utilizada para selecionar materiais tolerantes. Foram micropropagados segmentos de cladódio de quatro espécies de pitaia, sendo *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polirhysus*, *Hylocereus megalanthus* e híbrida *Hylocereus polirhysus* x *Hylocereus undatus* em meio Phillips e Collins adicionado de concentrações variando de 0-100 mM de NaCl, com o objetivo de avaliar o comportamento das diferentes espécies em função do aumento de concentrações de NaCl nos parâmetros fitotécnicos, número de brotos, comprimento de broto, comprimento de planta e comprimento radicular, biomassa fresca e biomassa seca de planta e; fisiológicos, teor relativo de água, extravasamento de eletrólitos e pigmentos fotossintéticos: clorofila *a*, *b* e total e carotenoides. A concentração a partir da qual houve menor efeito do sal, foi de 25 mM de NaCl, sendo que o aumento causou redução no desenvolvimento das espécies de pitaia pouco tolerantes, como a pitaia amarela; a pitaia híbrida foi a espécie que apresentou maiores diferenças significativas ao serem avaliadas as variáveis fisiológicas, obtendo aumento a partir da concentração de 25 mM de NaCl. As espécies de pitaia branca e híbrida apresentaram maior tolerância à salidade, ao contrário da pitaia amarela, que teve seu desenvolvimento, por vezes, inibido, em consequência do aumento das concentrações de NaCl e da pitaia vermelha que comportou-se de forma intermediária.

Palavras-chave: *Hylocereus* sp. Micropropagação. Salinidade.

ABSTRACT

Salinity is one of the main abiotic stresses that affect crops worldwide. The evaluation of genotypes to know the degree of tolerance to the selective agent, through tissue culture, considered an efficient biotechnological tool, with greater control of environmental factors, has been commonly used to select tolerant materials. Cladode segments of four species of pitaya were micropropagated, being *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polirhysus*, *Hylocereus megalanthus* and hybrid *Hylocereus polyrhysus x Hylocereus undatus* in Phillips and Collins medium added at concentrations ranging from 0-100 mM of NaCl, in order to evaluate the behavior of different species as a function of the increase of NaCl concentrations in the phytotechnical parameters, number of shoots, shoot length, plant length and root length, fresh biomass and dry plant biomass and; physiological, relative water content, electrolyte leakage and photosynthetic pigments: a, b and total chlorophyll and carotenoids. The concentration from which there was less salt effect was 25 mM of NaCl, and the increase caused a reduction in the development of poorly tolerant pitaya species, such as yellow pitta; the hybrid pitaya was the species that showed the greatest significant differences when the physiological variables were evaluated, obtaining an increase from the concentration of 25 mM of NaCl. The species of white and hybrid pitaya showed greater tolerance to salinity, unlike the yellow pitaya, which had its development, at times, inhibited, as a result of increased concentrations of NaCl and red pitaya, which behaved in an intermediate way.

Keywords: *Hylocereus* sp. Micropropagation. Salinity.

1 INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos fatores que tem causado sérios impactos às plantas, comprometendo a produtividade agrícola, agravada pelas mudanças climáticas (CAMPBELL *et al.*, 2016; ULLAH *et al.*, 2018), ao provocar danos em vários processos fisiológicos e moleculares, pelo acúmulo de sais nos órgãos vegetativos, sendo, muitas vezes, irreversível às plantas (CHARFEDDINE *et al.*, 2019; GAJENDER *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2020).

Espécie como a pitaia, encontrada em diversos ambientes é constantemente exposta ao excesso de salinidade, sua tolerância relacionada, muitas vezes, à mecanismos adaptativos, além de ser apreciada por suas características organolépticas, a torna uma cultura com potencial uso em áreas atingidas pela salinidade.

A cultura de tecidos é uma técnica que pode trazer grandes benefícios ao cultivo, pois permite avaliar, tendo-se maior controle de variáveis ambientais, a performance das plantas ao serem expostas ao estresse, sendo possível selecionar materiais tolerantes. Estresse salino induzido *in vitro* de espécies frutíferas como abacaxi (GÓMEZ *et al.*, 2017), morango (MOZAFARI *et al.*, 2019) e citros (CHATZISSAVVIDIS *et al.*, 2014) submetidas a concentrações crescentes de cloreto de sódio apresentaram toxidez, sendo observada redução no número de brotos e estolões e emissão de raízes, e teor de clorofila.

O aumento da salinidade pode causar inibição da biossíntese de clorofila ou aumento de sua degradação causando clorose nas plantas, afetar a fotossíntese inativando enzimas (MARSIC *et al.*, 2018), e redução da taxa de transpiração, em consequência da baixa condutância estomática para evitar a perda de água (HANIN *et al.*, 2016). Além de estresse oxidativo causado pela produção de espécies reativas de oxigênio, redução do potencial osmótico pela redução do potencial de água no solo, que dificulta a absorção de nutrientes e desregulação da homeostase iônica causada pela toxidez (ROY; TESTER, 2014).

As plantas respondem aos ambientes salinos por meio de múltiplos mecanismos fisiológicos, metabólicos e moleculares. Esses mecanismos são interconectados e ajustados para criarem respostas específicas que levam à aclimatação da planta a ambientes adversos (RIVERO *et al.*, 2014). Além disso, melhorar a resistência das plantas ao estresse é importante para o rendimento e sustentabilidade, visto que, as culturas com baixa resistência acarretam desequilíbrio no sistema pelo maior consumo dos recursos (ZHU, 2016).

O estudo teve como objetivo avaliar o comportamento *in vitro* de quatro espécies de pitaia submetidas a concentrações crescentes de NaCl sobre o desenvolvimento vegetal e fisiológico, a fim de comparar e selecionar materiais tolerantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG.

2.1 Multiplicação *in vitro* de pitaia

Segmentos de cladódio de aproximadamente 2 centímetros de pitaia amarela (*Hylocereus megalanthus*), branca (*Hylocereus undatus*), híbrida (*Hylocereus polyrhizus* x *Hylocereus undatus*) e vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) estabelecidos *in vitro* (segundo subcultivo oriundo de sementes) permaneceram durante 40 dias, em sala de crescimento, com temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, intensidade luminosa fornecida por lâmpadas de LED $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 h.

Os segmentos de cladódio foram destacados (com o uso de bisturi), e inoculados em tubos de ensaio contendo 15 ml de meio (PHILLIPS; COLLINS, 1979) em câmara de fluxo laminar, suplementado com $5,5 \text{ g L}^{-1}$ de Ágar, e $2,5 \text{ g L}^{-1}$ de sacarose e concentrações de NaCl (0, 25, 50 e 100 mM), sendo o pH do meio ajustado para $5,8 \pm 0,1$ utilizando 1N NaOH, autoclavado à 120°C por 20 min e 1 atm de pressão. Posteriormente, os tubos foram transferidos para sala de crescimento.

2.2 Análise fitotécnica

Para análise fitotécnica, foram avaliados após 40 dias, o número de brotos secundários emitidos por explante, comprimento de brotos secundários, comprimento radicular, comprimento do segmento de cladódio, biomassa fresca e seca da planta. A quantidade de explantes que formaram brotos foi obtida contando-se os brotos emitidos dos explantes das repetições de cada tratamento, e o tamanho dimensionado através de um paquímetro digital.

O comprimento de planta e raiz foi obtido medindo-se o comprimento do segmento de cladódio e da maior raiz utilizando paquímetro digital. A biomassa fresca de planta foi obtida em balança analítica de precisão. A biomassa seca de planta foi submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar à 65°C durante 48 h e, em seguida, pesada em balança analítica de precisão.

2.3 Análise fisiológica

2.3.1 Teor relativo de água (TRA)

Dois fragmentos de cladódio de 0,5 cm foram destacados de cada tratamento e utilizados para avaliação do teor relativo de água (TRA) e três repetições. Essas amostras vegetais foram pesadas para quantificação da massa fresca (MF), e em seguida imersas em tubos contendo água deionizada por 24 h. Após esse período, pesou-se novamente as amostras para determinação da massa túrgida (MT), e, posteriormente, submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar, à 65°C durante 48 h. Em seguida foram pesadas para obtenção da massa seca (MS). A determinação do TRA foi calculada seguindo a fórmula descrita por Barrs e Weatherley (1962) (EQUAÇÃO 1).

$$\text{TRA (\%)} = \frac{(MF-MS)}{(MT-MS)} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

TRA = Teor relativo de água (%)

MF = Massa fresca (g)

MT = Massa túrgida (g)

MS = Massa seca (g)

2.3.2 Extravasamento de eletrólitos (EE)

Três fragmentos de cladódios de aproximadamente 0,5 cm foram destacados de cada tratamento e acondicionados em tubo de ensaio contendo 20 mL de água deionizada e três repetições. Os tubos foram dispostos em mesa agitadora por 24 h, à temperatura ambiente. Após esse período mediu-se a condutividade elétrica livre (CEL) da solução. Em seguida, os tubos foram colocados em banho-maria por 1 h a 100 °C e a condutividade elétrica total (CET) da solução foi mensurada. A determinação da taxa de extravasamento de eletrólitos foi calculada com base na seguinte fórmula proposta por Shi e Bao (2006) (EQUAÇÃO 2):

$$EE (\%) = \left(\frac{CEL}{CET} \right) \times 100 \quad (2)$$

Em que:

EE = Extravasamento de Eletrólitos (%)

CEL = Condutividade elétrica Livre

CET = Condutividade elétrica total da solução

2.3.3 Análise de pigmentos fotossintéticos

Aproximadamente 0,025 g de cladódios retirados de cada tratamento, foram colocados em 5 mL de solução de acetona 80%. Após 24 h em geladeira à ± 4 °C foi mensurada a absorvidade das amostras em espectrofotômetro Elisa Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific) nos comprimentos de onda 470, 645, 652 e 663 nm segundo metodologia de Scopel, Barbosa e Vieira (2011). As leituras dos comprimentos de onda foram realizadas em triplicata, utilizando-se 3 repetições por tratamento.

Os dados obtidos foram submetidos à fórmula desenvolvida por Li, Tang e Xu (2013) para quantificação dos teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides. A análise foi realizada por meio do programa Skanit Software 5.0 for Microplate Readers RE versão 5.0.0.42.

2.4 Análise microscopia eletrônica de varredura

A análise foi realizada no laboratório de microscopia eletrônica do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Amostras de segmentos de cladódios dos tratamentos de espécies de pitaia submetidas à maior concentração de NaCl (100 mM) foram fixadas em solução de Karnoviski durante 24h e imersas em cacodilato de sódio por duas vezes e, posteriormente, desidratadas em série por 10 minutos utilizando-se Acetona 70%, 85%, 90% e 100%, sendo a última, repetida duas vezes, e, em seguida, realizada secagem ao ponto crítico, montadas em *stubs* e recobertas com Carbono. As amostras foram analisadas por meio de microscópio eletrônico de varredura modelo LEO EVO 40.

2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4, totalizando 16 tratamentos e três repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade e as médias analisadas por meio de regressão polinomial no programa estatístico SISVAR versão 5.1 (FERREIRA, 2011).

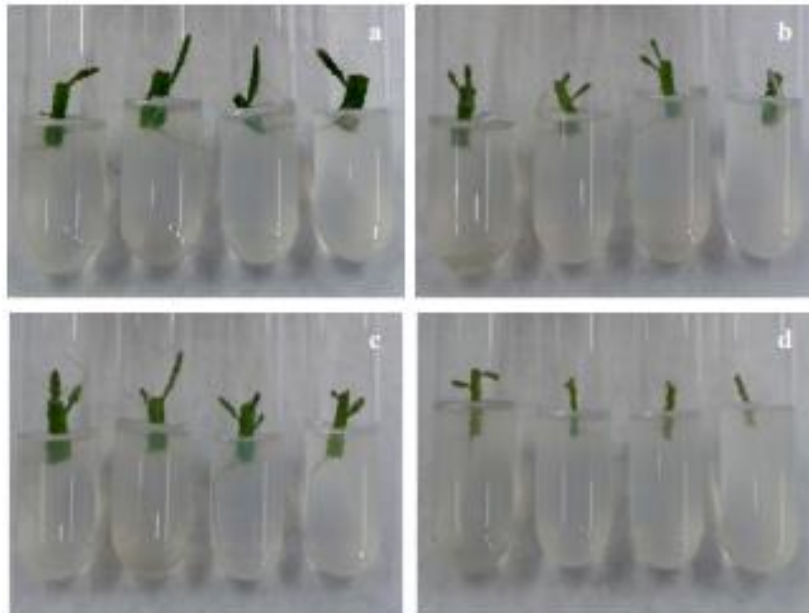
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito da salinidade nas características fitotécnicas

Houve interação significativa entre os fatores concentração de NaCl e espécies de pitaia ($p \leq 0,05$). As variáveis analisadas número de brotos emitidos, comprimento de brotos, comprimento de planta e comprimento radicular, biomassa fresca e seca de todas as espécies foram influenciadas pelas concentrações de NaCl.

A pitaia branca não apresentou sintomas de clorose ou qualquer outra anormalidade como descrito por Mou *et al.* (2021) ao ser observado na Figura 1, sendo esperado este resultado, visto que esta espécie apresenta alta tolerância e é comumente utilizada em programas de melhoramento genético para originar híbridos com características superiores. Não houve alterações que causassem a morte dos explantes ou mesmo morfológicas, e que inibissem a emissão de brotos, apenas leve amarelecimento das variedades de pitaia vermelha, híbrida e amarela (FIGURA 1a, b, c e d).

Figura 1 – Desenvolvimento das variedades de pitaia branca (a) vermelha (b), híbrida (c) e amarela (d) submetidas às concentrações de NaCl (0, 25, 50 e 100 mM).



Fonte: Da autora (2021).

A pitaia é considerada uma cultura tolerante quando submetida a condições adversas como déficit hídrico e salinidade, metaboliza CO₂ via metabolismo ácido crassuláceo, tendo-se maior eficiência na sua assimilação, além do fechamento estomático que ocorre durante o dia,

reduzindo a transpiração e conseqüente perda de água, e que permite manter a atividade celular, sua anatomia e morfologia também favorece seu desenvolvimento (WANG *et al.*, 2019).

3.1.1 Efeito da salinidade na emissão e comprimento de brotos secundários

Diferença significativa foi observada na emissão de brotos em concentrações de NaCl e espécies de pitáia amarela, branca e vermelha, havendo comportamento similar no comprimento de brotos. A pitáia amarela apresentou redução na emissão de brotos quando aumentadas as concentrações de NaCl, sendo que a concentração de 100 mM inibiu seu desenvolvimento. As espécies de pitáia branca e vermelha responderam satisfatoriamente apresentando maior número de brotos no tratamento correspondente à concentração de até 25 mM (FIGURA 2).

No comprimento de brotos foi observado novamente mesmo comportamento para a espécie de pitáia amarela sendo reduzido quando as concentrações de NaCl foram aumentadas. Assim como a espécie de pitáia branca que apresentou maior comprimento de brotos quando exposta à concentração até 25 mM de NaCl. A pitáia vermelha, apresentou menor média no tratamento submetido à concentração até 25 mM de NaCl, tendo comportamento incomum, pois é previsto que haja tolerância da espécie quando exposta a concentrações mais baixas de NaCl (FIGURA 2).

Figura 2 – Número de brotos emitidos das espécies de pitáia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.

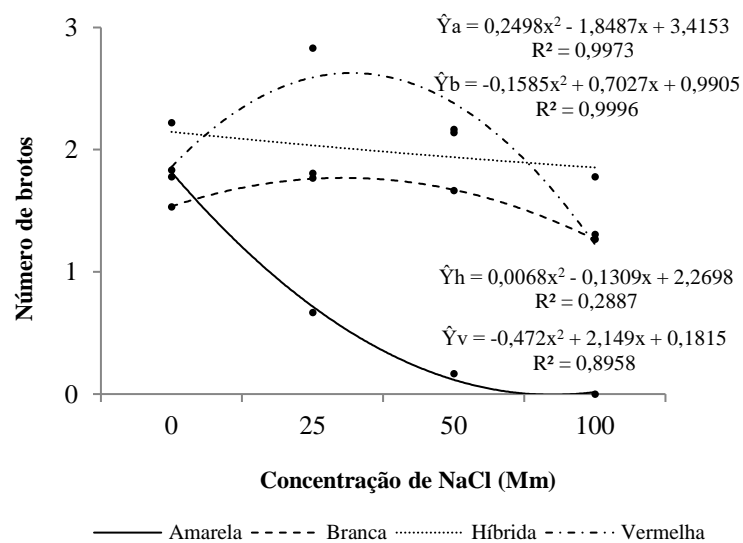
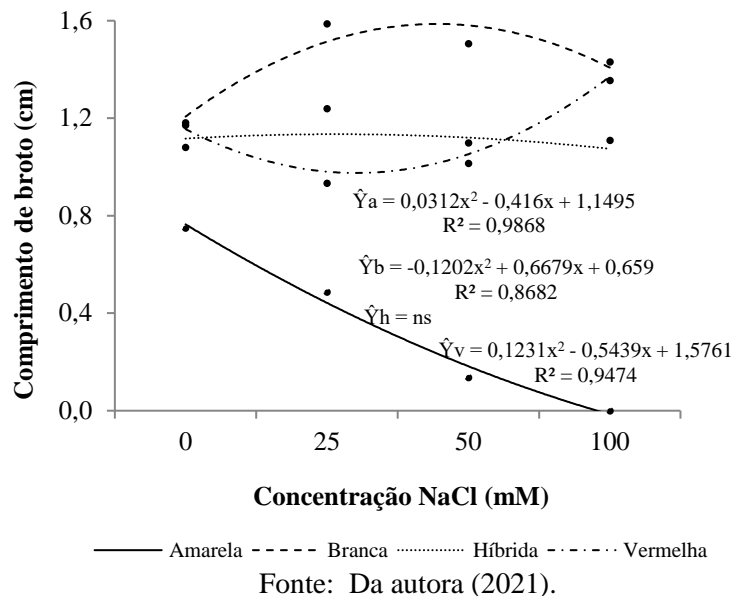


Figura 3 – Comprimento de brotos das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



Em consequência do acúmulo de sais, o ciclo celular e diferenciação podem ser afetados drasticamente interrompendo a expansão celular, ao reduzir a atividade de ciclinas e quinases que resultam em menos células no meristema, limitando o crescimento e síntese enzimática de DNA, RNA, síntese de proteínas e mitose, o que pode comprometer o rendimento agrônomo (SECKIN DINLER; SEKMEN; TURKAN, 2008).

Ahmed *et al.* (2020) observaram que em variedades de batata micropropagadas, expostas aos tratamentos com altas concentrações de NaCl (100-150 mM), levou à inibição da microtuberização e crescimento de estolões, comportando-se de forma similar à espécie de pitaia amarela, que não se desenvolveu quando exposta à maior concentração de NaCl (100 mM).

As espécies de pitaia branca e vermelha apresentaram tolerância ao NaCl em concentração moderada (25 mM), embora tenham sido sensíveis ao incremento em relação a variável número de brotos. Assim como na micropropagação de espinafre, em que houve redução no número de brotos na medida em que concentrações de NaCl foram sendo aumentadas, obtendo menor número de brotos quando submetido ao tratamento de maior concentração (300 mM) (MUCHATE *et al.*, 2019).

Em *Stevia rebaudiana* (Bert.) micropropagada submetida às concentrações de NaCl variando entre 0-80 mM, foram observados menores números de gemas e comprimento de brotos em meio acrescido de 80 mM de NaCl, para ambos no 15º dia e 30º dia de medição

(FALLAH *et al.*, 2017). A pitáia branca apresentou comportamento similar sendo tolerante quando exposta à concentração de 25 mM, mas sensível ao incremento. Ao contrário da pitáia vermelha que obteve aumento no comprimento de brotos conforme as concentrações de NaCl aumentaram.

3.1.2 Comprimento de planta e raiz

A espécie de pitáia híbrida quando submetida às concentrações de NaCl, ao ser estudada a característica comprimento de planta, alcançou maior comprimento de planta na concentração de 25 mM, com aumento de 7,23 % em relação ao tratamento controle (FIGURA 4).

O comprimento de raiz foi influenciado pelas concentrações de NaCl quando utilizadas as espécies amarela, branca e vermelha, que obteve respostas satisfatórias na ausência de NaCl (FIGURA 5).

Figura 4 – Comprimento de planta das espécies de pitáia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.

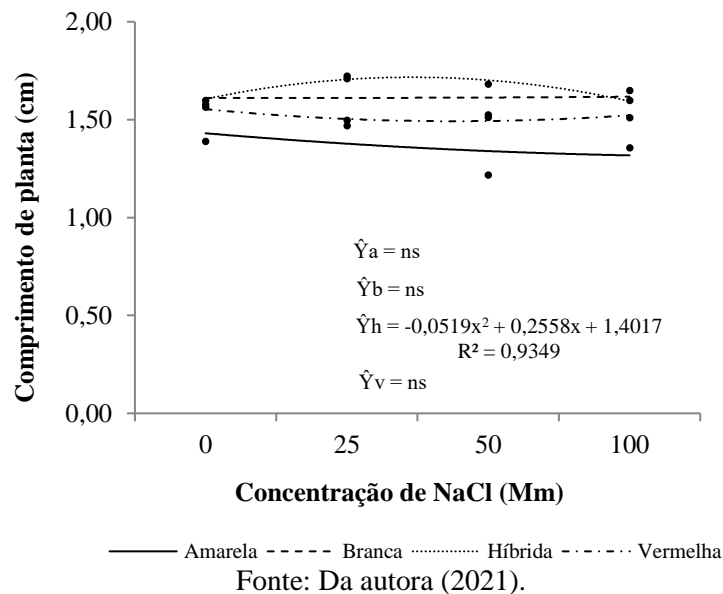
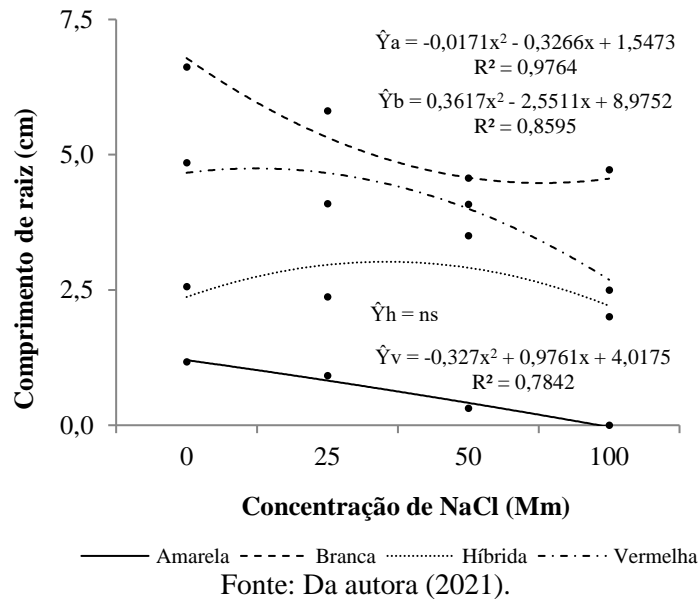


Figura 5 – Comprimento de raiz das espécies de pitaiia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



O crescimento das plantas pode ser inibido em função da toxidez causada pelo acúmulo de sal, pela redução do potencial hídrico dentro da célula, assim como pela redução da atividade mitótica das células durante o impacto ocasionado pelo sal, levando, muitas vezes, à morte celular (CAJERO-SANCHEZ *et al.*, 2019; TABUR; DEMIR, 2009). Pode haver redução na translocação de fotoassimilados, pela baixa taxa de assimilação de carbono, o que compromete o crescimento radicular (VILA *et al.*, 2020).

A espécie de pitaiia híbrida apresentou sensibilidade ao aumento das concentrações de NaCl na variável comprimento de plantas quando exposta às maiores concentrações. Pérez-Jimenez e Pérez-Tomero (2020) relataram que diferentes genótipos da espécie *Citrus macrophylla* expostos às concentrações salinas de 0 e 80 mM de NaCl tiveram seu crescimento afetado em quase todos os genótipos nas condições salinas de 80 mM, com exceção de MMN1.

A capacidade de formação de raízes adventícias em variedades de maçã, a partir de calos desdiferenciados, diminuiu sob estresse salino, assim como seu tamanho. Esses resultados sugerem que o sal (150 mM) inibiu a formação de raízes de plântulas e seu desenvolvimento (GOU *et al.*, 2016), a espécie de pitaiia amarela exposta às maiores concentrações de NaCl apresentou comportamento similar.

Fragmentos vegetativos da espécie *Honckenya peploides* L., que sobrevive em solos arenosos, caracterizada como halófita, apresentaram intolerância ao serem expostos à concentração de 75 mM de NaCl com raízes mais curtas e menos numerosas (KULPA;

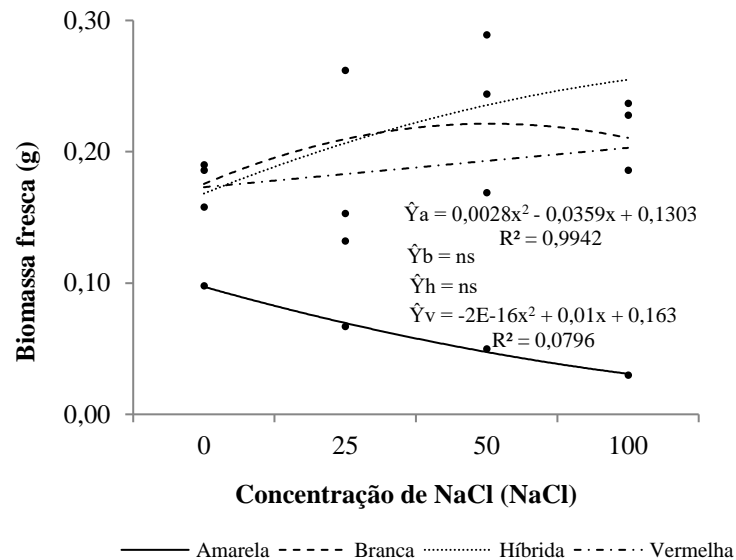
WROBEL; BEDNAREK, 2020), assim como as espécies de pitaiia braca e vermelha que apresentaram menor desenvolvimento radicular.

3.1.3 Biomassa fresca e seca de planta

As pitaiias amarela e vermelha foram influenciadas pelas concentrações de NaCl na avaliação da biomassa fresca, em relação às demais espécies, de forma que o tratamento em que não foi empregado NaCl, obteve melhor resposta em pitaiia amarela, apresentando diferença de 69,39% no teor de biomassa fresca entre o tratamento controle e a maior concentração (100 mM) que obteve menor biomassa fresca. A pitaiia vermelha apresentou maior quantidade de biomassa fresca na concentração de 50 mM (FIGURA 6).

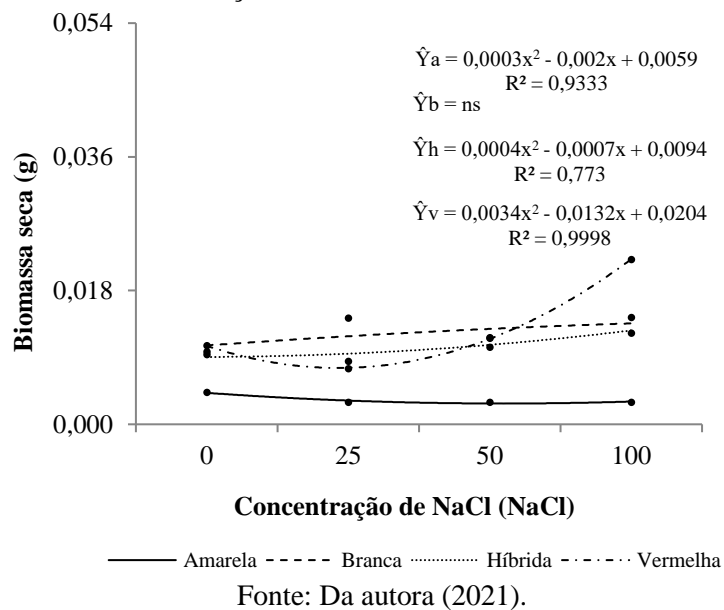
A biomassa seca apresentou significância quando estudadas as espécies amarela, híbrida e vermelha. A pitaiia vermelha e híbrida obtiveram maiores biomassa seca quando submetidas aos tratamentos com maiores concentrações de NaCl. A pitaiia amarela obteve redução da biomassa seca com o aumento da concentração de NaCl (FIGURA 7).

Figura 6 – Biomassa fresca de planta das espécies de pitaiia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



Fonte: Da autora (2021).

Figura 7 – Biomassa seca de planta das espécies de pitaiá amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



A biomassa fresca e seca é um indicador da atividade fotossintética, assim como da quantidade de fotoassimilados que a planta é capaz de acumular, desta forma, as espécies foram afetadas pelos teores de NaCl, pois as concentrações de sal impõem limitação importante de produtividade relacionada aos efeitos adversos sobre o crescimento da planta e metabolismo de carboidrato, ao reduzir a síntese de açúcares pela inativação de enzimas importantes, principalmente, naquelas menos tolerantes (CHATTERJEE; BISWAS; BISWAS, 2017).

A biomassa fresca e seca de brotos originados de explantes nodais micropropagados da espécie medicinal *Bacopa monnieri* (L.) Pennell apresentou redução à medida em que foram aumentadas as concentrações, chegando a obter uma redução de 61,69 % e 40,0 % na maior concentração (200 mM) em relação ao tratamento controle (AHIRE *et al.*, 2013).

Segmentos nodais de *Stevia rebaudiana* B. relatado por Lucho *et al.* (2019) apresentaram sensibilidade ao serem submetidos às concentrações salinas de NaCl variando entre 0 – 1,5 g L⁻¹, tendo sua biomassa fresca e seca reduzida em função do aumento da concentração de NaCl. Comportamento semelhante foi observado na espécie de pitaiá amarela.

3.2 Efeitos da salinidade nas características fisiológicas

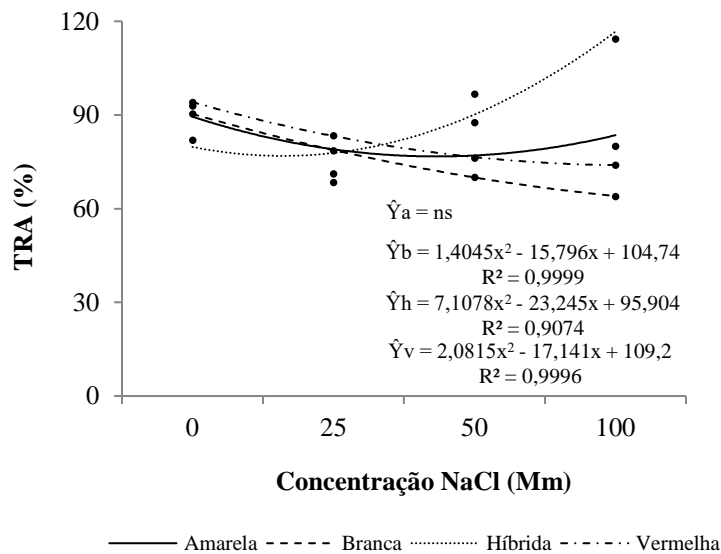
Houve interação significativa nas características fisiológicas entre as concentrações de NaCl e as espécies de pitaiá ($p \leq 0,05$). As espécies de pitaiá foram influenciadas no estudo das variáveis teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, extravasamento de eletrólitos e teor

relativo de água, pelas concentrações de NaCl testadas, tendo-se, por vezes, aumento conforme adição das concentrações de NaCl.

3.2.1 Teor relativo de água (TRA)

A característica teor relativo de água apresentou efeito significativo nas espécies de pitaia branca, híbrida e vermelha, sendo influenciado pelas concentrações de NaCl. A pitaia híbrida obteve resultado significativo ao serem aumentadas as concentrações de NaCl, ao contrário da pitaia branca e vermelha, que responderam melhor ao tratamento sem adição de NaCl (FIGURA 8).

Figura 8 – Teor relativo de água das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



Fonte: Da autora (2021).

Em condições *in vitro*, linhagens transgênicas de pimenta malagueta (*Capsicum annuum*) submetidas às concentrações entre 0-250 mM de NaCl, apresentaram resultados similares ao tratamento onde foi utilizada a espécie de pitaia híbrida, obtendo elevado teor relativo de água (80,2%) quando empregadas altas concentrações salinas (BULLE; YARRA; ABBAGANI, 2016), o que indica tolerância desta espécie.

O efeito do estresse salino no teor relativo de água foi reduzido com o aumento da duração do estresse salino, esta diminuição foi maior no clone hipoteticamente menos tolerante 'Y8', sendo seu valor de 40-50%, de *Eucalyptus Tereticornis*, submetido às concentrações de 0 e 500 mM de NaCl (SINGH; KUMAR, 2021). Na micropropagação de tabaco, os materiais não

transgênicos apresentaram valores inferiores de TRA em comparação às outras linhagens transgênicas quando submetidos à concentração de 200 mM de NaCl (JHA *et al.*, 2021). Resultado similar aos encontrados nas espécies de pitaiá branca e vermelha que foram sensíveis ao aumento da concentração de NaCl.

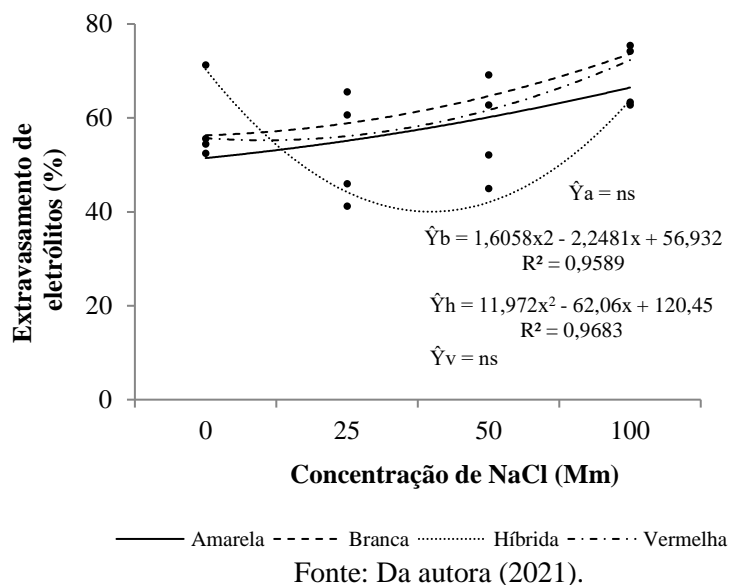
O acúmulo de Na^+ e Cl^- no teor de sal solúvel da célula induz efeitos negativos no potencial da água que obstruem a absorção de água e minerais, resultando em déficit hídrico, o que acarreta danos na atividade celular afetando o desenvolvimento da planta (SINGH; SINGH, 2018).

3.2.2 Extravasamento de eletrólitos (EE)

As espécies de pitaiá branca e híbrida foram influenciadas pelas concentrações de sal, sendo observado menor extravasamento de eletrólitos no tratamento sem adição de NaCl quando utilizada a espécie de pitaiá branca.

A pitaiá híbrida apresentou menor extravasamento de eletrólitos no tratamento submetido à concentração de 25 mM (FIGURA 9).

Figura 9 – Extravasamento de eletrólitos das espécies de pitaiá amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



As condições de sal diminuem a estabilidade da membrana, o que leva ao aumento no extravasamento de eletrólito. Esta interação iônica regula a estrutura, função e síntese de lipídios, principal componente da membrana celular (M'BAREK *et al.*, 2019). Em clones de

alfafa (*Medicago sativa* L.), avaliando-se o extravasamento de eletrólitos, concluiu-se que em altas concentrações de solução salina no meio, 150 mM e 200 mM de NaCl, o dano à membrana foi maior em variedades consideradas menos tolerantes (CAMPANELLI *et al.*, 2013).

Comportamento similar ao das espécies de pitaia branca foi relatado por Darvishani *et al.* (2020) quando estudada a resposta de extravasamento de eletrólitos para gradientes de concentração de NaCl na micropropagação de callus da espécie *Viola odorata*. A adição de NaCl ao meio de cultura induziu aumento significativo no extravasamento de eletrólitos, e atingiu valores máximos quando utilizada a concentração de 150 mM de NaCl.

O aumento da porcentagem de extravasamento de eletrólito nas folhas das plantas de banana transgênica submetidas à concentração salina de 200 mM foi afetado, sendo a variedade UC registrada como 40% e 34%. As plantas de TR apresentaram redução no extravasamento de eletrólito (22–25%) sob estresse salino, isso sugere que pode ser devido à maior atividade do AhcAPX na banana transgênica, que desempenha seu papel na eliminação de ROS e, evita dano aos lipídios da membrana por peroxidação (SHEKHAR *et al.*, 2019).

3.2.3 Pigmentos fotossintéticos

O aumento das concentrações de NaCl apresentou efeito significativo sobre as espécies de pitaia nos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total, com exceção do teor de carotenoides que não apresentou diferença significativa ($p \geq 0,05$). Na quantificação do teor de clorofila *a*, a espécie de pitaia híbrida apresentou maior conteúdo no tratamento sem adição de NaCl. As demais espécies não apresentaram diferença em relação às concentrações de NaCl (FIGURA 10).

As espécies de pitaia que apresentaram efeito significativo quando expostas ao incremento de NaCl, na análise do teor de clorofila *b*, foram as espécies amarela e híbrida, sendo o tratamento submetido à concentração de 100 mM na espécie híbrida aquele que apresentou maior conteúdo do pigmento fotossintético em relação ao tratamento controle. A pitaia amarela obteve maiores conteúdos de clorofila *b* ao serem aumentadas as concentrações de NaCl (FIGURA 11).

Figura 10 – Teor de clorofila a da espécie de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.

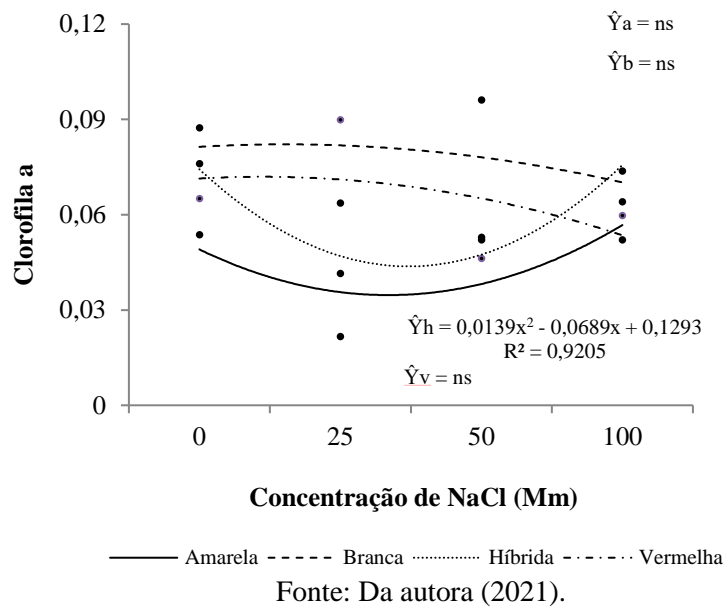
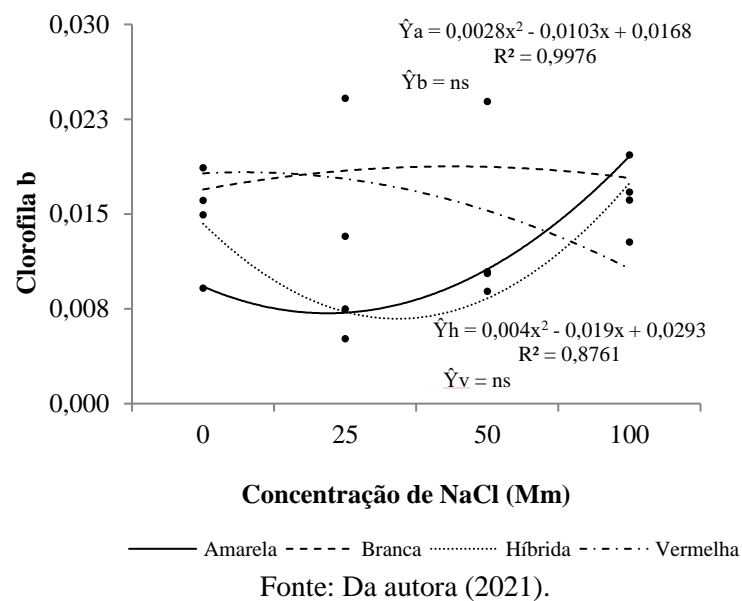
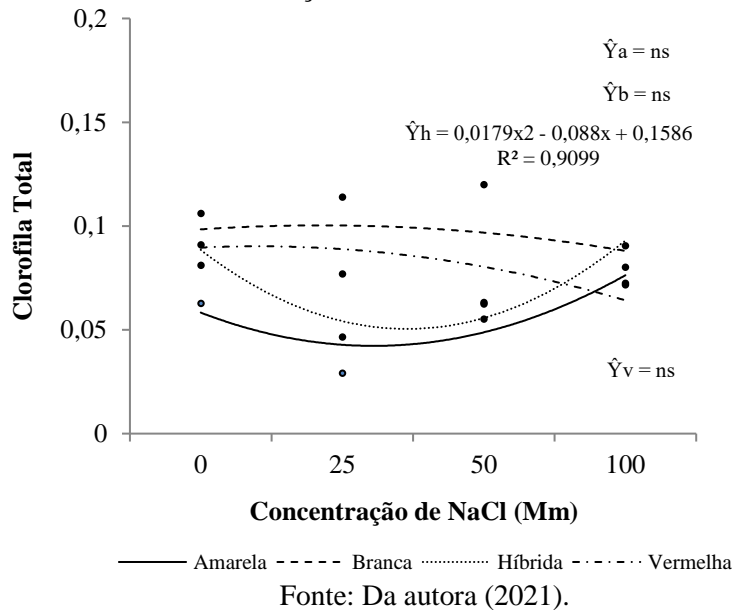


Figura 11 – Teor de clorofila b das espécies de pitaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



A pitaia híbrida apresentou novamente, resultado significativo, sendo o meio não suplementado com NaCl aquele que obteve maior conteúdo de clorofila total (FIGURA 12).

Figura 12 – Teor de clorofila total da espécie de pitiaia amarela, branca, híbrida e vermelha submetidas às concentrações de 0, 25, 50 e 100 mM de NaCl.



O estresse oxidativo causado pela alta absorção de sal, pode levar, muitas vezes, à degradação da clorofila, causando clorose nos tecidos ou redução de sua síntese e aumento da enzima clorofilase (MANOJKUMAR *et al.*, 2021; SANCHEZ-ZABALA; GONZÁLEZ-MURUA; MARINO, 2015). Os teores de clorofila *a* e *b* foram negativamente correlacionados quando NaCl foi adicionado (0-200 mM) diminuindo os níveis comparado ao tratamento controle na micropropagação de explantes caulinares de cana-de-açúcar (GOMEZ *et al.*, 2017).

A pitiaia híbrida apresentou sensibilidade quando exposta às concentrações variando entre 25 mM a 50 mM de NaCl na avaliação das características clorofila *a*, *b* e clorofila total. Já a pitiaia amarela apresentou tolerância quando avaliado o teor de clorofila *b*, alcançando maior conteúdo quando exposta à maior concentração de NaCl.

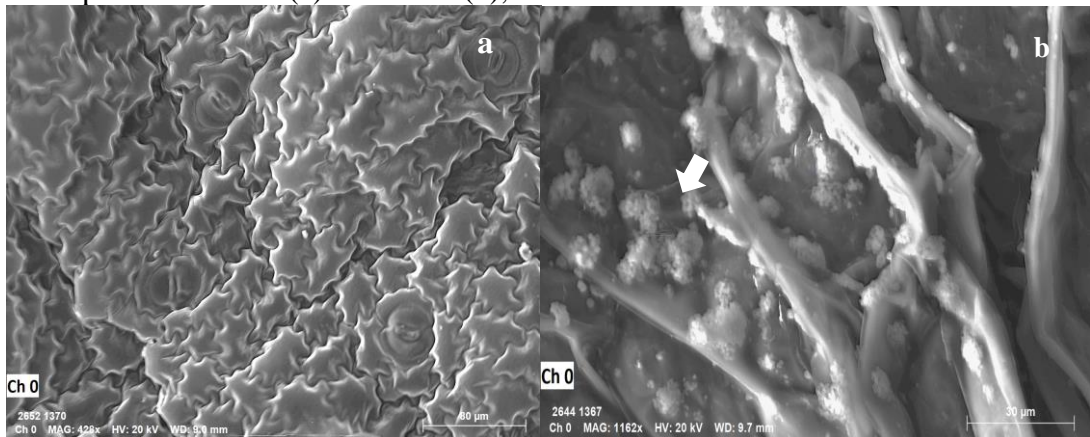
Cha-Um, Samphumphuang e Kirdmanee (2013) micropropagaram cladódios da cactácea ornamental *Echinopsis calochlora* submetida a concentrações de NaCl variando de 0-200 mM, e verificaram decréscimo em até 16,31 % em comparação ao tratamento controle no teor de clorofila *a* em resposta à menor concentração de NaCl (50 mM). Quando submetida à concentração de 50 mM no parâmetro teor de clorofila *b* foi tolerante igualando-se ao tratamento controle, assim como no teor de clorofila total.

3.3 Microscopia eletrônica de varredura

À medida em que os sais se acumulam dentro dos tecidos da planta, as células são incapazes de armazená-los nos vacúolos, de forma que a homeostase iônica, mecanismo natural, é interrompido, e a concentração no citoplasma aumenta, podendo causar toxidez na planta.

Na Figura 13, em que foi realizada a varredura no segmento de cladódio, é possível observar o efeito da salinidade, sendo que a espécie de pitaia vermelha não apresentou alterações nos tecidos vegetais ou cristais de sal visíveis quando submetida à maior concentração de NaCl (FIGURA 13a), foi tolerante ao controlar a absorção e secreção destes íons, ao contrário da pitaia amarela que apresentou acúmulo de sal nos tecidos como é indicado pela seta na Figura 13b, o que sugere maior sensibilidade dessa espécie a altas concentrações salinas (FIGURA 13b).

Figura 13 – Microscopia eletrônica de varredura em segmentos de cladódio das espécies de pitaia vermelha (a) e amarela (b), submetidas ao tratamento de NaCl de 100 mM.



Fonte: Da autora (2021).

4 CONCLUSÃO

O aumento de concentrações de NaCl, teve influência quando utilizadas diferentes espécies de pitaia, de forma que a pitaia amarela apresentou maior sensibilidade ao aumento das concentrações de sal nas variáveis estudadas.

As espécies de pitaia híbrida e branca apresentaram maior tolerância ao aumento de NaCl, e a pitaia vermelha comportou-se de forma intermediária.

A pitaia, de forma geral, foi tolerante à exposição ao NaCl, visto que não houve morte ou alterações morfológicas em relação às espécies utilizadas, que responderam positivamente à adição de NaCl até a concentração de 25 mM, quando estudadas as características fitotécnicas. A espécie híbrida foi a espécie de pitaia que apresentou maior resposta ao serem avaliadas as características fisiológicas.

REFERÊNCIAS

- AHIRE, M. L. *et al.* Effect of sodium chloride-induced stress on growth, proline, glycine betaine accumulation, antioxidative defence and bacoside A content in vitro regenerated shoots of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s.l.], v. 35, n. 6, p. 1943-1953, 2013.
- AHMED, H. A. A *et al.* Variability in salinity stress tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties using in vitro screening. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 44, 2020.
- BARRS, H.; WEATHERLEY, P. A Re-Examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficits in Leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 15, n. 3, p. 413-428, 1962.
- BULLE, M.; YARRA, R.; ABBAGANI, S. Enhanced salinity stress tolerance in transgenic chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) plants overexpressing the wheat antiporter (TaNHX2) gene. **Molecular Breeding**, [s.l.], v. 36, n. 4, p. 36, 2016.
- CAJERO-SANCHEZ, W. *et al.* Natural Root Cellular Variation in Responses to Osmotic Stress in *Arabidopsis thaliana* Accessions. **Genes**, [s.l.], v. 10, n. 12, p. 983, 2019.
- CAMPANELLI, A. *et al.* Alfalfa (*Medicago sativa* L.) clones tolerant to salt stress: in vitro selection. **Open Life Sciences**, [s.l.], v. 8, n. 8, p. 765-776, 2013.
- CAMPBELL, B. M. *et al.* Reducing risks to food security from climate change. **Global Food Security**, [s.l.], v. 11, p. 34-43, 2016.
- CHARFEDDINE, M. *et al.* Investigation of the response to salinity of transgenic potato plants overexpressing the transcription factor StERF94. **Journal of Biosciences**, [s.l.], v. 44, n. 6, p. 141. 2019.
- CHATTERJEE, P.; BISWAS, S.; BISWAS, A. K. Amelioration of salinity stress by NaCl pretreatment with reference to sugar metabolism in legumes *Cajanas cajan* L. and *Vigna mungo* L. **Plant Science Today**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 28-40, 2017.
- CHATZISSAVVIDIS, C. *et al.* Responses of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) to continuously and gradually increasing NaCl concentration. **Acta Botanica Croatica**, [s.l.], v. 73, n. 1, p. 275-280, 2014.
- CHA-UM, S.; SAMPHUMPHUANG, T.; KIRDMANEE, C. Morphological and physio-biochemical changes of in vitro cactus (*Echinopsis calochlora*) in responses to salt stress. **Europ. J. Hort. Sci**, [s.l.], v. 78, n. 5, p. 225-231, 2013.
- DARVISHANI, S. N. H. *et al.* In-vitro physiochemical responses of *Viola odorata* plant to combined salt and drought stress. *Acta Scientiarum Polonorum*. **Hortorum Cultus**, [s.l.], v. 19, n. 4, 2020.

FALLAH, F. *et al.* Effect of salinity on gene expression, morphological and biochemical characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni under in vitro conditions. **Cellular and Molecular Biology**, [s.l.], v. 63, n. 7, p. 102-106, 2017.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

GAJENDER, G. S. *et al.* Performance of edible cactus (*Opuntia ficus-indica*) in saline environments. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 84, n. 4, p. 509-513, 2014.

GOMEZ, D. *et al.* Salinity induces specific metabolic changes in sugarcane shoot explants in temporary immersion bioreactors. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, [s.l.], v. 90, p. 354-358, 2017.

GÓMEZ, D. *et al.* Temporary immersion bioreactors (TIB) provide a versatile, cost-effective and reproducible in vitro analysis of the response of pineapple shoots to salinity and drought. **Acta Physiologiae Plantarum**, [s.l.], v. 39, n. 12, p. 277, 2017.

GOU, W. *et al.* Salinity-induced callus browning and re-differentiation, root formation by plantlets and anatomical structures of plantlet leaves in two malus species. **Pakistan Journal of Botany**, [s.l.], v. 48, n. 4, p. 1393-1398, 2016.

HANIN, M. *et al.* New Insights on Plant Salt Tolerance Mechanisms and Their Potential Use for Breeding. **Frontiers in Plant Science**, [s.l.], v. 7, n. 1787, 2016.

JHA, R. K. *et al.* Introgression of a novel cold and drought regulatory-protein encoding CORA-like gene, SbCDR, induced osmotic tolerance in transgenic tobacco. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 172, n. 2, p. 1170-1188, 2021.

KULPA, D.; WROBEL, M.; BEDNAREK, M. Type of Explant Affects In Vitro Development and Multiplication Success of the Rare Halophyte Plant *Honckenya peploides* L. Ehrh. **Plants-Basel**, [s.l.], v. 9, n. 11, p. 12. 2020.

LI, H.; TANG, C.; XU, Z. The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis in vitro. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v.150, p. 117-124, 2013.

LIU, X. M. *et al.* Irrigation with magnetically treated saline water influences the growth and photosynthetic capability of *Vitis vinifera* L. seedlings. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 262, n. 11, p. 109056, 2020.

LUCHO, S. R. *et al.* Salt Stress-Induced Changes In Vitro Cultured *Stevia rebaudiana* Bertoni: Effect on Metabolite Contents, Antioxidant Capacity and Expression of Steviol Glycosides-Related Biosynthetic Genes. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 38, n. 4, p. 1341-1353, 2019.

MANOJKUMAR, P. *et al.* Effect of physiological and morphological response of *Musa acuminata* under stress condition with different salinity levels using IoT. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [s.l.], [s.v.], [s.n.], p. 1-12, 2021.

- MARSIC, N. K. *et al.* Photosynthetic traits of plants and the biochemical profile of tomato fruits are influenced by grafting, salinity stress, and growing season. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 66, n. 22, p. 5439-5450, 2018.
- M'BAREK, K. *et al.* The mode of action of allelochemicals aqueous leaf extracts of some Cupressaceae species on lettuce. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 252, p. 29-37, 2019.
- MOZAFARI, A. A. *et al.* Comparative investigation of structural relationships among morpho-physiological and biochemical properties of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) under drought and salinity stresses: A study based on in vitro culture. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 256, p. 108601, 2019.
- MOU, M. *et al.* Functional characterization of the Arabidopsis SERRATE under salt stress. **Plant Diversity**, [s.l.], v. 43, n. 1, p. 71-77, 2021.
- MUCHATE, N. S. *et al.* NaCl induced salt adaptive changes and enhanced accumulation of 20-hydroxyecdysone in the in vitro shoot cultures of *Spinacia oleracea* (L.). **Scientific Reports**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, M.; PÉREZ-TORNERO, O. In Vitro Plant Evaluation Trial: Reliability Test of Salinity Assays in Citrus Plants. **Plants**, [s.l.], v. 9, n. 10, p. 1352, 2020.
- PHILLIPS, G. C.; COLLINS, G. B. In Vitro Tissue Culture of Selected Legumes and Plant Regeneration from Callus Cultures of Red Clover1. **Crop Science**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 59-64, 1979.
- RIVERO, R. M. *et al.* The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. **Plant, Cell & Environment**, [s.l.], v. 37, n. 5, p. 1059-1073, 2014.
- ROY, S.; TESTER, M.; NEGRÃO S. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115-124, 2014.
- SANCHEZ-ZABALA, J.; GONZÁLEZ-MURUA, C.; MARINO, D. Mild ammonium stress increases chlorophyll content in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 10, n. 3, p. 991596, 2015.
- SCOPEL, W.; BARBOSA, J. Z.; VIEIRA, M. L. Extração de pigmentos foliares em plantas de canola. **Unoesc & Ciência**, ACET, v. 2, n. 1, p. 87-94, 2011.
- SECKIN D., B., SEKMEN, A.; TURKAN, I. An Enhancing Effect of Exogenous Mannitol on the Antioxidant Enzyme Activities in Roots of Wheat Under Salt Stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 12-20, 2009.
- SHEKHAR, S. *et al.* Groundnut AhcAPX conferred abiotic stress tolerance in transgenic banana through modulation of the ascorbate–glutathione pathway. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [s.l.], v. 25, n. 6, p. 1349-1366, 2019.

- SHI, Q. *et al.* Effects of Different Treatments of Salicylic Acid on Heat Tolerance, Chlorophyll Fluorescence, and Antioxidant Enzyme Activity in Seedlings of *Cucumis sativa* L. **Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 48, n. 2, p. 127-135, 2006.
- SINGH, D.; KUMAR, A. In Vitro Screening and Characterization of Selected Elite Clones of *Eucalyptus tereticornis* Sm. for Salt Stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 40, n. 2, p. 694-706, 2021.
- SINGH, M.; SINGH, V. V. Physiological approaches for breeding drought tolerant brassica genotypes. **Sabrao Journal of Breeding and Genetics**, v. 50, n. 3, p. 360-372, 2018.
- TABUR, S.; DEMIR, K. Role of some growth regulators on cytogenetic activity of barley under salt stress. **Plant Growth Regulation**, [s.l.], v. 60, n. 2, p. 99-104, 2008.
- ULLAH, A. *et al.* Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 25, n. 33, p. 33103-33118, 2018.
- VILA, H. F. *et al.* A dynamic model for sodium intoxication unravels salt tolerance in grapevine (*Vitis vinifera* L.) rootstocks. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo**, [s.l.], v. 52, n. 2, p. 88-101, 2020.
- WANG, L. *et al.* The highly drought-tolerant pitaya (*Hylocereus undatus*) is a non-facultative CAM plant under both well-watered and drought conditions. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 94, n. 5, p. 643-652, 2019.
- ZHU, J. K. Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. **Cell**, [s.l.], v. 167, n. 2, p. 313-324, 2016.