



MARIANA DE VASCONCELOS DIAS

**INDUÇÃO DE ESTRESSE SALINO *in vitro* DE *Hylocereus*
spp.**

**LAVRAS-MG
2022**

MARIANA DE VASCONCELOS DIAS

INDUÇÃO DE ESTRESSE SALINO *in vitro* DE *Hylocereus* spp.

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.

Prof. Dr. Moacir Pasqual

Orientador

Prof. Dr. Filipe Almendagna Rodrigues

Coorientador

**LAVRAS-MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pela própria autora.

Dias, Mariana de Vasconcelos.

Indução de estresse salino *in vitro* de *Hylocereus* spp. / Mariana
de Vasconcelos Dias. - 2022.

53 p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual.

Coorientador: Filipe Almendagna Rodrigues.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Salinidade. 2. Pitaia. 3. Cactaceae. I. Pasqual, Moacir. II.
Rodrigues, Filipe Almendagna. III. Título.

MARIANA DE VASCONCELOS DIAS

INDUÇÃO DE ESTRESSE SALINO *in vitro* DE *Hylocereus* spp.

SALT-STRESS INDUCTION *in vitro* OF *Hylocereus* spp.

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 15 de julho de 2022.

Dr. Moacir Pasqual UFLA

Dr. Filipe Almendagna Rodrigues UFLA

Dra. Claudinéia Ferreira Nunes UFMG

Dra. Nubia Pereira da Costa UFPB

Prof. Dr. Moacir Pasqual
Orientador

Prof. Dr. Filipe Almendagna Rodrigues
Coorientador

**LAVRAS-MG
2022**

*“Seu futuro não está escrito, o de ninguém está.
Você pode fazer o que quiser fazer”*. - **De volta para o futuro**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente A Deus e a Nossa Senhora, pelas graças que fizeram em minha vida e pela força para enfrentar os obstáculos, a fé nunca me abandonou.

Aos meus pais, pela inspiração, incentivo, apoio, amizade e conselhos, a distância dói, mas no futuro tudo valerá a pena.

À Universidade Federal de Lavras, principalmente ao Departamento de Agricultura, pela chance de cursar a pós graduação em Fitotecnia, nessa universidade tão renomada na área de Agrárias.

À CAPES, pelo apoio com a concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Moacir Pasqual, pela oportunidade de participar do laboratório, pela orientação e apoio.

Ao professor e coorientador Filipe Almendagna, pela orientação, conselhos, sugestões, boas conversas incluindo sobre bandas e músicas, pelas risadas e por toda a disposição para ajudar.

À professora Joyce Dória, pelo apoio e pela oportunidade de auxiliar nas disciplinas como estágio à docência.

Aos membros da banca, Núbia Pereira da Costa e Claudinéia Ferreira Nunes, pela disposição e gentileza de aceitar a participação na avaliação deste trabalho.

Ao pessoal do laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, ao técnico Vantuil pelas sugestões e ajuda na elaboração e montagem do experimento, ao técnico Celso pela disposição e prontidão. Aos amigos e colegas de laboratório pela ajuda em avaliações, em especial a Mariana Ribeiro, Ronilson Carlos, Deniete e Otávio, obrigada pelas boas risadas e conversas também.

À secretária da Fitotecnia Marli dos Santos Túlio, pela prontidão em sempre me ajudar a tirar minhas dúvidas.

Ao meu amigo do mestrado Carlos Milagres, na qual me acompanhou em todas as disciplinas e trabalhos, obrigada pelo carinho e apoio.

Ao meu namorado Valter Campos, obrigada por todo o apoio prestado, pela amizade, carinho, amor, risadas, companheirismo e por nunca soltar a minha mão.

Aos meus amigos da Paraíba, que mesmo de longe ainda torcem por mim

E aos novos amigos de Minas Gerais, em especial a Natasha Ferreira, Yago Bertolucci, Thayanna Silva, Rafaela Carvalho e Renata Amato, pelos conselhos, bons momentos, risadas, companheirismo e pela ajuda.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

RESUMO

A pitaia é uma espécie pertencente à família das Cactáceas que vem ganhando cada vez mais destaque no mercado, além de ser altamente tolerante a estresses. O cultivo *in vitro* de plantas é uma técnica biotecnológica que tem sido empregada para alcançar altas taxas de multiplicação, além de possibilitar a seleção de genótipos adaptados aos estresses abióticos. O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento das espécies de pitaia em função da indução ao estresse salino *in vitro*. O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. Fragmentos apicais de cerca de 1,5 cm de comprimento das espécies *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus*, e o híbrido entre as espécies *Hylocereus polyrhizus* x *Hylocereus undatus* foram multiplicados *in vitro*, expostos a concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM) no meio de cultura MS, o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4. Após 60 dias de cultivo, foram avaliadas as características morfométricas e fisiológicas das plantas em resposta à condição de estresse salino. As concentrações de NaCl influenciaram nas variáveis morfométricas como altura da planta, número de raízes, comprimento da maior raiz, número e comprimento de brotos, massa seca e fresca da planta. A pitaia branca apresentou maiores reduções em seus parâmetros, já a pitaia vermelha mostrou certo grau de tolerância. As variáveis fisiológicas, como extravasamento de eletrólitos e integridade da membrana, aumentaram de acordo com o incremento nas concentrações de NaCl, independente da espécie de pitaia. Considera-se que as características morfométricas, o acúmulo de matéria seca e as características fisiológicas permitiram identificar os efeitos da salinidade, concluindo que as espécies avaliadas nesse estudo são moderadamente adaptadas.

Palavras-chave: NaCl. Salinidade. Pitaia. Cactaceae.

ABSTRACT

The pitahaya is a specie from cactacea's family that has been gaining more prominence in the market, in addition to being high tolerant to drought. Plant tissue culture is a biotechnological technique that has been used to high multiplication rates as well as enabling the selection of genotypes tolerant to abiotic stresses. The aim of this study was to evaluate the behavior of pitahaya species in function salt-stress induction *in vitro*. The experiment was conducted at the Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. Apical fragments of 1.5 cm from the species *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus*, and the hybrid between the species *Hylocereus polyrhizus* x *Hylocereus undatus* were multiplied *in vitro*, submitted to concentrations of NaCl (0, 50, 100 and 150 mM) in MS culture medium, the design used was entirely randomized in a 3 x 4 factorial scheme. After 60 days of cultivation, the morphometric and physiological characteristics of plants in response to salt stress condition were evaluated. NaCl concentrations influenced the morphometric variables such as plant length, number of roots, length of the biggest root, fresh and dry mass, number and length of budding. *H. undatus* showed more reductions in its parameters, while the *H. polyrhizus* showed some degree of tolerance. The physiological variables, like electrolyte leakage and membrane integrity increased according to the increment in NaCl concentrations, independent of the pitahaya species. It was considered that the morphometric variables, dry mass accumulation, and physiological variables allowed the identification of the effects of salinity, concluding that the species evaluated in this study are moderately adapted.

Keywords: NaCl. Salinity. Pitahaya. Cactaceae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Cultivo <i>in vitro</i> de <i>H. polyrhizus</i> oriundas de sementes germinadas	27
Figura 2 -	Instrumentos utilizados para as análises morfométricas	28
Figura 3 -	Análise de extravasamento de eletrólitos	29
Figura 4 -	Leitura dos teores de clorofila e carotenoides	30
Figura 5 -	Crescimento de pitaia branca (<i>H. undatus</i>) em função do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100, 150 mM)	32
Figura 6 -	Crescimento de pitaia vermelha (<i>H. polyrhizus</i>) em função do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100, 150 mM)	33
Figura 7 -	Crescimento de pitaia híbrida (<i>H. polyrhizus</i> x <i>H. undatus</i>) em função do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100, 150 mM)	33
Figura 8 -	Crescimento das espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	35
Figura 9 -	Número de raízes em diferentes espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	36
Figura 10 -	Comprimento da maior raiz em diferentes espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	37
Figura 11 -	Massa fresca em diferentes espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	38
Figura 12 -	Massa seca em diferentes espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	39
Figura 13 -	Número de brotos de pitaia em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	43
Figura 14 -	Comprimento de brotos de pitaia em função da indução do estresse salino <i>in vitro</i> nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM)	41
Figura 15 -	Diâmetro das espécies de pitaia em função do estresse salino	42

Figura 16 -	Teor relativo de água das espécies de pitaia	42
Figura 17 -	Extravasamento de eletrólitos e a integridade da membrana em função da concentrações de NaCl e espécies de pitaia	44
Figura 18 -	Clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e e carotenoides (D) de pitaia sob diferentes concentrações de NaCl durante o cultivo <i>in vitro</i>	46

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO	13
1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Características da pitaia	15
2.2 Propagação da pitaia	16
2.3 Estresse salino	16
2.4 Cultivo <i>in vitro</i> de plantas	18
3 REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO II: INDUÇÃO DO ESTRESSE SALINO <i>in vitro</i>: AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS E FISIOLÓGICAS	26
1 INTRODUÇÃO	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Micropropagação da pitaia	27
2.2 Análises morfométricas	28
2.3 Análises fisiológicas	28
2.3.1 Extravasamento de eletrólito	28
2.3.2 Teor relativo de água	29
2.3.3 Teor de clorofila e carotenoides	30
2.4 Delineamento experimental e análise estatística	31
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.1 Efeito do NaCl nas características morfométricas	32
3.1.1 Altura da planta	34
3.1.2 Número de raízes	35
3.1.3 Comprimento da maior raiz	36
3.1.4 Massa fresca e massa seca da planta	38
3.1.5 Número e comprimento de brotações	40
3.1.6 Diâmetro do caule	41
3.2 Efeito do NaCl nas características fisiológicas	42
3.2.1 Teor relativo de água	42
3.2.2 Extravasamento de eletrólitos e integridade da membrana	43
3.2.3 Teor de clorofila <i>a</i>, <i>b</i>, total e carotenoides	45
4 CONCLUSÕES	48
5 REFERÊNCIAS	49

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com características de clima bastante diversificado, o que possibilita o cultivo das mais variadas espécies de plantas em seu território. Uma frutífera que vem ganhando cada vez mais destaque e espaço comercialmente é a pitaia (*Hylocereus* spp.), conhecida também como fruta-do-dragão. É uma espécie da família das Cactáceas e ordem Caryophyllales, originária da América Central (WONG e SIOW, 2015). As cactáceas são plantas xerófitas, perenes, suculentas e geralmente espinhosas, o caule é dividido constituindo os cladódios.

A pitaia está sendo cultivada comercialmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo (HOA e WADDEL, 2006). Nos últimos anos, a pitaia foi aceita como uma importante frutífera devido ao seu rico conteúdo em nutrientes, além dos benefícios à saúde (NALL, 2019). A presença de compostos fenólicos e antioxidantes, como pigmentos chamados “betalaínas”, no fruto da pitaia, ajudam nos processos de digestão e prevenção do cancro, entre outros problemas associados a ataques cardíacos. (MORENO-LEY et al., 2021). Embora o fruto seja o produto mais consumido, toda a planta pode ser usada na alimentação e também na medicina (CASTILLO-MARTÍNEZ et al., 2005). Com o crescente interesse por esta frutífera, é importante que novos estudos sejam feitos com o objetivo de disponibilizar informações a respeito do seu comportamento em regiões com potencial de cultivo no país.

A propagação de pitaia é comumente realizada por sementes ou estaquia. No entanto, plantas propagadas por sementes possuem longo período juvenil, além de que na propagação por estaquia há grande risco de disseminação de doenças. Já a utilização da cultura de tecidos possibilita obtenção de plantas saudáveis e produção de mudas em larga escala, a partir de pequena quantidade de material propagativo (MENEZES et al., 2012).

O cultivo *in vitro* consiste em um conjunto de técnicas, mediante as quais células, tecidos, órgãos e plantas inteiras são cultivados em meio nutritivo, sob condições controladas de fotoperíodo e temperatura (CARVALHO et al., 2011). A micropropagação é um método rápido e confiável que proporciona a produção de grande número de clones

uniformes em curto espaço de tempo, e o estoque de germoplasma pode ser mantido por muitos anos (KHAN et al., 2020).

Esse método apresenta-se como possibilidade de produção de mudas de plantas em grande escala, manutenção das características genéticas, mediar processos biotecnológicos e tudo isso se constitui em importante instrumento no desenvolvimento da agricultura.

Já as mudanças ambientais e climáticas estão prejudicando o desenvolvimento das plantas, podendo alcançar a segurança alimentar. Tais alterações ambientais desfavoráveis/estresses abiótico, incluindo seca, salinidade, altas e baixas temperaturas têm efeitos biológicos e bioquímicos adversos no crescimento edesenvolvimento das plantas, e dentre os diversos estresses que as plantas estão expostas,o estresse salino é um dos principais contribuintes para redução da produtividade em áreasagrícolas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características da pitaia

A pitaia ou fruta-do-dragão, como também é conhecida, é uma espécie pertencente à família das Cactáceas. De acordo com Mizrahi et al. (1997), essa família engloba cerca de 35 espécies com potencial para fins alimentares, principalmente àquelas dos gêneros *Hylocereus*, *Selenicereus*, *Cereus*, *Leptocereus*, *Escontria*, *Myrtilloactos*, *Stenocereus* e *Opuntia*.

Pertencentes ao gênero *Hylocereus*, as pitaias são herbáceas e perenes, distribuídas em regiões subtropicais e tropicais, e são altamente tolerantes a seca. Plantas do gênero *Hylocereus* utilizam o caminho do metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), que confere a estas, capacidade aprimorada de se adaptar às condições xerofíticas e, ao mesmo tempo, fornece uma cultura alternativa eficiente e de alto valor ao uso da água para os agricultores (MIZRAHI, 2014). Apesar de ser rústica, que se adapta com facilidade, requer uma adubação rica em matéria orgânica e nutrientes, tais como nitrogênio, potássio e fósforo (ORTIZ-HERNANDEZ, 2000).

Há cinco tipos principais de espécies de pitaia, que são diferenciadas principalmente com base nas características do fruto, a *Hylocereus undatus*, é caracterizada por frutos de polpa branca e casca rosada, *Hylocereus polyrhizus* com frutos com polpa vermelha e casca rosada, *Hylocereus costaricensis*, com polpa vermelho/violeta e casca rosada, *Hylocereus guatemalensis*, com polpa vermelha e casca laranja-avermelhada, e *Hylocereus megalanthus* com polpa branca e casca amarela (ARIVALAGAN et al., 2021).

O cultivo comercial da pitaia teve início no Vietnã. Na década de 90, foi o primeiro país a vender a fruta para outras regiões do mundo. Atualmente, mais de 20 países cultivam e comercializam a fruta (MIZHARI et al., 2004). No Brasil a cultura foi introduzida recentemente, as áreas de produção estão situadas principalmente no estado de São Paulo, além disso há uma espécie nativa da região do Cerrado, popularmente conhecida como “Pitaia saborosa” (*Hylocereus setaceus*), que possui casca vermelha, é espinhosa e possui polpa branca (JUNQUEIRA et al., 2002).

Esse crescente consumo de frutas exóticas agregadas ao valor comercial, tem despertado interesse pelo plantio e cultivo dessa frutífera (MOREIRA et al., 2011). Características como: sabor doce e suave, polpa firme e repleta de sementes, têm despertado interesse nos produtores por sua grande aceitação nos mercados

consumidores. O fruto da pitiaia é consumido in natura ou processado para uso na indústria de sucos, sorvetes, geleias e doces (GUNASENA et al., 2007). O alto valor pago pelo quilo da fruta, também constitui grande atrativo para o plantio (LOPES et al., 2016).

É relatado que a pitiaia tem vários compostos que contribuem para a saúde, como polifenóis, flavonoides e vitamina C, que conferem grande potencial antioxidante (NURLIYANA et al., 2010). Além disso, os frutos são abundantes em nutrientes, açúcares solúveis, proteínas e minerais, como potássio, magnésio e cálcio, junto com outros compostos bioativos (TRAN et al., 2015). As flores podem ser ingeridas ou usadas em chás para combater problemas renais. As cascas são ricas em pectinas, betacianinas e fibras, podendo ser aproveitadas como fonte desses produtos (JAMILAH et al., 2011). Os cladódios, embora menos comuns, também podem ser utilizados na alimentação animal e humana (MAGALHÃES, 2017).

2.2 Propagação da pitiaia

A propagação pode ser feita por meio sexuado ou propagativo. A propagação via sementes é utilizada quando se almeja variabilidade genética para uso em programas de melhoramento genético que visem à seleção de materiais com características desejáveis, como produtividade, aparência externa, coloração de polpa e melhor adaptação às diferentes condições climáticas (ANDRADE et al., 2008). Já a propagação vegetativa é realizada preferencialmente por estaquia ou enxertia. A estaquia proporciona diversas vantagens em relação à propagação sexuada, como a redução da juvenilidade e manutenção das características da planta matriz (HARTMANN et al., 1997). Em pomares estabelecidos com mudas obtidas de pé-franco, a formação de frutos ocorre em até três anos após o plantio (LE BELLEC et al., 2006).

A propagação vegetativa também pode se dar pela cultura de tecidos, tal método é indicado quando o material vegetativo que se deseja multiplicar possui grande importância, seja escasso, necessite de limpeza de patógenos ou demande conservação de germoplasma (SILVA, 2014).

2.3 Estresse salino

Mudanças ambientais e estresses abióticos, incluindo seca, salinidade, alta e baixa temperatura, tem efeitos biológicos e bioquímicos adversos no crescimento e desenvolvimento das plantas (DEBBARMA et al., 2019). A salinidade é um dos

principais fatores de estresse que afetam a produtividade das culturas (GREWAL, 2010). Espera-se que até 2050 estresses abióticos, como salinidade, seca e temperaturas extremas, irão afetar o rendimento da colheita em até 50%, com redução da produtividade.(FAO, 2015). A exposição das plantas às condições ambientais desfavoráveis, induz a um estado de estresse que pode ativar várias vias metabólicas. As espécies reativas de oxigênio são produzidas normalmente durante os processos oxidativos biológicos, mas seus efeitos são incrementados sob condições estressantes em diversos sítios intracelulares como mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (LIMÓN-PACHECO & GONSEBATT, 2009)

O estresse salino induz a um choque osmótico quando as plantas são expostas a grandes diferenças osmóticas com alta concentração de NaCl, e isso pode ocorrer na agricultura quando água salina é aplicada na irrigação (SHAVRUKOV, 2013). O crescimento de plantas expostas à salinidade apresenta aspectos similares que os para o déficit hídrico, exceto pela adição da citotoxicidade iônica resultante do estresse salino. O efeito negativo da salinidade no crescimento de plantas tem sido inicialmente associado ao estresse osmótico causado pela redução do potencial de água no solo, restringindo a absorção de água pelas raízes. O aumento da concentração de íons na região radicular pode levar a redução na absorção de água nessa região, contribuindo para a redução da condutividade da raiz, consequentemente, reduzindo a absorção de água. Se a taxa de transpiração for maior que a absorção de água, é configurado o déficit hídrico, resultando em diminuição na taxa fotossintética e na taxa de crescimento (HASANUZZAMAN et al., 2013).

De acordo com Joseph et al. (2015), as respostas das plantas ao estresse salino podem depender do tipo do sal, sua concentração e do genótipo da planta. O desenvolvimento e a seleção de genótipos, envolve estudos sobre a mecanismos de tolerância da cultura, e, portanto, é necessário conhecer as respostas das plantas ao estresse salino (GRANJA et al., 2018).

A técnica de cultura de tecidos vegetais, mesmo que aplicada em condições ambientais esterilizadas e controladas, o método *in vitro* torna possível investigar e estudar as reações das plantas contra as tensões abióticas.

A seleção *in vitro* de linhas tolerantes em plantas regeneradas foram relatadas em várias espécies (BADAWY et al., 2008). PEG, sacarose, manitol ou sorbitol já foram utilizados em várias pesquisas como agentes indutores de estresse osmótico para seleção *in vitro*. O uso de NaCl diminui o potencial hídrico do meio, além do elevado efeito

fitotóxico de íons Na^+ quando na presença de altas concentrações de NaCl (CLAEYS et al., 2014).

2.4 Cultivo *in vitro* de plantas

A cultura de tecidos vegetais permite o cultivo de explantes, tais como células, tecidos ou órgãos isolados da planta mãe, em condições de elevada assepsia e rigoroso controle nutricional, de luminosidade e temperatura (GEORGE et al., 2008).

O princípio do cultivo *in vitro* teve origem a partir de uma série de trabalhos de Haberlandt, realizados em 1902, tendo como base o princípio da totipotência celular, que indica que qualquer célula vegetal tem o potencial para regenerar uma nova planta completa. Vários estudos foram realizados para caracterizar a totipotência das células vegetais em termos de morfologia, fisiologia e biologia molecular (SUGIYAMA, 2015). A cultura de tecidos compreende diversas técnicas, dentre as quais se destaca a micropropagação, também conhecida por clonagem ou propagação vegetativa *in vitro* (FREITAS, 2014). A micropropagação é um termo geral que se refere a propagação de plantas sob condições assépticas em meio sintético *in vitro*, às vezes, refere-se especificamente a uma planta clonal inteiramente multiplicada por meio de culturas de brotos/botões axilares (OGITA, 2015).

Assim, a cultura de tecidos vegetais apresenta-se como possibilidade de produção de mudas em grande escala, manutenção das características genéticas, mediar processos biotecnológicos e tudo isso, se constitui em importante instrumento no desenvolvimento da agricultura e conseqüentemente, na produção vegetal. Cabe ressaltar ainda, que a reprodução das plântulas *in vitro*, embora apresente custo mais elevado, permite o desenvolvimento mais rápido quando comparado com aquelas obtidas por germinação em viveiros ou sistemas naturais (CORREIA et al., 2011).

O meio de cultura utilizado para o cultivo fornece macro- e micronutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento da plântula *in vitro*. O meio de cultura apresenta também de forma geral em sua composição: água destilada e/ou deionizada e vitaminas, além de uma fonte de carbono externa (comumente a sacarose, na concentração de 2 a 5 %). Outros componentes, tais como aminoácidos, carvão ativado, antioxidantes e misturas complexas (água de coco, polpa de banana, etc.) podem ser adicionados ao meio a fim de otimizar determinada resposta, bem como fungicidas e antibióticos para o controle da contaminação (SILVA & FERREIRA, 2016).

Na literatura há relatos de várias formulações de meio de cultura, uma vez que existe variação em nutrição para diferentes espécies de plantas. Porém, o meio MS, formulado por MURASHIGE & SKOOG em 1962, é o mais conhecido e utilizado em trabalhos de cultivo *in vitro*.

3 REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R. A.; OLIVEIRA, I. V. M.; SILVA, M. T. H.; MARTINS, A. B. G. Germinação de pitaya em diferentes substratos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 1, p. 71-75, 2008.
- ANDREIS, C.; LONGHI, S. J.; BRUN, E. J.; WOJCIECHOWSKI, J. C.; MACHADO, A. A.; VACCARO, S.; CASSAL, C. Z. Estudo fenológico em três fases sucessionais de uma floresta estacional decidual no município de Santa Tereza, RS, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG. v. 29, n. 1, p. 55-63, 2005.
- ARIVALAGAN, M.; KARUNAKARAN, G.; ROY, T. K.; DINSHA, M.; SINDHU, B.C.; SHILPASHREE, V. M.; SATISHA, G. C.; SHIVASHANKARA, K. S. Biochemical and nutritional characterization of dragon fruit (*Hylocereus* species). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 353, n. March, p. 129426, 2021.
- ARIZAGA, R.; TRIVI, M.; RABAL, H. Speckle time evolution characterization by theco-occurrence matrix analysis. **Optics & Laser Technology**, v. 31, n. 2, p. 163-169, 1999.
- BADAWY, O. M.; NASR, M. I.; ALHENDAWI, R. A. Response of sugarcane (*Saccharum* species hybrid) genotypes to embryogenic callus induction and *in vitro* salt stress. **Sugar Tech**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 243-247, 2008.
- CASTILLO-MARTÍNEZ, R.; LIVERA-MUÑOZ, M.; MÁRQUEZ-GUZMÁN, G. J. Caracterización morfológica y compatibilidad sexual de cinco genotipos de pitahaya (*Hylocereus undatus*). **Agrociencia**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 183-194, 2005.
- CLAEYS, H. et al. What is Stress? Dose-Response Effects in Commonly Used In Vitro Stress Assays. **Plant physiology**, v. 165, n. June, p. 519-527, 2014.
- CRANE, J. H.; BALERDI, C. F. 2005. Pitaya growing in the Florida home landscape. Orlando: IFAS Extension of University of Florida, 9p.
- DEBBARMA, J.; SARKI, Y. N.; SAIKIA, B.; BORUAH, H. P. D.; SINGHA, D. L.; CHIKKAPUTTAIAH, C. Ethylene Response Factor (ERF) Family Proteins in Abiotic Stresses and CRISPR–Cas9 Genome Editing of ERFs for Multiple Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants: A Review. **Molecular Biotechnology**, [s. l.], v. 61, n. 2, p. 153-172, 2019.
- FREITAS, E. O. **Embriogênese somática e análises morfoanatômicas e por citometria de fluxo em açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.)**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Faculdade de tecnologia, Brasília.

FUJII, Y., KAWAHARA, H., SUTO, Y., FUKUDA, S., NAKAJIMA, T., LIVENGOOD, T.A., TURNER, E.L. Colors of a second Earth II: effects of clouds on photometric characterization of Earth-like exoplanets. *The Astrophysical Journal*, v. 738, n. 2, p. 184,2011.

FUKUMOTO, K.; ALAMGIR, K. M.; YAMASHITA, Y.; MORI, I. C.; MATSUURA, H.; GALIS, I. Response of rice to insect elicitors and the role of OsJAR1 in wound and herbivory-induced JA-Ile accumulation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 55, n. 8, p. 775-784, 2013.

GEORGE, E. F.; MICHAEL, A. H.; KLERK, G. J. **Plant tissue culture procedure** Background. Plant propagation by tissue culture. 3. ed. New York: Springer Science,2008. p. 1-28.

GIRARDI, C. G.; PESCADOR, R. Aclimatização de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e a relação com carboidratos endógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 12, p. 62-72, 2010.

GRANJA, M. M. C.; MEDEIROS, M. J. L.; SILVA, M. M. A.; CAMARA, T.; WILLADINO, L. U. C. Response to in vitro salt stress in sugarcane is conditioned by concentration and condition of exposure to NaCl. **Acta biol. Colomb**, [s. l.], v. 2323, n. 11, p. 30-38, 2018.

GREWAL, H. S. Water uptake, water use efficiency, plant growth and ionic balance of wheat, barley, canola and chickpea plants on a sodic vertosol with variable subsoil NaCl salinity. **Agric Water Manag**, v. 97, p. 148-156. 2010

GUNASENA, H. P. M.; PUSHPAKUMARA, D. K. N. G.; KARIYAWASAM, M. Dragon Fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. In: PUSHPAKUMARA, D. K. N.; GUNASENA, H. P.M.; SINGH, V. P. (Ed.) **Underutilized fruit trees in Sri Lanka**. India: World Agroforestry Centre, South Asia Office, 2007. p. 110-142.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6 ed. New Jersey: Prentice Hall. 770 p. 1997.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. In: AHMAD, P. ET AL. (Ed.). **Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress**. p. 28-87, 2013.

HOA, T.; CLARK, C.; WADDELL, B.; WOOLF, A. Postharvest quality of Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) following disinfecting hot air treatments. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 41, p. 62-69, 2006.

HODGE, A. Root decisions. **Plant, Cell & Environment**, v. 32, p. 628-640, 2009.

HUA, Q.; CHEN, P.; LIU, W.; MA, Y.; LIANG, R.; WANG, L.; WANG, Z.; HU, G.; QIN, Y. A protocol for rapid in vitro propagation of genetically diverse pitaya. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 120, p. 741-745, 2015.

JAMILAH, B.; SHU, C. E.; KHARIDAH, M.; DZULKFLY, M. A.; NORANIZAN, A. Physico-chemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 1, p. 279-286, 2011.

JOSEPH, E.; RADHAKRISHNAN, V.; MOHANAN, K. A Study on the Accumulation of Proline - An Osmoprotectant Amino Acid under Salt Stress in Some Native Rice Cultivars of North Kerala, India. **Universal Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 1, p. 15-22, 2015.

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

KHAN, I.; KHAN, M. A.; SHEHZAD, M. A.; ALI, A.; MOHAMMAD, S.; ALI, H.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, P. Micropropagation and production of health promoting lignans in *linum usitatissimum*. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 1-18, 2020.

KOPPEN, W. *Grundriss der Klimakunde*. Berlim: Walter de Gruyter, 1931. 390p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. 1997.

LÄUCHLI, A.; GRATAN, S. R. **Plant growth and development under salinity stress**. In: JENKS, M. A. et al. (Ed.). *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*, [s.l.], [s.n.]. p. 1-32, 2007.

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

LI, Y.; ZHANG, Y.; FENG, F.; LIANG, D.; CHENG, L.; MA, F.; SHI, S. Overexpression of a *Malus vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene (MdNHX1)* in apple rootstock M.26 and its influence on salt tolerance. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 102, n. 3, p. 337-345, 2010.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M. E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. **Mutation Research**, v. 674, p. 137-147, 2009.

LOPES, C. A.; DIAS, G. de M. G; PIO, L. A. S.; SILVEIRA, F. A. da; RODRIGUES, F. A.; PASQUAL, M. Indução de calos, potencial embriogênico e estabilidade genética em pitaiá vermelha. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 21-25, 2016.

MAGALHÃES, D. S.; RAMOS, J. D.; PIO, L. A. S.; VILAS BOAS, E. V. de B.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F. A.; RUFINI, J. C. M.; SANTOS, V. A. dos. Physical and physicochemical modifications of white-fleshed pitaya throughout its development. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 243, n. September 2018, p. 537-543, 2019.

FAO, IFAD, and WFP. The State of Food Insecurity in the World 2015: Meeting the 2015 International Hunger Targets: Taking Stock of Uneven Progress. Rome: FAO, 2015. **Advances in Nutrition**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 623-624, 2015.

MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 124-138, 2014

MIZRAHI, Y.; MOUYAL, J.; NERD, A.; SITRIT, Y. Metaxenia in the vine cacti *Hylocereus polyrhizus* and *Selenicereus* spp. **Annals of Botany**, Oxford, v. 93, p. 469-472, 2004.

MIZRAHI, Y.; NERD, A.; NOBEL, P.S. Cactos como cultura. **Horticultural Reviews**, New York, v.18, p. 291-320, 1997.

MONSHAUSEN, G.B.; GILROY, S. Feeling green: mechanosensing in plants. **Trends in Cell Biology**, v. 19, n. 5, p. 228-235, 2009.

MORENO-LEY, C. M.; OSORIO-REVILLA, G.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, D. M.; RAMOS-MONROY, O. A.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T. Anti-inflammatory activity of betalains: A comprehensive review. **Human Nutrition and Metabolism**, v. 25, p. 1-7, 2021.

MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F.; SILVA, A. S. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; ARAÚJO, N. A.; MARQUES, V. B. Produção e qualidade de frutos de Pitaya-vermelha com adubação orgânica e granulado bioclástico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p.762-766, 2011.

NALL, R. “What are the proven benefits of dragon fruit?”. 2019. Disponível em: <<https://www.medicalnewstoday.com/articles/324655>>. Acesso em: 20 de maio de 2022.

NERD, A.; MIZRAHI, Y. The effect of ripening stage on fruit quality after storage of yellow pitaya. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 99-105, 1999.

NURLIYANA, R.; SYED ZAHIR, I.; MUSTAPHA SULEIMAN, K.; AISYAH, M. R.; KAMARUL RAHIM, K. Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: A comparative study. **International Food Research Journal**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 367-375, 2010.

OGITA, S. Plant cell, tissue and organ culture: The most flexible foundations for plant metabolic engineering applications. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 10, n.5, p. 815-820, 2015.

ORTIZ-HERNANDEZ YD. 2000. Hacia el conocimiento y conservación de la Pitahaya (*Hylocereus* sp.), IPN-SIBEJConacyt- FMCN, Oaxaca, México, 124 pp.

RIBEIRO, K. M.; BARRETO, B.; PASQUAL, M.; WHITE, P. J.; BRAGA, R. A.; DUPUY, L. X. Continuous, high-resolution biospeckle imaging reveals a discrete zone of activity at the root apex that responds to contact with obstacles. **Annals of Botany**, v. 113, p. 555-563, 2014.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, R. S.; MACHADO, E. C.; MACHADO, D. F. S. P.; MAGALHÃES FILHO, J. R.; LANDELL, M. G. A. Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. **Experimental Agriculture**, v. 49, p. 212-224, 2013.

SHAVRUKOV, Y. Salt stress or salt shock: which genes are we studying? **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n.1, p 119-127, 2013.

SILVA, A. C. C. **Pitaya: melhoramento e produção de mudas**. 2014. 132 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2014.

SOUZA, M. J. H.; RAMOS, M. M.; SIQUEIRA, D. L.; MANTOVANI, E. C.; COSTA, L. C.; LHAMAS, A. J. M.; CECON, P. R.; SALOMÃO, L. C. C. (2005). Graus-dia e duração do subperíodo antese-colheita da lima ácida 'Tahiti' em condições de sequeiro e irrigado. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 13, p. 35-43, 2005.

SUGIYAMA, M. Historical review of research on plant cell dedifferentiation. **Journal of Plant Research**, [s. l.], v. 128, n. 3, p. 349-359, 2015.

TRAN, D. H.; YEN, C. R.; CHEN, Y. K. H. Effects of bagging on fruit characteristics and physical fruit protection in red pitaya (*Hylocereus* spp.). **Biological Agriculture and Horticulture**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 158-166, 2015.

VILLA NOVA, N. A.; PEDRO JR, M. J.; PEREIRA, A. R.; OMETTO, J. C. Estimativa de graus-dia acumulados acima de qualquer temperatura base, em função das temperaturas: máximas e mínimas. **Caderno de Ciências da Terra**, São Paulo, v. 30, p. 1-8, 1972.

WONG, Y. M.; SIOW, L. F. Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 52, n. 5, p. 3086-3092, 2015.

CAPÍTULO II

INDUÇÃO DO ESTRESSE SALINO *in vitro*: AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS E FISIOLÓGICAS

1 INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos tipos de estresses abióticos que mais influencia e limita o crescimento e desenvolvimento das culturas. O solo que apresenta altos teores de sal é um grande problema em todo o mundo (CHA-UM, et al 2013), é estimado que alcance cerca de 20% da área irrigada do mundo. A disponibilidade da água para práticas agrícolas vem diminuindo gradativamente em qualidade como também em quantidade, sendo preciso o uso alternativo de água com certos teores de sal, sendo necessário o uso dessa água de qualidade inferior para atender a demanda da irrigação agrícola.

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 aclimação da planta a ambientes adversos (RIVERO et al, 2014). A osmoregulação é um mecanismo de defesa das plantas, sendo uma das estratégias mais prevalentes para sobreviver em condições de estresse abiótico (CHA-UM et al, 2013).

A cultura de tecidos é uma ferramenta importante para estudar a fisiologia e bioquímica da planta sob estresse salino, porque ativa o controle da condição da cultura e sua homogeneidade. (MURSHED et al., 2015). Os estudos sobre estresses abióticos em plantas realizados em condições *in vitro* são frequentemente utilizados para representar as diferentes condições de campo nas quais as plantas são acometidas por estresses, estas configurações experimentais são baseadas na adição de compostos, como o NaCl, ao meio de crescimento (CLAEYS et al., 2014). O NaCl é adicionado ao meio para induzir uma condição de estresse, com o intuito de analisar as respostas das plantas quando expostas a esta condição de estresse, pois o NaCl reduz o potencial hídrico do meio (MUNNS e TESTER, 2008).

Sendo assim, 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 trabalho teve como objetivo contribuir com informações sobre o comportamento *in vitro* das espécies de pitaia vermelha, branca e híbrida submetidas ao estresse salino induzido por NaCl.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi executado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG.

2.1 Micropropagação da pitaia

Foram utilizados clones de pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), branca (*Hylocereus undatus*) e híbrida (*Hylocereus polyrhizus* x *Hylocereus undatus*) cultivados *in vitro* (Figura 1), provenientes de subcultivo.

Figura 1 – Cultivo *in vitro* de *H. polyrhizus* oriundas de sementes germinadas.



Fonte: Da autora (2021).

Para a obtenção do número adequado de material para a realização do experimento, foram realizados 2 subcultivos, com a fragmentação dos cladódios em segmentos de cerca de 1,5 cm de comprimento, seguido da inoculação individual em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962). O pH do meio de cultura balanceado para 5,8 e autoclavado à 120 °C por 20 min e 1 atm de pressão. As culturas foram mantidas em salade crescimento onde permaneceram durante 60 dias, com temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, iluminação fornecida por lâmpadas de LED com intensidade luminosa de $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Posteriormente, segmentos apicais de 1,5 cm dos cladódios das 3 variedades foram excisados com bisturi e inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultivo MS

em câmara de fluxo laminar, acrescido de 5,5 g L⁻¹ de ágar, e 25 g L⁻¹ de sacarose e diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM), onde permaneceram mais uma vez em sala de crescimento por 60 dias, por fim foram realizadas as análises morfométricas e fisiológicas.

2.2 Análises morfométricas

Ao fim dos 60 dias, foram analisadas as variáveis: altura da planta, diâmetro da região mediana, número de raízes, comprimento da maior raiz, número de brotações e comprimento das brotações, com auxílio de régua milimétrica e paquímetro digital (Figura 2).

Figura 2 – Instrumentos utilizados para as análises morfométricas.



Fonte: Da autora (2022).

Para a aferição da massa fresca e seca (g), foi utilizada balança analítica de precisão. Para obtenção de massa seca foi utilizado embalagem de papel para acomodar as amostras. A secagem foi realizada em estufa de circulação forçada de ar à 60 °C durante 48 h, seguida da pesagem.

2.3 Análises fisiológicas

2.3.1 Extravasamento de eletrólitos (EE)

Quatro fragmentos de aproximadamente 1 cm foram excisados da região do terço-médio das amostras de cada tratamento, depois foram postos em tubos Falcon contendo 20 mL de água deionizada, em seis repetições, cada repetição composta por um tubo de ensaio. Posteriormente,

os tubos permaneceram sob agitação em agitador por 24 h em temperatura ambiente. Após esse período, mediu-se a condutividade elétrica livre da solução. Os tubos foram colocados em banho-maria por 1 hora a 100 °C e ao final foi mensurada a condutividade elétrica total da solução (Figura 3).

Figura 3 – Análise de extravasamento de eletrólitos



Fonte: Da autora (2022).

A determinação da taxa de extravasamento de eletrólitos foi calculada com base na fórmula proposta por Shi *et al* (2006):

$$(1) EE (\%) = (CEL/CET) \times 100$$

Onde:

EE = Extravasamento de Eletrólitos (%) CEL = Condutividade elétrica livre

CET = Condutividade elétrica total da solução

2.3.2 Teor Relativo de água (TRA)

Contendo 6 repetições, quatro fragmentos de aproximadamente 1 cm foram excisados da região do terço-médio das amostras de cada tratamento. Esses fragmentos foram pesados

para a quantificação da massa fresca, depois foram postos em tubos de Falcon contendo água deionizada, ficando imersos por 24 h. Após esse período, pesou-se novamente as amostras para quantificação da massa túrgida, e, posteriormente, submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 70°C por 48 horas. Por fim, as amostras foram pesadas para obtenção da massa seca. A determinação do TRA foi calculada utilizando a fórmula proposta por Barrs e Weatherley (1962):

$$(2) \text{ TRA (\%)} = [(MF - MS)/(MT - MS)] \times 100$$

Onde:

TRA = Teor relativo de água (%)

MF = Massa fresca (g)

MT = Massa túrgida (g)

MS = Massa seca (g)

2.3.3 Teor de clorofila e carotenoides

Foi retirado 0,050 g das amostras de cada tratamento, em seguida os fragmentos foram depositados em 10 mL de solução de acetona a 80%. Após 24 h em geladeira a ± 4 °C foi quantificada a absorvidade das amostras em espectrofotômetro Elisa MultiskanGO (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, três repetições por tratamento (Figura 4).

Figura 4 – Leitura dos teores de clorofila e carotenoides



Fonte: Da autora (2022).

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 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3x4 (espécies de pitaia x concentrações), totalizando 12 tratamentos e 52 repetições.

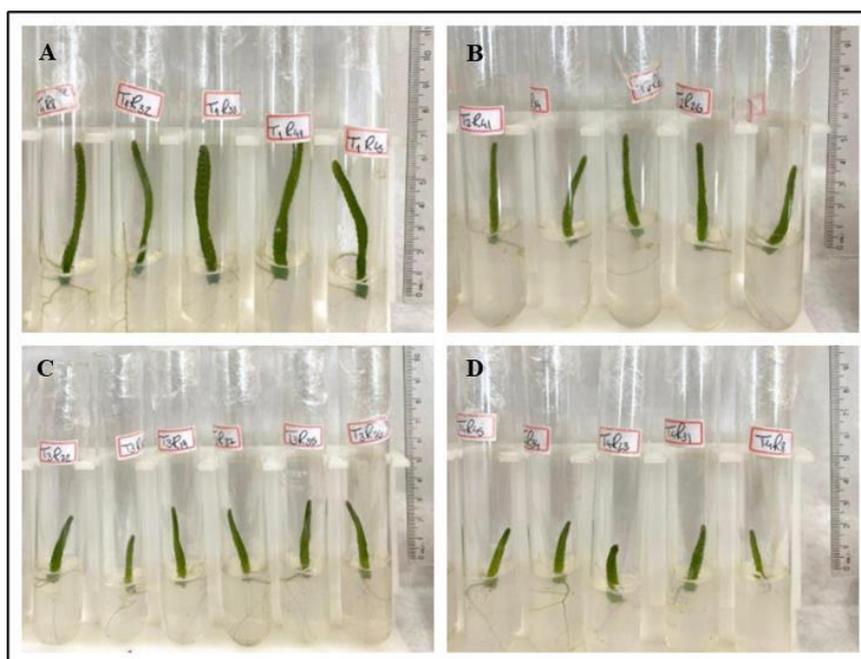
Os dados foram submetidos a análise de variância e, de acordo com a significância do teste F ($p < 0,05$), foi aplicada análise de regressão para testar o efeito das concentrações de NaCl. Foram testados modelos lineares de até 2º ordem, admitindo-se coeficiente de determinação (R^2) igual ou superior a 60%. O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi aplicado para comparar as médias entre as espécies de pitaia. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R 3.6.0 (CORE TEAM, 2018).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito do NaCl nas características morfológicas

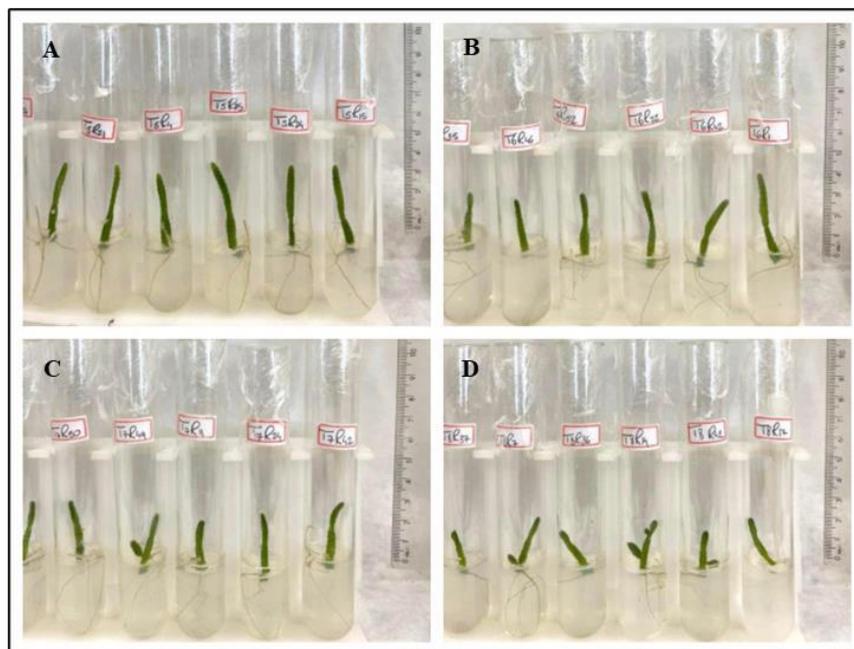
Os resultados do experimento de indução de *Hylocereus* spp ao estresse salino utilizando NaCl mostrou interação significativa para altura de planta, número de raízes, comprimento da maior raiz, massa fresca e massa seca. Sendo assim o estresse salino induzido *in vitro* teve efeito nas variáveis morfológicas, que foram visivelmente influenciadas pelas concentrações de NaCl. As Figuras 5, 6 e 7 permitem uma avaliação visual da influência da concentração de NaCl no crescimento das espécies.

Figura 5 – Crescimento de pitiaia branca (*H. undatus*), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM). A: 0 mM; B: 50mM; C: 100 mM e D: 150 mM.



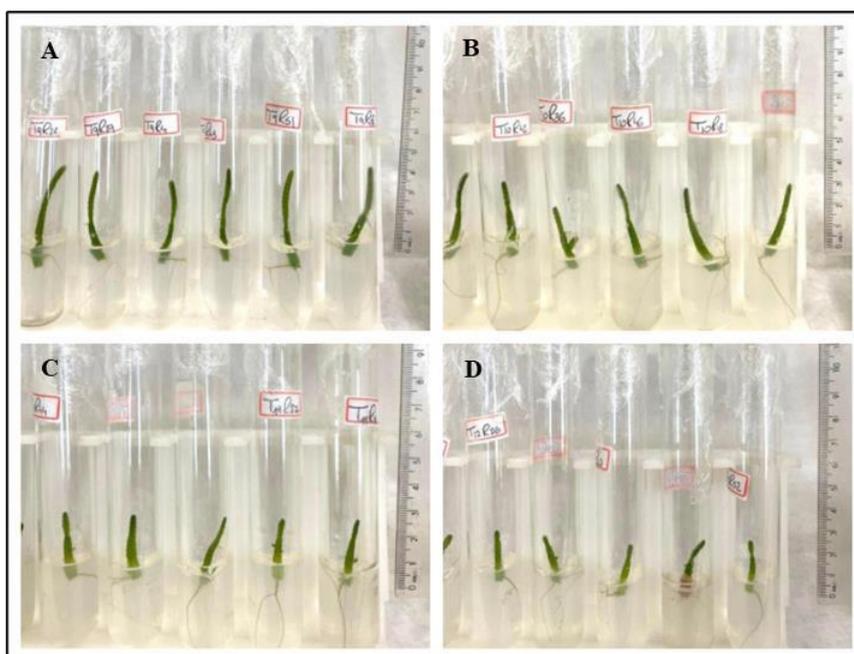
Fonte: Da autora (2022).

Figura 6 – Crescimento de pitaia vermelha (*H. polyrhizus*), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM). A: 0 mM; B: 50mM; C: 100 mM e D: 150 mM.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 7 – Crescimento de pitaia híbrida (*H. polyrhizus* x *H. undatus*), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM). A: 0 mM; B: 50mM; C: 100 mM e D: 150 mM.



Fonte: Da autora (2022).

Foi possível observar que não houve anomalias ou morte dos explantes. A pitaia é considerada uma espécie adaptada a condições adversas como o estresse salino. Os cactos são plantas CAM, que são adaptadas a zonas áridas, têm folhas reduzidas e estômatos fechados durante o dia para prevenir a perda de água, além disso, as plantas CAM possuem adaptações para lidar com estresse abiótico como seca, extrema intensidade luminosa, altas temperaturas e tensões salinas (CERVERA et al., 2007). Sua anatomia e morfologia também favorece seu desenvolvimento (WANG et al., 2019).

Em ambientes limitantes, os vegetais podem ativar processos metabólicos e fisiológicos que resultem em homeostase ideal para seu estabelecimento, então, é notável que esses organismos ao longo do tempo evolutivo tenham sofrido modificações nas suas atividades biológicas em função dos parâmetros ambientais (BASU et al., 2016).

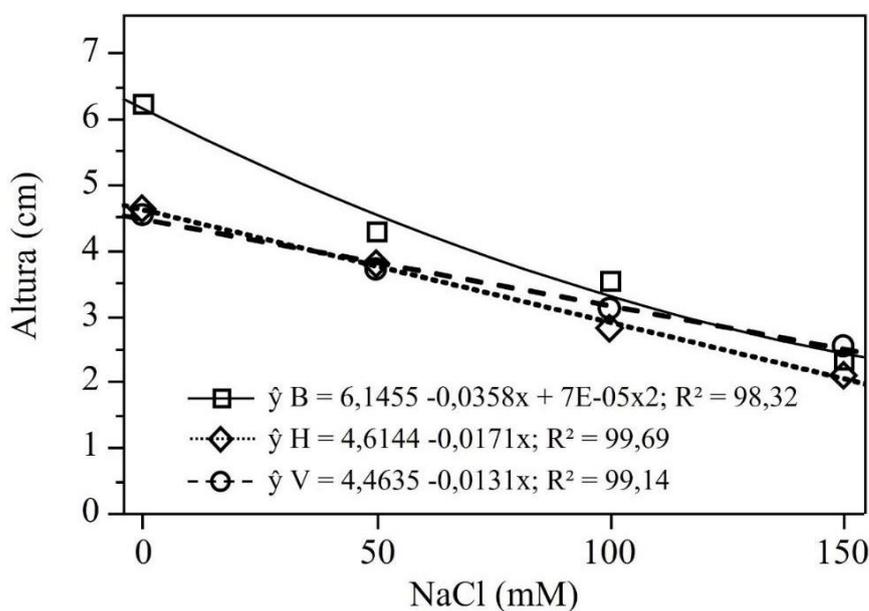
3.1.1 Altura da planta

No geral, o crescimento das plantas foi influenciado pela indução do estresse salino em todas as espécies de pitaia, demonstrando a interação entre esses fatores. Houve redução da altura ao comparar o controle com os demais tratamentos, os que receberam as concentrações de NaCl. Na concentração de 150 mM, o decréscimo foi de cerca de 44%. Com a pitaia branca, houve redução de 53% em relação ao controle (Figura 8).

Resultados semelhantes foram obtidos por Cha-Um et al. (2013) com *Echinopsis calochlora*, onde características morfológicas como altura da planta diminuíram em resposta a presença de NaCl no meio de cultura, principalmente na concentração de 200 mM.

Os resultados encontrados também corroboram com Oliveira et al., (2022), ao avaliar o comportamento de mudas de *Hylocereus costaricensis* em vasos mantidos em casa de vegetação, diante da salinidade de água, onde os efeitos negativos comprometeram o crescimento da planta.

Figura 8 – Crescimento das espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0,50, 100 e 150 mM).

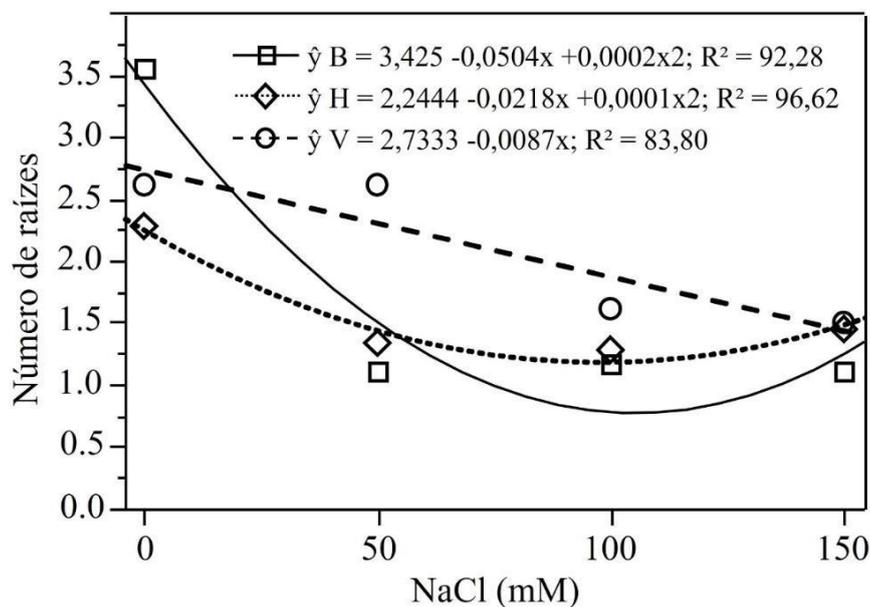


Fonte: Da autora (2022).

3.1.2 Número de raízes

Houve interação entre as espécies de pitaia e a concentração de NaCl para o número de raízes (Figura 9), sendo observado a diminuição do número de raízes com o aumento da concentração de NaCl. A pitaia branca foi a mais sensível a salinidade, com redução de 58% do número de raízes na concentração de 50 mM de NaCl em comparação com o controle. Para pitaia vermelha, a redução foi de 14% em 50 mM de NaCl, e 43% na concentração de 150 mM de NaCl. Já para a híbrida houve redução de 34% na concentração de 50 mM, com leve acréscimo na concentração de 150 mM de NaCl.

Figura 9 – Número de raízes para as espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM).



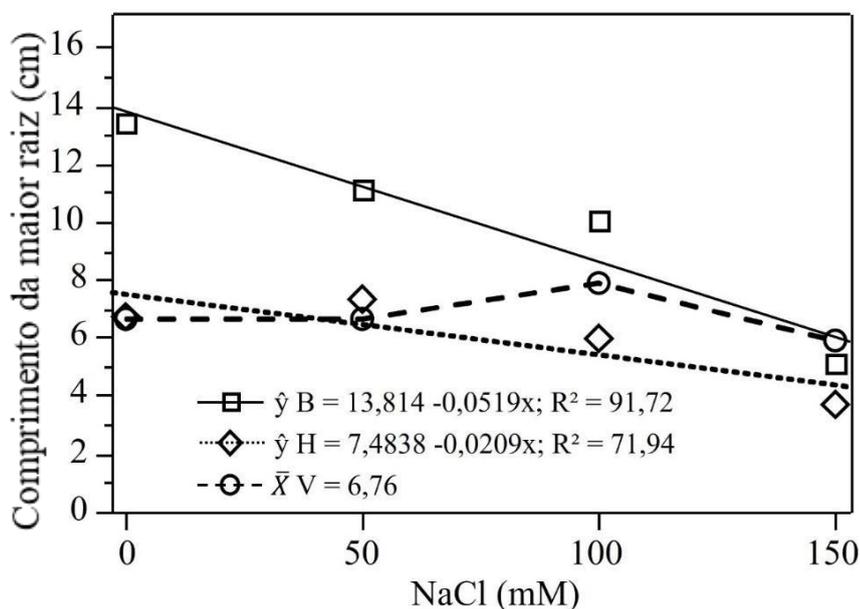
Fonte: Da autora (2022).

O excesso de sais na área da zona radicular promove a redução no comprimento e no número de raízes, ocasionando efeitos prejudiciais no desenvolvimento e crescimento da planta. A redução no número de raízes também pode comprometer a aclimatização das plantas, visto que uma micropropagação eficiente requer bom enraizamento para aclimatização ou sobrevivência no campo (JOSHI et al., 2012).

3.1.3 Comprimento da maior raiz

O comprimento de raiz também foi influenciado pela interação entre as concentrações de NaCl e as espécies de pitaia (Figura 10). Novamente, a pitaia branca apresentou uma redução de 50% na concentração de 150 mM de NaCl, já para a concentração de 50 mM a redução foi de 7%. A vermelha teve comportamento diferenciado em relação às outras 2 espécies, apresentando comprimento da maior raiz na concentração de 100 mM, mas em 150 mM apresentou resultado semelhante ao tratamento controle, assim demonstrando ser adaptada. Já para a híbrida, houve redução de 16% na concentração de 50 mM e 37% para 150 mM de NaCl.

Figura 10 – Comprimento da maior raiz para as espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0,50, 100 e 150 mM).



Fonte: Da autora (2022).

As raízes estão em contato direto com os sais no substrato, e muitos autores acreditam que o sistema radicular deve ser o órgão da planta mais afetado pela salinidade, o que faz com que tenham grande papel nos processos de tolerância e resposta ao estresse, levando a alterações morfológicas tanto das raízes e como da planta no geral.

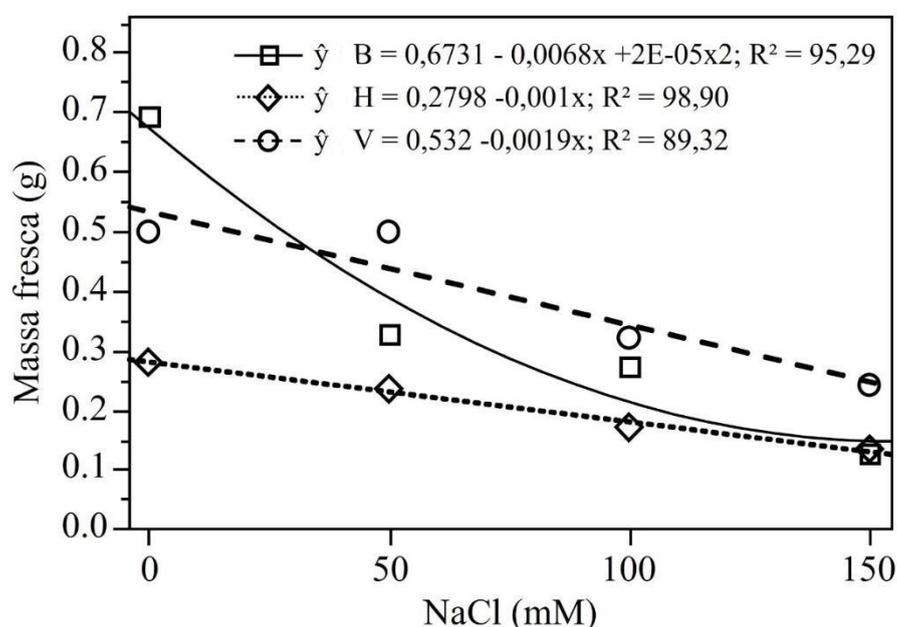
Estudos por Clayes et al. (2014), com *Arabidopsis thaliana in vitro*, confirmaram que baixos níveis de estresse salino já podem limitar severamente o crescimento da raiz. Já o comprimento das raízes e número de raízes de *E. calochlora*, diminuíram 45,28 % e 41,54 % respectivamente em relação ao tratamento controle, quando as plantas foram expostas a 50 mM de NaCl (CHA-UM et al., 2013). Cavalcante et al. (2007) constataram que a percentagem de sobrevivência e comprimento das raízes de *H. undatus* diminuíram quando sujeitas a concentração de 40 mM NaCl durante 75-90 dias.

A redução no crescimento e volume radicular ocorre em consequência de alterações nos processos fisiológicos das culturas, isso acontece devido aos sais dissolvidos na solução do solo, afirma Holanda Filho et al., (2011). No presente experimento o meio de cultura com adição de NaCl simula essas condições de solo.

3.1.4 Massa fresca e massa seca da planta

A produção de massa fresca foi influenciada pela interação entre as concentrações de NaCl no meio de cultura e as espécies utilizadas (Figura 11). Observa-se que para pitaia branca houve redução em relação ao teor de massa fresca, na concentração de 50 mM de NaCl a queda foi de 45% em relação ao controle, para 150 mM a redução foi de 71,4%. Para a pitaia vermelha a queda na concentração de 50 mM foi de 18% e para 150mM de NaCl foi de 45%.

Figura 11 – Massa fresca em diferentes espécies de pitaia (branca, vermelha e híbrida), em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM).

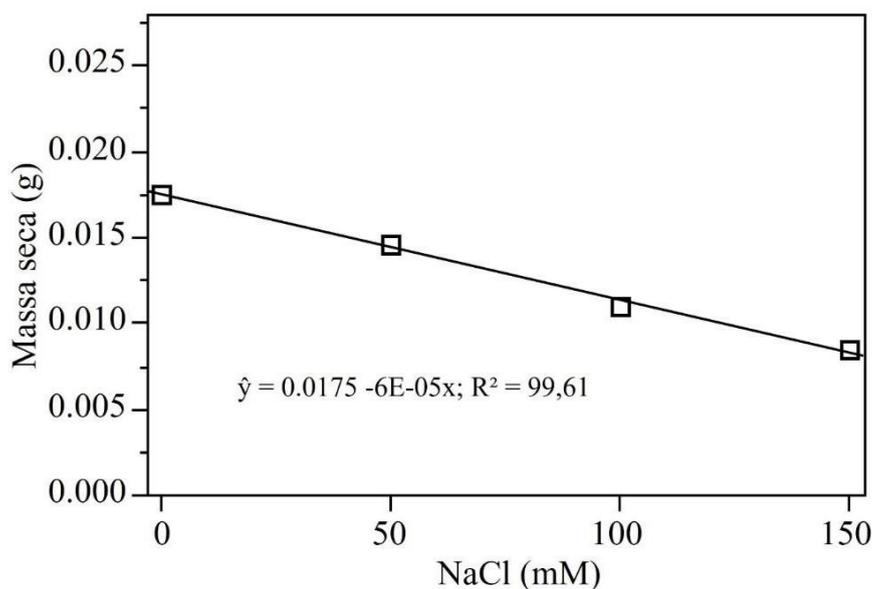


Fonte: Da autora (2022).

A produção de massa seca foi influenciada pelas concentrações de NaCl, (Figura 12). De forma geral, houve diminuição de biomassa quando houve incremento de sal ao meio. Esse resultado era esperado considerando a redução de todas as variáveis estudadas a partir do aumento de NaCl. O teor de massa seca foi diminuindo a medida em que aumentou a concentração de NaCl no meio de cultivo, com redução de cerca de 50% na concentração de 150 mM em comparação ao tratamento controle. Segundo Parida e Das

(2005), a redução na massa fresca e seca de caules, folhas e raízes são os principais sintomas observados em plantas cultivadas sob estresse salino.

Figura 12 – Massa seca de pitaias em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM).



Fonte: Da autora (2022).

Nos estudos de estresse salino de Cha-Um et al. (2013), eles notaram a redução de 20,65 % e 43,66 % de massa fresca e seca em *E. calochlora*, respectivamente, em concentração de 50 mM de NaCl. Já em experimentos utilizando segmentos nodais de *Stevia rebaudiana* B. realizado por Lucho et al. (2019), apresentaram sensibilidade ao serem submetidos a concentrações salinas de NaCl variando entre 0-1,5 g L⁻¹, tendo sua massa fresca e seca reduzida em função do aumento da concentração de NaCl. Rahimi et al. (2012) relataram também redução na massa fresca e seca de plantas, utilizando *Foeniculum vulgare* submetidas ao estresse salino.

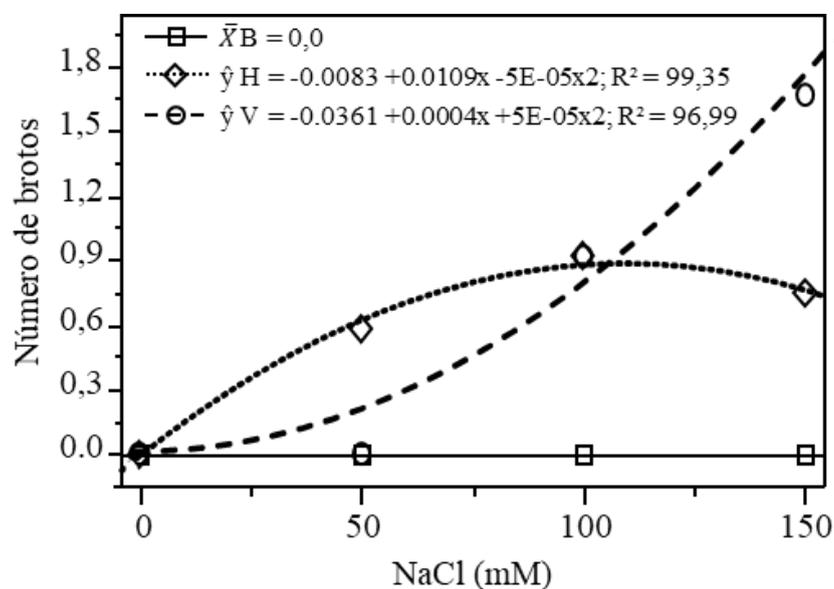
De acordo com Nascimento et al. (2011), o declínio observado na massa fresca da parte aérea de plantas submetidas a salinidade são consequências dos efeitos tóxicos dos sais em excesso, que limitam a expansão e multiplicação celular, reduzindo principalmente as variáveis de crescimento.

3.1.5 Número e comprimento de brotações

O número e comprimento de brotações foram influenciados pelas concentrações de NaCl e pelas espécies de pitaiá (Figura 13). Para a pitaiá branca, o número de brotações foi nulo no tratamento controle e em todas as concentrações de NaCl, já para a híbrida, com o aumento das concentrações de NaCl foi possível chegar a uma brotação em 100 mM em comparação ao controle, mas havendo decréscimo a 150 mM de NaCl. A pitaiá vermelha apresentou comportamento diferente das demais, onde o aumento do NaCl induziu o aumento do número de brotos, podendo chegar a 2 brotos na concentração de 150 mM.

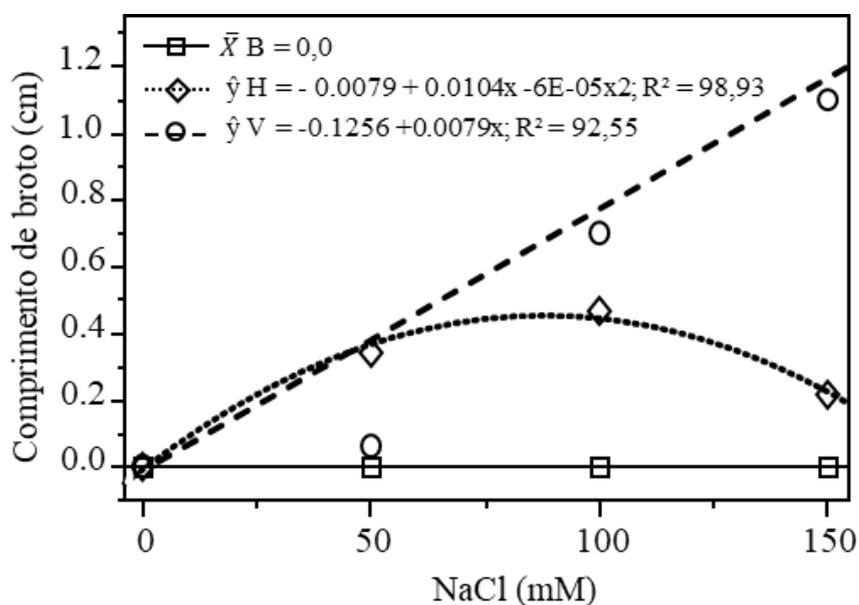
Para o comprimento das brotações, o resultado seguiu da mesma forma que o número de brotos (Figura 14). Para a espécie da pitaiá branca, como não houve brotações, o comprimento também foi nulo. Na híbrida, o aumento das concentrações de NaCl resultaram em aumento do comprimento das brotações em relação ao controle, havendo queda aos 150 mM de NaCl. Com a pitaiá vermelha, a concentração de 150 mM de NaCl alcançou o maior comprimento de brotos, chegando próximos a 2 cm.

Figura 13 – Número de brotos de pitaiá em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM).



Fonte: Da autora (2022).

Figura 14 – Comprimento de brotos de pitaia em função da indução do estresse salino *in vitro* nas concentrações de NaCl (0, 50, 100 e 150 mM).



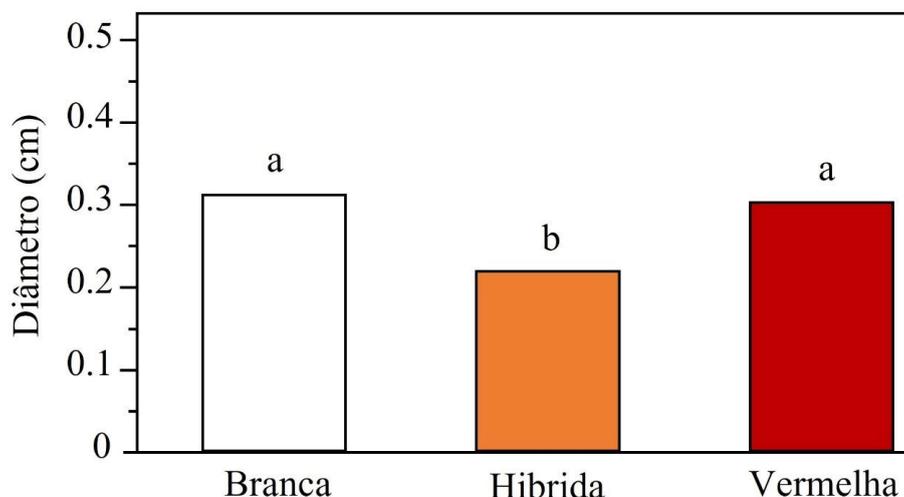
Fonte: Da autora (2022).

As espécies de pitaia híbrida e vermelha apresentaram adaptação ao estresse salino, já que a salinidade inibe o crescimento de brotações das plantas. O resultado do presente trabalho difere de Cha-Um et al. (2013) com *E. calochlora*, onde caracteres morfológicos, incluindo a cor e o número de brotos de cladódios desse cacto diminuíram em resposta ao NaCl no meio de cultura, especialmente a 200 mM NaCl. O resultado também foi o inverso do que o apresentado por Muchate et al. (2019), onde com a micropropagação de *Spinacia oleracea*, que obteve 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).

3.1.6 Diâmetro do caule

Não foi verificada resposta significativa ao uso das concentrações de NaCl para essa variável, ocorrendo apenas efeito isolado da espécie (Figura 15).

Figura 15 – Diâmetro das espécies de pitaia.



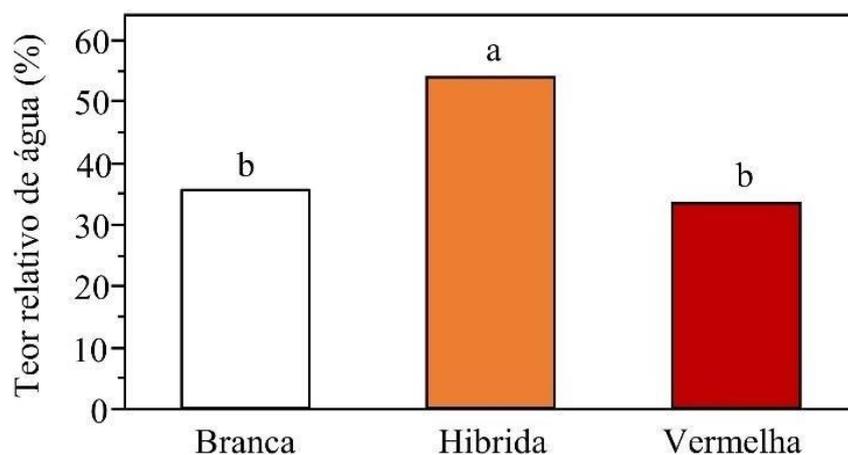
Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Da autora (2022).

3.2 Efeito do NaCl nas características fisiológicas

3.2.1 Teor relativo de água

Não houve interação entre a concentração de NaCl e as espécies de pitaia, o aumento da concentração salina não promoveu alterações significativas no TRA (Figura 16).

Figura 16 – Teor relativo de água das espécies de pitaia.



Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Da autora (2022).

A salinidade no meio de cultura não interferiu no teor relativo de água, o bloqueio desse decréscimo no teor de água sugere a ocorrência do ajuste osmótico em resposta ao estresse salino. A afirmação também é reforçada por Coelho (2012), onde o mesmo afirma que a não

ocorrência de um forte decréscimo no TRA é devido ao ajustamento osmótico e à redução da transpiração.

Estudos realizados com *E. urophylla* indicam que níveis crescentes de concentração salina podem não alterar o teor relativo de água (LOPES e KLAR, 2009), embora esses resultados tenham sido atribuídos ao curto período de exposição e ao baixonível de sais testado. Em cultivo hidropônico de tomate sob estresse salino, esse fator não influenciou no teor relativo de água da parte aérea (SHIYAB et al., 2013).

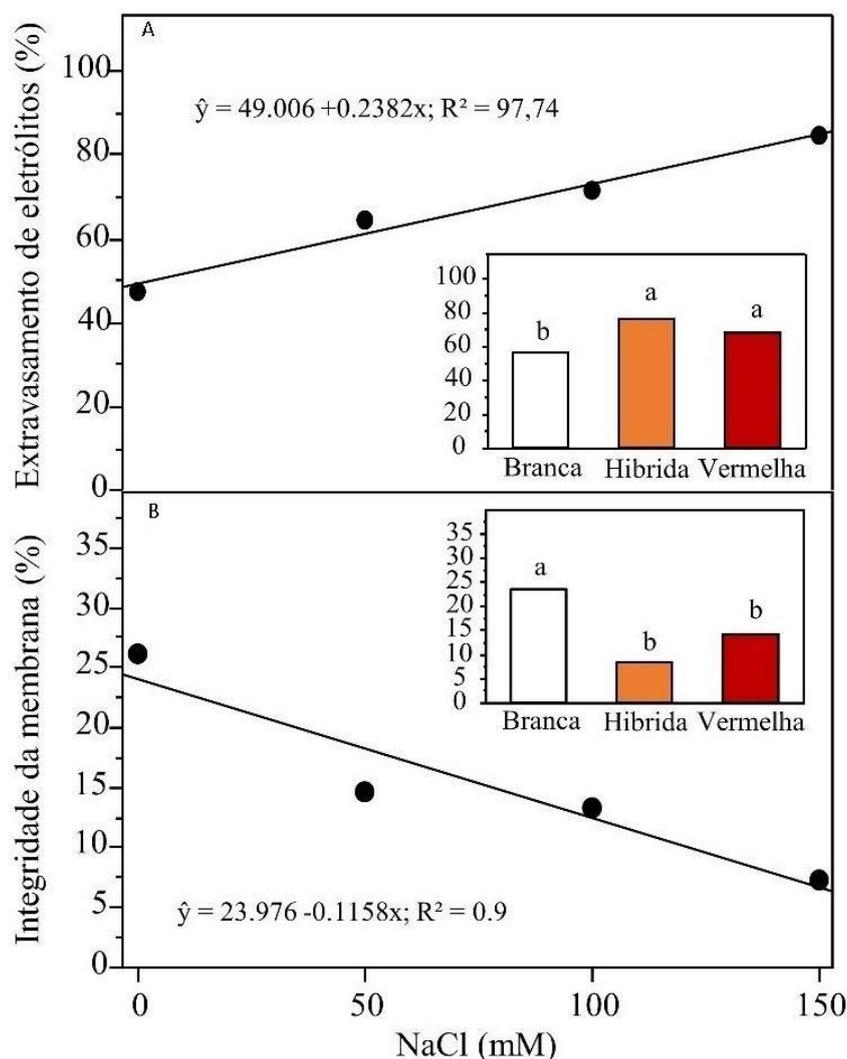
Em experimentos realizados com feijão caupi, Maia et al. (2012) relataram que os tratamentos salinos não afetaram o estado hídrico dos tecidos radiculares de duas cultivares que foram estudadas por eles, considerando o teor relativo de água, apesar de que nos resultados o estresse reduziu o comprimento das raízes da cultura.

3.2.2 Extravasamento de eletrólitos e integridade da membrana

Não houve interação entre os fatores concentração de NaCl e espécies de pitaia, os fatores foram significativos em isolado para o extravasamento de eletrólitos e integridade da membrana (Figura 17). O extravasamento foi crescente, com aumento da concentração de NaCl, independente da espécie de pitaia, ocorrendo aumento do extravasamento de cerca de 16% na concentração de 50 mM de NaCl em relação ao controle, 28% para 100 mM e 37,5% de 150 mM de NaCl. As condições salinas diminuem a estabilidade da membrana, o que leva ao aumento no extravasamento de eletrólitos. A pitaia vermelha e a híbrida apresentaram os maiores extravasamento de eletrólitos.

Para integridade da membrana, observou-se que foi um fator inversamente proporcional ao extravasamento de eletrólitos, quanto maior a concentração de NaCl menor a integridade da membrana, como observado na figura 17. A apuração de extravasamento de eletrólitos indica danos ocasionados nas células, tecidos vegetais submetidos ao estresse salino são mais facilmente deteriorados, ocorrendo assim menor integridade das membranas. Houve decréscimo de 24% na concentração de 50 mM de NaCl em relação ao controle e 76% para 150 mM. A pitaia branca manteve a maior média para integridade da membrana em relação a vermelha, vindo em seguida a híbrida, sugerindo maior sensibilidade ao estresse para essa última espécie.

Figura 17 – Extravasamento de eletrólitos e a integridade da membrana em função da concentração de NaCl e espécies de pitaia.



Fonte: Da autora (2022).

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade

De acordo com Langaro et al. (2014), o extravasamento de eletrólitos é a última etapa observada do estresse oxidativo, sugerindo a existência de ruptura da membrana celular, de modo que, quanto maior for a acumulação de íons nos vacúolos maior será o extravasamento celular. Esse estresse oxidativo causa danos na membrana em consequência da peroxidação lipídica provocada pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MELO et al., 2014).

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com Pereira (2020), onde utilizando diferentes níveis de salinidade em lâminas para irrigação de *Opuntia stricta* (Haworth), obteve-se que o aumento da salinidade proporcionou o aumento do extravasamento de eletrólitos (EE

%). Já para *Vitis vinifera*, o extravasamento de eletrólitos apresentou-se 42% maior sob estresse salino (LIU et al., 2011). Comportamento similar foi relatado por Darvishani et al. (2020), onde observaram que a adição de NaCl ao meio de cultura aumentou o extravasamento de eletrólitos e atingiu valores máximos quando utilizada a concentração de 150 mM de NaCl para o cultivo de calos de *Viola odorata*.

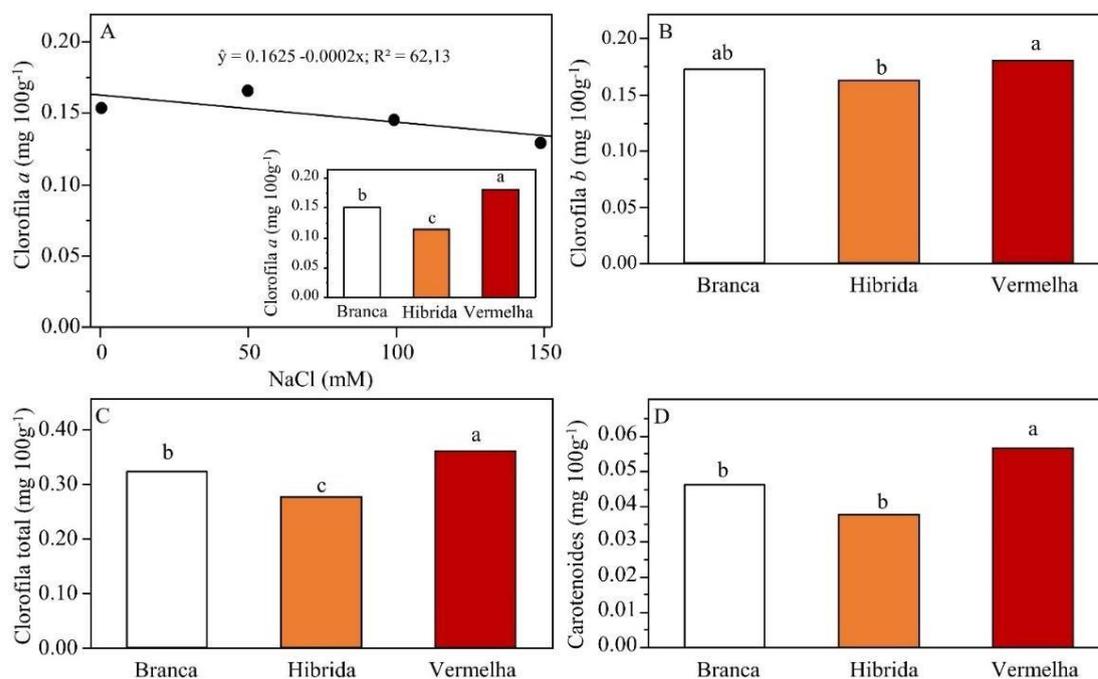
Os resultados também estão de acordo com Silva et al. (2010), que afirmam que a exposição direta aos sais da solução pode comprometer a integridade da membrana, promovendo assim, redução da atividade metabólica das células.

3.2.2 Teor de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides

Não houve interação entre os fatores concentração de NaCl e espécies de pitaia, sendo assim, os fatores foram analisados isoladamente. Para clorofila *b*, clorofila *total* e carotenoides, as concentrações de NaCl não foram significativas (Figura 18B, C, D).

Houve redução do teor de clorofila *a* (Figura 18A) com o aumento da concentração de NaCl no meio de cultivo, a queda foi 6,25 % na concentração de 50 mM em comparação ao controle e queda de 25% em 150 mM. Para Clorofila *a*, *b*, *total* e carotenoides, a pitaia vermelha apresentou os maiores teores, em seguida da branca e por fim a híbrida.

Figura 18 – Clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila *total* (C) e carotenoides (D) de plantas de pitaias sob diferentes concentrações de NaCl durante o cultivo *in vitro*.



Fonte: Da autora (2022).

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados observados para valores de clorofila *a* corroboram com os obtidos por Cavalcante et al. (2013), onde plantas que foram expostas a salinidade reduziram o conteúdo de clorofila em razão do aumento da enzima clorofilase, a qual degrada as moléculas destes pigmentos. Cha-Um et al. (2013) verificaram na micropropagação de *E. calochlora*, submetida a concentrações de NaCl, também observaram diminuição do teor de clorofila *a* na concentração de 50 mM. Reduções mais expressivas no teor de clorofila podem se constituir em mecanismo de defesa, por reduzir a captação de energia luminosa, consequentemente, diminuir o fluxo de elétrons para a cadeia de transferência de elétrons, reduzindo a formação de espécies reativas de oxigênio (BROSCHÉ et al., 2010). Já a concentração de NaCl não influenciou o teor de clorofila *b*, indicando que a salinidade não induziu a sua síntese ou degradação na quantidade em que foram aplicadas. Em outras espécies de cactáceas, como *Opuntia ficus-indica*, a clorofila em cladódios não foi afetada pelo aumento da salinidade (SALAZAR e VÉLIZ, 2008). O mesmo foi observado por Mendonça et al. (2010), onde verificaram que mudas de *E. camaldulensis*, *E. tereticornis* e *E. robusta*, sob estresse salino, não apresentam redução no rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm) nem do teor de clorofilas.

Os carotenoides são pigmentos acessórios que além de estarem associados às moléculas de clorofila e contribuem para a promoção da coloração dos tecidos vegetais, desempenham papel essencial na fotoproteção, evitando danos ocasionados pelo excesso de radiação solar, que promove excitação das moléculas de clorofila (TAIZ et al., 2017). No presente trabalho, a indução ao estresse salino não influenciou no teor de carotenoides, assim como plantas de *Lathyrus sativus* que não apresentaram nenhum efeito na produção de clorofila e carotenoides com o incremento da salinidade no meio *in vitro* (PIWOWARCZYK et al., 2016).

4 CONCLUSÕES

A utilização de concentrações crescentes de NaCl *in vitro* influenciaram as variáveis morfológicas, como altura da planta, número de raízes, comprimento da maior raiz, número e comprimento de brotos, massa seca e fresca da planta. Já as variáveis fisiológicas influenciadas foram o extravasamento de eletrólitos, integridade da membrana e teor de clorofila *a*. A pitiaia branca apresentou maiores quedas em seus parâmetros, já a pitiaia vermelha apresentou um certo grau de tolerância ao estresse salino.

Considera-se que as características morfológicas, o acúmulo de matéria seca e as características fisiológicas permitiram identificar os efeitos da salinidade, concluindo que as espécies avaliadas nesse estudo são moderadamente tolerantes. Além disso, a pitiaia é considerada adaptada ao estresse salino, visto que não houve alteração na cor dos explantes e morte destes. No entanto, novos estudos são necessários para melhor entendimento do comportamento dessa cultura.

5 REFERÊNCIAS

- 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.
- BASU, S. et al. Plant adaptation to drought stress. **F1000 Research**, v. 5, p. 1-10, 2016.
- BRITO, M. E. B.; SÁ, F. V. S.; SOARES FILHO, W. S.; SILVA, L. A.; FERNANDES, P. D. Trocas gasosas e fluorescência de variedades de porta-enxerto cítricos sob estresse salino. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 2, e-951, 2016.
- CAVALCANTE, L. F.; REBEQUI, A. M. Teores de clorofila e composição mineral foliar do maracujazeiro irrigado com águas salinas e biofertilizante. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 57-70, 2013.
- CHATTOPADHYAY, A. et al. Analysis of the grass pea proteome and identification of stress responsive proteins upon exposure to high salinity, low temperature, and abscisic acid treatment. **Phytochemistry**, v. 72, n. 10, p. 1293-307, jul. 2011
- CHA-UM, S.; SAMPHUMPHUANG, T.; KIRDMANEE, C. Morphological and physio-biochemical changes of in vitro cactus (*Echinopsis calochlora*) in responses to salt stress. **European Journal of Horticultural Science**, v. 78, n. 5, p. 225-231, 2013.
- CLAEYS, H.; VAN LANDEGHEM, S.; DUBOIS, M.; MALEUX, K.; INZÉ, D. What Is Stress? Dose-response effects in commonly used in vitro stress assays. **Plant Physiology**, v. 165, n. 2, p. 519-527, 2014.
- COELHO, J. B. M. **Potencial osmótico, solutos orgânicos e comportamento hídrico do feijão vigna cultivado em solos salinizados**. 2012. 70 p. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Tese (doutorado) Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife – PE
- CORE TEAM, R. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.

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.

ERIC, M.; BRITO, B.; VANIES, F.; SOARES, S.; SILVA, L. D. A.; CITROS, E. M. V. D. E. P. D. E. Gas exchange and fluorescence of citrus rootstocks varieties under saline stress. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 38, n. 2, p. 1-8, 2016.

FRANCO-SALAZAR, V. A.; VÉLIZ, J. A. Efectos de la salinidad sobre el crecimiento, acidez titulable y concentración de clorofila en *Opuntia ficus-indica* (L.) mill. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, v. 20, n. 1, p. 12-17, 2008.

HOLANDA FILHO, R. S. F et al. Água salina nos atributos químicos do solo e no estado nutricional da mandioca. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 15, p. 60-66, 2011.

JOSEPH, E.; RADHAKRISHNAN, V.; MOHANAN, K. A Study on the Accumulation of Proline - An Osmoprotectant Amino Acid under Salt Stress in Some Native Rice Cultivars of North Kerala, India. *Universal Journal of Agricultural Research*, v. 3, n. 1, p. 15-22, 2015.

JOSHI, M.; MISHRA, A.; JHA, B. NaCl plays a key role for in vitro micropropagation of *Salicornia brachiata*, an extreme halophyte. *Industrial Crops and Products*, v. 35, n. 1, p. 313-316, 2012.

LANGARO, A. C.; NOHATTO, M. A.; PERBONI, L. T.; PELIGRINOTTI, C. Alterações fisiológicas na cultura do tomateiro devido à deriva simulada herbicidas. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v. 282, p. 40-46, 2014.

LIU, J. H.; NAKAJIMA, I.; MORIGUCHI, T. Effects of salt and osmotic stresses on free polyamine content and expression of polyamine biosynthetic genes in *Vitis vinifera*. *Biologia Plantarum*, Copenhagen, v. 55, n. 2, p. 340-344, 2011.

LOPES, T. C.; KLAR, A. E. Influência de diferentes níveis de salinidade sobre aspectos morfofisiológicos de mudas de *Eucalytus urograndis*. *Revista Irriga*, Botucatu, v. 14, n 1, p. 68-75, jan-mar, 2009

MAIA, J. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VOIGT, E. L.; MACÊDO, C. E. C.; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 342-349, 2012.

MELO, G. M. et al. Pré-condicionamento *in vitro* de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) para tolerância ao estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, p. 27-33, 2014.

MENDONÇA, A. V. R.; CARNEIRO, J. G. A.; FREITAS, T. A. S.; BARROSO, D. G. Características fisiológicas de mudas de *Eucalyptus* spp submetidas a estresse salino. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 2, p. 255-267, abr.-jun., 2010.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

MURSHED, R.; NAJLA, S.; ALBISKI, F.; KASSEM, I.; JBOUR, M.; AL-SAID, H. Using growth parameters for in-vitro screening of potato varieties tolerant to salt stress. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 483-494, 2015.

NASCIMENTO, J. A. M. et al. Efeito da utilização de biofertilizante bovino na produção de mudas de pimentão irrigadas com água salina. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, RecifePernambuco, v. 6, n. 2, p. 258-264, 2011.

OLIVEIRA, L. M.; MENDONÇA, V.; MOURA, E. A.; IRINEU, T. H. S.; FIGUEIREDO, F. R. A.; MELO, M. F.; CELEDONIO, W. F.; RÊGO, A. L. B.; MENDONÇA, L. F. M.; ANDRADE, A. D. M. Salt stress and organic fertilization on the growth and biochemical metabolism of *Hylocereus costaricensis* (red pitaya) seedlings. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 84, p. e258476, 2022.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO.

FAO. FAOSTAT. Divisão de estatística. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 01 junho. 2022.

PANISSON, D.; MARQUES, N. K.; SOUZA, F. B. M. de; MAGRI NETO, J. C.; FREIRE, A. I.; ARAÚJO, N. O. de; MELO, C. C. V.; MARTINS, A. D. Crescimento e Desenvolvimento Inicial de Pitaya Branca (*Hylocereus undatus*) e Vermelha (*Hylocereus monacanthus*) no Município de Araguaína-TO. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e401101421921, 2021.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 60, n. 3, p. 324-349, Mar. 2005.

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

RAHIMI, R. et al. Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, London, v. 4, n. 21, p. 1591-1595, 2012.

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.

SANTOS, L. C.; SILVA, S. T. de A.; MEDEIROS, C. R.; SANTOS, A. V. D.; LIMA, G. S.; ROCHA, J. L. A.; SEVERO, P. J. da S.; MEDEIROS, J. E.; BRILHANTE, C. L.; PEREIRA, J. D. A. Peróxido de hidrogênio como atenuante do estresse salino na formação de mudas de pitaia vermelha (*Hylocereus costaricensis*). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 27295-27308, 2020.

SHAVRUKOV Y. Salt stress or salt shock: which genes are we studying? **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n.1, p 119-127, 2013.

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.

SHIYAB, S. M.; SHATNAWI, M. A.; SHIBLI, R. A.; AL SMEIRAT, N. G.; AYAD, J.; AKASH, M. W. Growth, Nutrient Acquisition, and Physiological Responses of Hydroponic Grown Tomato To Sodium Chloride Salt Induced Stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 36, n. 4, p. 665-676, 2013.

SILVA, L. E. N.; FERREIRA-SILVA, S. L.; FONTENELE ADE V.; RIBEIRO, R. V.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 14, p. 1157-1164, 2010.

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.

WEGNER, L. H.; FLICKINGER, B.; EING, C.; BERGHÖFER, T.; HOHENBERGER, P.; FREY, W.; NICK, P. A patch clamp study on the electro-permeabilization of higher plant cells: Supra-physiological voltages induce a high-conductance, K⁺ selective state of the plasma membrane. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1808, p. 1728-1736, 2011.

ZHU, J. K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, [s.l.], v. 167, n. 2, p. 313-324, 2016.