



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

SABRINA TRAJANO PEREIRA DA SILVA

**MICROENXERTIA *IN VITRO* DE *Opuntia* spp. SOBRE PORTA-ENXERTOS COM
DIFERENTES NÍVEIS DE PLOIDIA**

**AREIA
2023**

SABRINA TRAJANO PEREIRA DA SILVA

**MICROENXERTIA *IN VITRO* DE *Opuntia* spp. SOBRE PORTA-ENXERTOS COM
DIFERENTES NÍVEIS DE PLOIDIA**

Trabalho de graduação apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia, do
Centro de Ciências Agrárias, da Universidade
Federal da Paraíba, em cumprimento às
exigências para obtenção do título de
Engenheira Agrônoma.

Orientador(a): Prof. Dr. Mailson Monteiro do
Rêgo.

**AREIA
2023**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586m Silva, Sabrina Trajano Pereira da.

Microenxertia in vitro de Opuntia spp. sobre
porta-enxertos com diferentes níveis de ploidia /
Sabrina Trajano Pereira da Silva. - Areia:UFPB/CCA,
2023.

30 f. : il.

Orientação: Mailson Monteiro do Rêgo.

TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. Palma forrageira. 3.
Micropropagação. 4. Enxertia. I. Rêgo, Mailson Monteiro
do. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(02)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DE AGRONOMIA
CAMPUS II – AREIA - PB

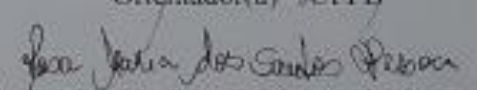
DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO

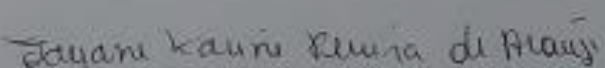
Aprovada em 14/12/2023.

**“ MICROENXERTIA *IN VITRO* DE *Opuntia spp* SOBRE PORTA-
ENXERTOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PLOIDIA.”**

Autor: SABRINA TRAJANO PEREIRA DA SILVA
Banca Examinadora:


Prof. Dr. MAILSON MONTEIRO DO RÊGO
Orientador(a) – UFPB


MSc. ROSA MARIA DOS SANTOS PESSOA
Examinador(a) – UFPB


MSc. JAYANE KARINE PEREIRA DE ARAÚJO
Examinador(a) – UFPB

AGRADECIMENTOS

À força estranha que me preserva e me dá sede de vida.

Aos meus avós maternos, Maria do Socorro Pedrosa Trajano e José Trajano Borges, pelo sentimento e vida de resistência dos sertanejos que permaneceram no Semiárido Paraibano. E aos paternos, Aurélia Francisca da Silva e Joaquim Pereira da Silva (*in memoriam*), a coragem e determinação do migrante na grande São Paulo.

À Fransuenes Pereira da Silva, “tia Novinha”, por ser minha primeira orientadora acadêmica, me ensinado muito mais que a leitura e o gosto dos estudos!

À minha mãe, Simone Pedrosa Trajano Silva, pelos sacrifícios pessoais e profissionais, que lhe foram submetidos desde o dia do positivo.

Ao meu pai, Salomão Pereira da Silva, por sonhar comigo esta graduação e tantos outros títulos, além de ter me dado a oportunidade de realizá-la.

Ao meu irmão, Silvio Trajano Pereira da Silva pelo apoio e companhia.

Aos meus pets, Theodora, Kikito (*in memoriam*) e Júlio Pera por serem minha fonte de equilíbrio e leveza nos momentos mais difíceis.

Aos meus tios, Francisca Pereira da Silva (Dedé), Francijunior Pereira da Silva (Júnior) e Joaquim Aurélio Pereira da Silva, pelos sentimentos de pertencimento, hombridade e alegria que lhes transbordam!

À família Gonçalves Silva, nas pessoas de Geraldo Gonçalves Silva, Maria De Lurdes Gonçalves Silva e Guilherme Gonçalves Silva, por se tornarem minha família norte-riograndense, me acolhendo e apoiando.

A Bismarck Gabriel Gonçalves, pelo companheirismo, respeito e sentimento recíproco sem dimensões!

Aos professores do Curso de Agronomia da UFPB, em especial, Bruno de Oliveira Dias, que contribuíram ao longo desses semestres, por meio de orientação, o desenvolvimento do profissional e pessoal da minha pessoa.

Ao meu Orientador, Mailson Monteiro do Rêgo, pelo exemplo de cientista, os puxões de orelha, as conversas científico-acadêmicas e principalmente a confiança depositada em mim, nestes anos de iniciação científica.

À Jayane Karine, Rosa Maria e Aline, pelo sentimento de equipe, amizade e incentivo, que adocicaram este final de graduação.

Aos meus amigos de graduação, Douglas, Luigi, Marcos, Natháline, Nicollas, Patrícia, Samandra e Thiago, pelo acolhimento e momentos de leveza advindos da amizade.

Aos servidores da UFPB, Eliane, Seu Jaci, Wellington e Prof.^a Elizanilda pelo exemplo de presteza, atendimento e palavras amigas.

Ao Laboratório de Histologia Animal, na pessoa de Edjanio, pelo auxílio e supervisão na confecção das lâminas anatômicas deste estudo.

À Universidade Federal da Paraíba, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, ao Instituto Nacional do Semiárido, AS-PTA - Agricultura Familiar e Agroecologia, Federação Paraibana de Empresas Júniores, Rural Empresa Júnior e todos outros órgãos de fomento a educação superior e profissional que possibilitaram meu crescimento profissional e pessoal.

RESUMO

O uso da técnica de microenxertia entre cladódios de palma forrageira pode ser considerado uma proposta promissora e relevante para os sistemas de produção, propiciando precocidade na oferta de material vegetativo de alta qualidade para o plantio. Outra vantagem, é a utilização combinações de clones e cultivares em uma mesma planta, possibilitando a exploração das melhores características de cada um dos tecidos enxertados. Exemplo: Porta-enxertos tolerantes a pragas e doenças, reduzindo custos com a aquisição de cladódios e insumos como agrotóxicos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da microenxertia *in vitro* de *Opuntia* spp. sobre porta-enxertos com diferentes níveis de ploidia. Para tanto, foram realizadas homo e heteroenxertias a partir de porta-enxertos e enxertos provenientes do cultivo *in vitro* de sementes dos acessos 06 e 57, das espécies de *O. cochinellifera* e *O. undulata*. As microenxertias foram realizadas em ambiente asséptico em câmara de fluxo laminar, sem ou com uso de ácido ascórbico (1g/L). Os enxertos foram obtidos realizando-se excisões de 0,5 cm a partir do ápice dos cladódios doadores, enquanto os porta-enxertos mediam 1cm. Após 30 dias de cultivo *in vitro* das plântulas microenxertadas, foram avaliadas características de comprimento total do enxerto + porta-enxerto, diâmetro na região da enxertia, peso em mg do enxerto + porta-enxerto, número de brotos no enxerto, número de raízes no enxerto, número de raízes no porta-enxerto. Os resultados para os microenxertos com adição de ácido ascórbico, não foram significativos e não se diferiram estatisticamente dos microenxertos sem a adição de ácido ascórbico. Não havendo diferenças significativas para a maioria das variáveis analisadas, exceto o diâmetro na região da enxertia. As homoenxertias (06/06 e 57/57), cavalo e cavaleiro, apresentaram maior diâmetro quando comparado às heteroenxertias. As heteroenxertias apresentaram cicatrização e pegamento de modo similar as homoenxertias, revelando compatibilidade entre as espécies *O. cochinellifera* ($2n = 2x = 22$) e *O. undulata* ($2n = 4x = 44$) com diferentes níveis de ploidia, o que deve ser explorado na produção de mudas no gênero *Opuntia*. Em geral, a presença de marcas necróticas a partir da oxidação de tecidos, ocorridos principalmente nas homoenxertias sem adição de ácido ascórbico, não foram observados em homo ou heteroenxertias com adição do mesmo, estas apresentaram cicatrizes uniformes (espaço entre enxertos e porta-enxertos) em todos os tratamentos, resultando o saldo positivo de quatro indivíduos vivos na condição *in vitro* e um aclimatado.

Palavras-Chave: palma forrageira; micropropagação; enxertia.

ABSTRACT

The use of the micrografting technique between forage cactus cladodes can be considered a promising and relevant proposal for production systems, providing early provision of high-quality vegetative material for planting. Another advantage is the use of combinations of clones and cultivars in the same plant. Enabling the exploration of the best characteristics of each of the grafted tissues. Example: Rootstocks tolerant to pests and diseases, reducing costs with the acquisition of cladodes and inputs such as pesticides. Therefore, the objective of this work was to evaluate the viability of in vitro micrografting of *Opuntia* spp. on rootstocks with different ploidy levels. To this end, homo and heterograftings were carried out using rootstocks and grafts from the in vitro cultivation of seeds of accessions 06 and 57, of the species of *O. cochinellifera* and *O. undulata*. The micrograftings were performed in an aseptic environment in a laminar flow chamber, without or with the use of ascorbic acid (1g/L). The grafts were obtained by making excisions of 0.5 cm from the apex of the donor cladodes, while the rootstocks measured 1cm. After 30 days of in vitro cultivation of the micrografted seedlings, characteristics of total length of the scion + rootstock, diameter in the grafting region, weight in mg of the scion + rootstock, number of shoots in the graft, number of roots in the graft, number of roots on the rootstock. The results for micrografts with the addition of ascorbic acid were not significant and were not statistically different from the micrografts without the addition of ascorbic acid. There were no significant differences for most of the variables analyzed, except the diameter in the grafting region. The homografts (06/06 and 57/57), horse and rider, had a larger diameter when compared to the heterografts. Heterografts showed healing and setting in a similar way to homografts, revealing compatibility between the species *O. cochinellifera* ($2n = 2x = 22$) and *O. undulata* ($2n = 4x = 44$) with different ploidy levels, which should be explored in seedling production in the genus *Opuntia*. In general, the presence of necrotic marks from tissue oxidation, occurring mainly in homografts without the addition of ascorbic acid, were not observed in homo or heterografts with the addition of the same, these presented uniform scars (space between grafts and rootstocks) in all treatments, resulting in a positive balance of four living individuals in the in vitro condition and one acclimatized.

Keywords: forage palm; micropropagation; grafting.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração do processo de microenxertia de <i>Opuntia</i> spp. sobre porta-enxertos de diferentes níveis de ploidia.....	17
Figura 2 - Sementes e plântulas dos acessos de <i>Opuntia</i> spp. germinadas <i>in vitro</i>	18
Figura 3 - Processo de microenxertia entre acessos de <i>Opuntia</i> spp.....	19
Figura 4 - Análise morfométrica das enxertias de dois acessos <i>Opuntias</i> spp.....	19
Figura 5 - Fixação e desidratação dos segmentos contendo os enxertos e porta-enxertos das microenxertias de <i>Opuntia</i> spp.....	20
Figura 6 - Infiltração da parafina nos segmentos (enxertos + porta-enxertos) de 1cm de comprimento dos acessos <i>Opuntia</i> spp.....	20
Figura 7 - Processo de infiltração da parafina nos segmentos (enxertos + porta-enxertos) dos acessos de <i>Opuntia</i> spp.....	21
Figura 8 - Inclusão dos segmentos (enxertos + porta-enxertos) de acessos <i>Opuntia</i> spp.....	23
Figura 9 - Comparação de médias entre os quatro tratamentos em relação ao diâmetro na região da enxertia em diferentes combinações de enxertos e porta-enxertos de <i>Opuntia cochenillifera</i> (acesso 06) e <i>O. undulata</i> (acesso 57).....	23
Figura 10 - Cicatrizes de necrose ou união dos segmentos do conjunto enxerto + porta-enxerto de acessos de <i>Opuntia</i> spp. após 15 e 30 dias da realização das microenxertias sem adição de ácidoascórbico.....	24
Figura 11 - Cicatrizes de união dos segmentos do conjunto enxerto + porta-enxerto de acessos de <i>Opuntia</i> spp. após 15 e 30 dias da realização das microenxertias com adição de ácido ascórbico.....	25
Figura 12 - Cortes transversais das microenxertias sem adição de ácido ascórbico de <i>Opuntia</i> spp. 06-06 (T3) e 57/57 (T4); C, D, correspondem às heteroenxertias 06/57 (T2) e 57/06 (T3) no 30º dia.....	25
Figura 13 - Cortes transversais das microenxertias sem adição de ácido ascórbico de <i>Opuntia</i> spp. 06-06 (T3) e 57/57 (T4); C, D, correspondem às heteroenxertias 06/57 (T2) e 57/06 (T3) no 30º dia.....	26
Figura 14. Cultivo <i>in vitro</i> das microenxertias com adição de ácido ascórbico de <i>Opuntia</i> spp.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da análise de variância das diferentes combinações de enxerto e porta-enxerto em relação a seis variáveis de <i>Opuntia cochenillifera</i> e <i>O. undulata</i>	23
--	----

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	10
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Classificação Botânica de <i>Opuntia ssp</i>	12
2.2. Histórico e produção	12
2.3 Microenxertia.....	12
3.METODOLOGIA.....	15
3.1 Local do experimento	15
3.2 Material vegetal	15
3.3 Obtenção do porta-enxerto e enxerto <i>in vitro</i>	15
3.4 Microenxertias	16
3.5 Avaliação de caracteres morfoagronômicos	17
3.6 Avaliação do pegamento das microenxertias por meio de cortes histológicos.....	17
3.7. Delineamento experimental e análise estatística	20
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.CONCLUSÃO.....	26
REFÊRENCIAS	26
APÊNDICE A	30

1.INTRODUÇÃO

A família Cactaceae engloba cerca 2.000 espécies nativas das Américas e possui distribuição cosmopolita (Nefzaoui et al., 2014). No Brasil já foram reportados 39 gêneros e 261 espécies, dentre eles o gênero *Opuntia* (Zappi et al., 2015).

Opuntia spp é uma cultura com importante valor social, ambiental e econômico. A produção no país, é de 3,5 bilhões de toneladas em 126.925 ha cultivados. Sendo os maiores produtores nacionais, os estados: Bahia, Paraíba, Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Rio Grande do Norte e Ceará (IBGE, 2017).

Dentre as espécies cultivadas no Brasil estão as *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia cocheniillifera* e *Opuntia undulata*. A palma forrageira (*Opuntia* spp), possui um elevado potencial para ser utilizada na alimentação de animais presentes na região semiárida brasileira. A planta é extremamente adaptada as variações climáticas desta região, por possuir processos metabólicos em que no período diurno as plantas fecham seus estômatos, reduzindo a perda de água para o ambiente através da evapotranspiração (Almeida et al., 2012) e, durante a noite, à abertura dos seus estômatos, aumentando a eficiência do uso da água, com redução de perdas durante a fotossíntese (Costa et al., 2012).

A necessidade de se utilizar maiores quantidades de cladódios no plantio convencional da palma forrageira, de forma clonal, tem se tornado um sério problema econômico. O qual pode ser amenizado se propagar a palma forrageira por meio de gêmulas que há em cada aréola, usando a enxertia ou a microenxertia e a micropropagação (Vasconcelos et al., 2009). Estas técnicas promovem a formação de indivíduos geneticamente similares a partir de células e fragmentos de uma planta matriz (Silva, 2017).

A enxertia é muito utilizada na propagação de diversas frutíferas e consiste na junção de características favoráveis por meio da união de duas plantas que podem ser de uma mesma espécie ou até mesmo de gêneros diferentes. Outras aplicações são a eliminação de vírus, o rejuvenescimento de tecidos maduros e a produção de plantas durante todo o ano. Tais possibilidades criam combinações genotípicas específicas para aumentar a produtividade da planta e prolongar os limites ecológicos de uma determinada espécie vegetal para tolerar condições edáficas (Moghadam et al., 2012).

O uso de técnicas de enxertia e/ou microenxertia entre cladódios de palma forrageira pode ser considerado uma proposta promissora e relevante para o futuro dos sistemas de produção de palma no território nacional. Propiciando precocidade na oferta de material vegetativo de alta qualidade para o plantio, oferta a animais e alimentação humana, podendo reduzir os custos

com a aquisição dos cladódios, o que aumenta consideravelmente a eficiência e sustentabilidade dos sistemas de produção convencionais (Estrada-Luna et al., 2002).

As características ambientais do semiárido brasileiro, propiciam o aparecimento de pragas e patógenos. Sendo as doenças mais comuns na cultura da palma forrageira os diferentes tipos de podridões: seca-e-escamosa, negra, fusarium e mole. As principais pragas relacionadas ao solo, as cochonilhas-do-carmim (*Dactylopius coccus*), cochonilha-de-escama (*Diaspis echinocacti*) e os nematoides. (Chagas et al., 2018; Araújo et al., 2019). Os porta-enxertos ideais para a cultura no semiárido, devem apresentar como características principais, resistência a pragas e doenças anteriormente citadas. Além de apresentarem bom crescimento vegetativo em condições que potencializam estresses e consequentemente as infecções, como baixa fertilidade do solo, salinidade, seca e adensamento.(Marques et al., 2017; Frota et al, 2015).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Classificação Botânica de *Opuntia* ssp

Originária do México, a palma forrageira é pertencente, “(...) à divisão Embryophyta, subdivisão Angiospermea, classe Dicotyledoneae, subclasse Archiclamideae, ordem Opuntiales, família Cactaceae e gênero *Opuntia* (...)” (Silva e Sampaio, 2015, p.153). Este gênero é considerado complexo pela grande variação fenotípica devido à alta taxa de hibridizações, poliploidia e variações ambientais que acometem a maioria de suas populações. (Oliveira, 2011; Dutra, 2021).

Dentre as espécies mais cultivadas no Brasil, estão *Opuntia ficus-indica* Mill e *Opuntia cochenillifera* Salm-Dyck. Dentro destes gêneros as variedades que se destacam são a “gigante”, “redonda”, “orelha-de-elefante” e “miúda”, respectivamente. As variedades “orelha-de-elefante” (*Opuntia* sp.) e “miúda” (*Opuntia cochenillifera*), são resistentes a principal praga da cultura, a cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*) (Frota, 2015; Araújo et al., 2019).

Apesar da primeira variedade apresentar características positivas como menos exigência a fertilidade do solo e maior resistência a seca, apresenta muitos espinhos, dificultando o manejo da mesma e o uso como forrageira. A segunda, apresenta maiores teores de nutrição como carboidratos e matéria seca. Porém, quando comparada com as outras variedades, são mais exigentes em fertilidade, umidade e temperaturas noturnas mais amenas. Sendo contra indicada para algumas áreas do Semiárido sertanejo. (Frota, 2015; Dutra, 2021).

2.2. Histórico e produção

Entre os pesquisadores, não há consenso sobre a introdução da palma forrageira no Brasil. Segundo Leite (2006), a introdução ocorreu durante o período colonial, com o intuito de produção de corantes naturais, porém, alguns autores sugerem a introdução no Nordeste brasileiro anteriormente a seca de 1932. Após este período, por decreto do Ministério da viação, ocorre a expansão da cultura nos estados do Piauí até a Bahia.

No semiárido a palma se consolidou como forrageira, no entanto, possui potencial produtivo e versatilidade, podendo ser empregada na alimentação animal e humana, cosmetologia, nas indústrias alimentícias, medicamentosas e têxteis. Além de, ser utilizada no paisagismo, na conservação e recuperação de solos em zonas áridas (Leite, 2006; Silva; Sampaio, 2015).

2.3 Microenxertia

A microenxertia consiste na enxertia de uma gema apical ou ápice caulinar de uma planta matriz sob um porta-enxerto de uma plântula obtida por germinação de sementes, em condições assépticas (Hartmann et al., 1997). De maneira que os tecidos se reorganizem possibilitando desenvolvimento vegetativo e reprodutivo satisfatórios.

Basicamente a técnica se constitui do enxerto e do porta-enxerto. Porém, em alguns casos utiliza-se uma terceira parte, denominada interenxerto. Esta parte funciona como um intermediário entre o enxerto e porta-enxerto, quando há algum problema de incompatibilidade localizada. (Hartmann et al., 2002).

A enxertia tem grande potencial para a multiplicação de plantas frutíferas em grande escala (Hussain et al., 2014; Faustino et al., 2022). Nas cactáceas a enxertia é mais empregada em espécies ornamentais (Mondragon-Jacobo e Bordelon, 1996; Estrada-Luna et al., 2002). A cactácea ornamental *Schlumbergera truncata* é compatível na enxertia com *H. undatus* (Lorenzi e Souza, 2001). No caso de cactos frutíferos temos o exemplo dos cactos do gênero *Nopalea*, que também apresentam compatibilidade na enxertia com *H. undatus* (Huffman, 2003).

Outros casos de sucesso de microenxertia *in vitro* em cactáceas, são relatados em estudos de Estrada et al. (2002), obtendo-se sucesso em microenxertias de estilo horizontal de *O. ficus-indica* em cinco porta-enxertos diferentes (*O. streptacantha*, *O. robusta*, *O. cochinera*, *O. leucotricha* e *O. ficus-indica*) e Moghadam et al. (2012), com microenxertia de *Gymnocalycium mihanovichii* em *Trichocereus spachianus* na presença de ácido indol-3-butírico (AIB) na concentração de 100 mg/L.

A enxertia proporciona diversas vantagens atreladas a propagação vegetativa. Como, por exemplo: uniformidade de floração, frutificação e características de crescimento que não são mantidas por propagações por sementes (Hartmann et al., 2002; Franzon et al, 2010).

Outra vantagem, é a utilização combinações de clones e cultivares em uma mesma planta. Possibilitando a exploração das melhores características de cada um dos tecidos enxertados. Exemplo: porta-enxertos tolerantes a pragas e doenças; e enxertos que proporcionam superação de juvenilidade e vigor de copa. (Franzon et al, 2010).

A enxertia *in vitro* para cactáceas é considerada uma propagação eficaz e segura de espécies ameaçadas de extinção, como relata Badalamenti et al. (2016) em seu estudo usando *O. ficus-indica* como porta-enxerto de *Pelecophora aselliformis*, espécie ameaçada de extinção.

Principais Fatores que afetam o sucesso da microenxertia

Os principais fatores que afetam o sucesso de enxertia são: não proximidade botânica, tipos de incompatibilidade, condições ambientais como temperatura e umidade; polaridade do tecido, sanidade, técnicas de propagação e o estilo de enxertia (Hartmann et al., 2002; Estrada-Luna et al., 2002).

Segundo Taji et al. (2002), a dificuldade primária encontrada na microenxertia é a oxidação por compostos fenólicos na superfície do corte ao nível do ápice dissecado e da parte dissecada do porta-enxerto. A síntese do pigmento betalaína é regulada pela luz, temperatura, ou a presença de citocininas e ácidos abscísicos. A presença de metabolitos secundários, responsáveis pela oxidação de tecidos e necrose, foram reportados em cladódios de *Hylocereus polyrhizus* (Sl-Awomir et al., 2010).

Substâncias antioxidantes como ácido ascórbico, ácido cítrico, carvão ativado e polivinilpolipirrolidona (PVP) tem sido adicionado aos meios de cultura para microenxertias, devido suas capacidades antioxidantes, podendo neutralizar ou reduzir o estresse oxidativo resultantes do acúmulo de compostos fenólicos responsáveis pelo surgimento de necroses nos tecidos excisados (Lema-Ruminska e Kulus, 2014).

3.METODOLOGIA

3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA-UFPB), localizado no município de Areia-PB, que está inserido na microrregião do Brejo Paraibano, caracterizada por sua elevada pluviosidade, em torno de 1500 mm anuais, com umidade relativa do ar da ordem de 85% e temperatura média anual de 22°C (Antonino et al., 2004).

3.2 Material vegetal

Foram utilizados dois acessos 06 e 57 pertencentes a duas espécies de palma forrageira com diferentes níveis de ploidia, *O. Cochinelifera* (L.) ($2n = 22$) e *O. Ondulata* Griffiths ($2n = 44$), respectivamente, pertencentes ao Banco de Germoplasma do Instituto Nacional do Semiárido – INSA. As duas espécies foram usadas em como porta-enxertos e enxertos, em diferentes combinações. A porção inferior dos cladódios regenerados *in vitro*, foram utilizados como porta-enxerto ou cavalo, enquanto a parte superior foi utilizada como enxerto ou cavaleiro (Figura 1). Quando porta-enxertos e enxertos foram derivados da mesma planta foram denominados homoenxertias e quando porta-enxerto e enxerto eram de acessos diferentes, denominou-se heteroenxertias.

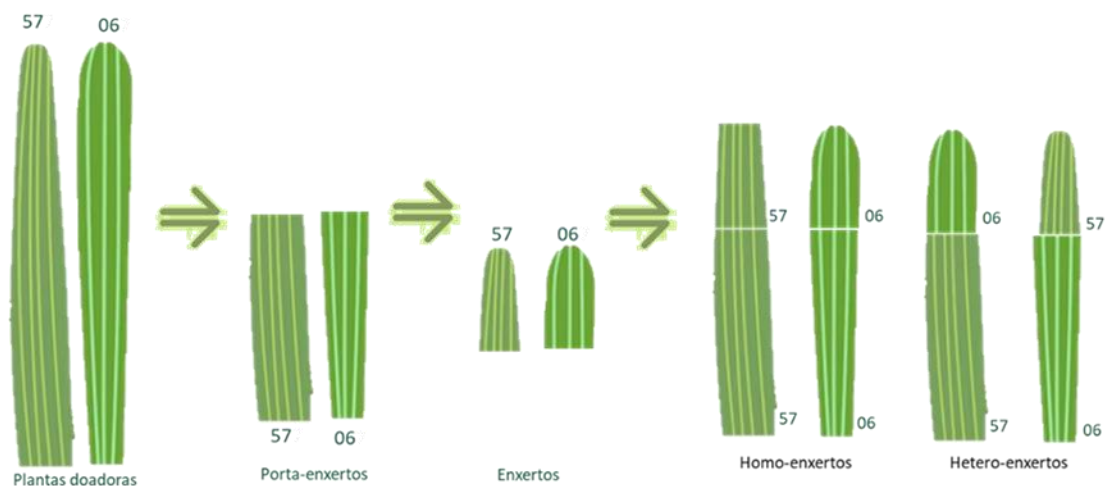


Figura 1. Ilustração do processo de microenxertia de *Opuntia* spp. sobre porta-enxertos de diferentes níveis de ploidia. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

3.3 Obtenção do porta-enxerto e enxerto *in vitro*.

Em câmara de fluxo laminar, as sementes (Figura 2 A-B) foram desinfestadas imersas em álcool 70% por 1 minuto e, posteriormente, em solução de hipoclorito de sódio a 5% durante 10 minutos, sob agitação. Seguido de tríplice enxágue com água destilada, deionizada e

autoclavada (DDA). As sementes dos dois acessos foram escarificadas com auxílio de um trinco, tipo alavanca, devidamente esterilizado e, em seguida, 4 sementes de cada acesso de *Opuntia* spp. foram inoculadas em frascos de vidro com capacidade de 375 ml contendo 25 mL do Meio Murashige e Skoog (1962) 1/4 de força, pH para $5,7 \pm 0,1$, suplementado com 30g/L de sacarose e 6 g/L de ágar.

Após a inoculação os potes foram selados com Parafilme e transferidos para a sala de crescimento com $25 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas de luz. Onde permaneceram por 90 dias.

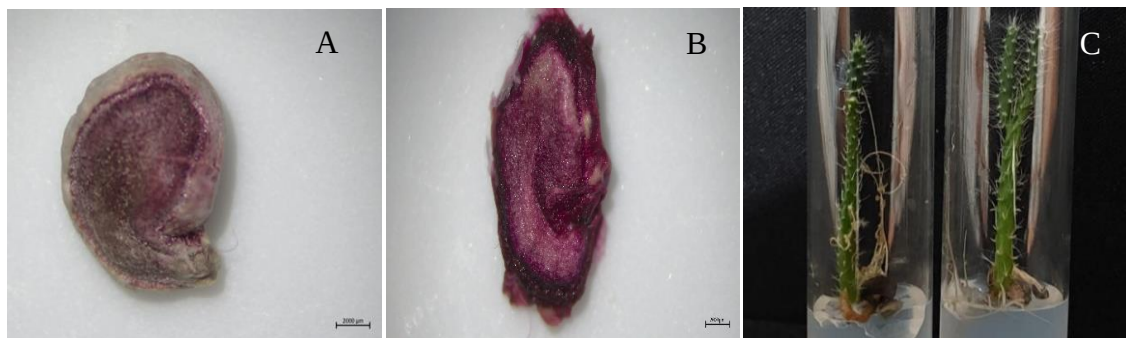


Figura 2. Sementes e plântulas dos acessos de *Opuntia* spp. germinadas in vitro. A. Semente do acesso 06. B. Semente do acesso 57. C. Na esquerda plântula do acesso 06 e na direita acesso 57. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

3.4 Microenxertias

Noventa dias após a inoculação, foram selecionados visualmente os cladódios mais vigorosos e de diâmetros semelhantes (Figura 2C), dos acessos 06 e 57 de *Opuntia* spp. As microenxertias foram realizadas em ambiente asséptico em câmara de fluxo laminar, sem ou com uso de ácido ascórbico (1g/L). Os enxertos foram obtidos realizando-se excisões de 0,5 cm a partir do ápice dos cladódios doadores, enquanto os porta-enxertos mediam 1cm (Figura 3).

Os microenxertos foram inoculados em tubos contendo 10 mL do meio Murashige e Skoog (1962), força total, com pH $5,7 \pm 0,1$, acrescido de 50 g/L de sacarose, 6 g/L de ágar e 2,5 mg/l de BAP.

Após a inoculação os tubos de ensaio foram selados com Parafilm, transferidos para a sala de crescimento com $25 \text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas de luz. Onde permaneceram por 30 dias.

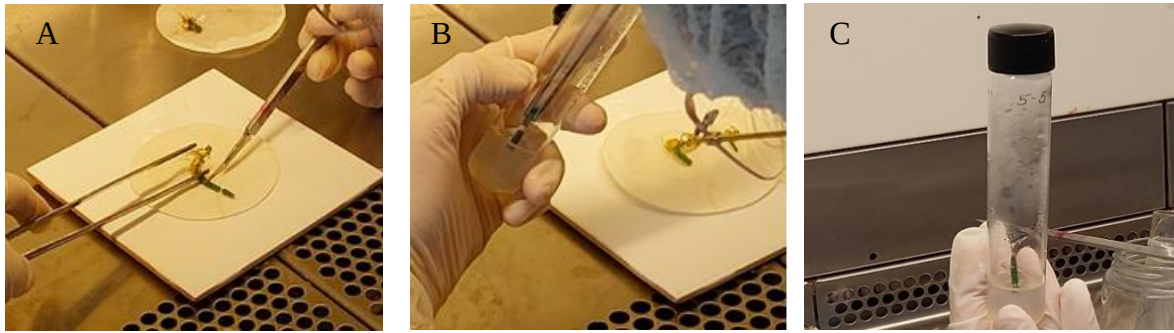


Figura 3. Processo de microenxertia entre acessos de *Opuntia* spp. A. Excisão do cladódio para obtenção de enxerto e porta-enxerto. B. Sequências de eventos da enxertia e inoculação do enxerto e porta-enxerto. C, Selagem do tubo com Parafilme. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

3.5 Avaliação de caracteres morfoagronômicos

Após 30 dias de cultivo *in vitro* das plântulas microenxertadas, foram coletadas 3 plântulas de cada tratamento e avaliadas quanto a massa fresca, número de brotações e raízes, tanto no porta-enxerto quanto no enxerto, comprimento total e diâmetro no local onde foram realizadas as enxertias (Tabela 1).

As avaliações foram mensuradas com paquímetro digital modelo Stainless Hardened (Figura 4A). O peso da massa fresca foi aferido em balança de precisão de 3 casas decimais após a vírgula (Figura 4B), e todas as fotomicrografias foram feitas em microscópio estereoscópico modelo Stemi 305 ZEISS acoplado a câmera AxioCam 208 color ZEISS (Figura 4C).



Figura 4. Análise morfométrica das enxertias de dois acessos *Opuntia* spp. A. Microscópio estereoscópico modelo Stemi 305 ZEISS e câmera AxioCam 208 color ZEISS. B. Avaliação do comprimento do conjunto enxerto + porta enxerto. C. Diâmetro na região da microenxertia. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

3.6 Avaliação do pegamento das microenxertias por meio de cortes histológicos

A compatibilidade das microenxertias realizadas foram avaliadas com base na junção entre o porta-enxerto e o enxerto. Para tanto, segmentos de 1 cm de comprimento, envolvendo a

região da enxertia (Figura 5A) foram fixados em solução FAA (composto por 900 mL de etanol (50%), 50 mL de solução formaldeído (37%) e 50 mL de ácido acético glacial) por 24 horas (Figura 5B). Posteriormente, o material foi desidratado (Figura 5C) em série alcoólica (etanol a 30, 50, 70, 90, 96, 100%), infiltrado e emblocado em parafina conforme Appezzato-da-Gloria e Carmello-Guerreiro (2012).

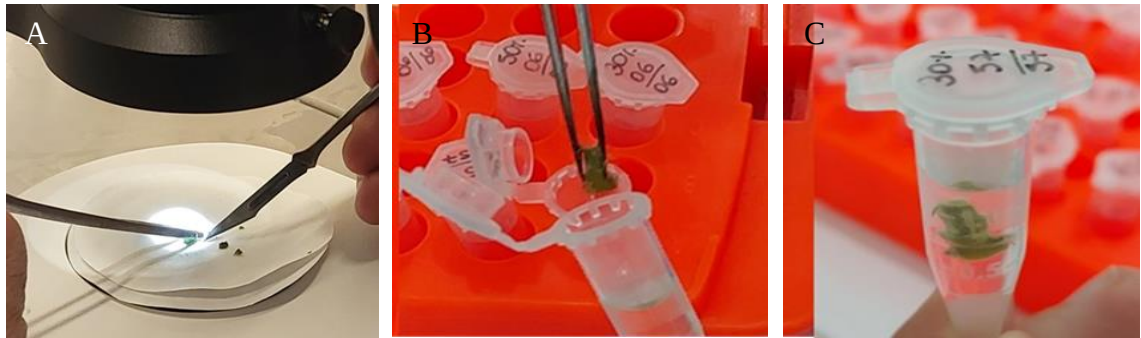


Figura 5. Fixação e desidratação dos segmentos contendo os enxertos e porta-enxertos das microenxertias de *Opuntia* spp. A. Excisão envolvendo a região da união do enxerto + porta-enxerto. B. Transferência para o fixador FAA. C. Desidratação dos segmentos em 30% até 100% de etanol. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Finalizado o processo de desidratação, seguiu-se o procedimento de infiltração. Em um becker de vidro de 50 mL, com auxílio de uma pipeta graduada, foi adicionado 6,25 mL de butanol e um separador de papelão identificado com os tratamentos (Figura 6 A). As amostras submetidas a desidratação, foram retiradas dos eppendorf's e transferidas com auxílio de uma pinça para o butanol (Figura 6B), e em seguida adicionou-se 18,75mL de parafina líquida, completando o volume de 25 mL (Figura 6C).



Figura 6. Infiltração da parafina nos segmentos (enxertos + porta-enxertos) de 1cm de comprimento dos acessos *Opuntia* spp. A. Becker com butanol e identificador dos tratamentos. B. Transferência dos segmentos para o butanol. C. Adição da parafina líquida. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

O becker contendo os segmentos foi colocado em um pote plástico de 250 ml com tampa e submetido a estufa em 60°C por 12 horas (Figura 7A). Após as primeiras 12 horas de infiltração, retirou-se a tampa do pote plástico. Depois, estabeleceu-se um protocolo de duas meias trocas e duas trocas totais de parafinas. Para tanto, retirou-se metade do conteúdo do becker e em seguida foi realizada a reposição do mesmo volume com parafina líquida. E para as duas trocas totais de parafina, a retirada total da parafina e a reposição total da mesma (Figura 7B e C).

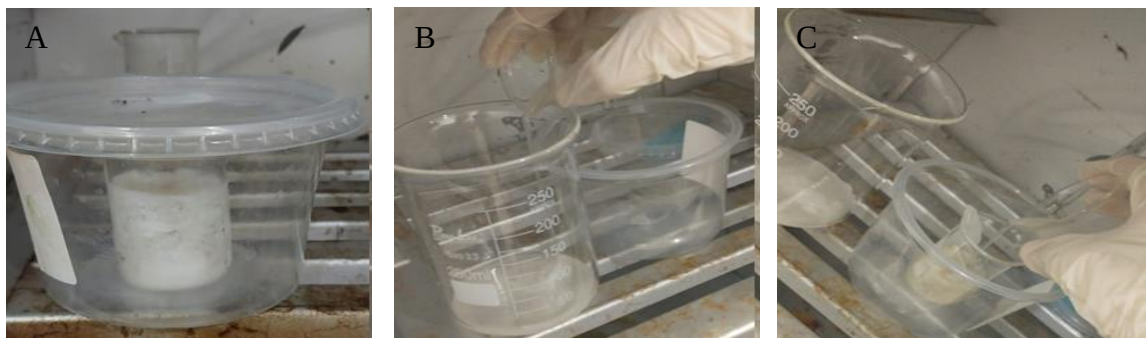


Figura 7. Processo de infiltração da parafina nos segmentos (enxertos + porta-enxertos) dos acessos de *Opuntia* spp. A. Becker com butanol. B e C. Trocas de parafina.

Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Finalizado o processo de infiltração, seguiu-se com o procedimento de inclusão. Em uma placa aquecedora a 60°C, foram colocados moldes cúbicos de 1 cm de papel-cartão e despejado parafina líquida nos mesmos, criando uma fina camada no molde (Figuras 8A e B). Com auxílio de uma pinça pré-aquecida e um pincel, posicionou-se as amostras infiltradas nos moldes cúbicos, acrescentando, em seguida, mais parafina líquida até a borda do molde (Figuras 8C, D e E).

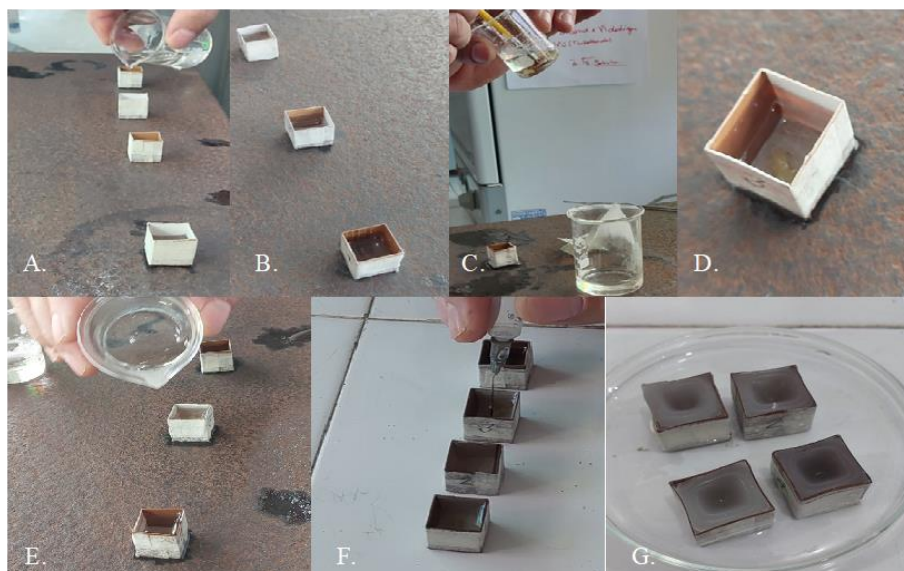


Figura 8. Inclusão dos segmentos (enxertos + porta-enxertos) de acessos *Opuntia* spp. A e B, inclusão do material. C, D e E, adição da parafina para formar o bloco. F e G. Posicionamento dos segmentos durante o resfriamento da parafina. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Em uma placa fria, com auxílio de uma agulha flambada, as amostras foram reposicionadas evitando a região do meio do molde, antes que parafina se solidificasse na parte inferior. Quando a parafina começou a solidificar, o molde foi transferido para uma placa Petri com água destilada e deionizada gelada (Figuras 8G e F). Ambos procedimentos auxiliam na prevenção de formação de bolhas e depressão na região central do bloco de parafina.

Os tecidos emblocados foram seccionados em seções transversais de 10 µm de espessura, submetidos a estufa de secagem por aproximadamente 2 horas e 30 minutos na temperatura de 70°C, desparafinados, hidratados, coloridos com safranina, desidratados, clarificados e selados, conforme o protocolo padrão de coloração Hematoxilina-Eosina modificado (Apêndice A) do Laboratório de Anatomia e Histologia Animal da Universidade Federal da Paraíba. Por fim, foram avaliados e fotografados em microscópio binocular modelo Axio Scope.A1 ZEISS e câmera AxioCam 105 color ZEISS.

3.7. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (combinações de homo e heteroenxertias dos acessos 06 e 57), com cinco repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, por meio do programa estatístico Genes (Cruz, 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando observamos o resumo da análise de variância para os microenxertos sem adição do ácido ascórbico (Tabela 1) verifica-se que houve diferenças significativas somente entre diâmetros nas regiões de enxertias (DRE), das microenxertias de *O. cochenillifera* (acesso 06) e *O. undulata* (acesso 57) avaliados neste estudo. Os resultados para os microenxertos com adição de ácido ascórbico, não foram significativos e não se diferiram estatisticamente dos microenxertos sem a adição de ácido ascórbico (Dados não mostrados).

Tabela 1. Resumo da análise de variância das diferentes combinações de enxerto e porta-enxerto em relação a seis variáveis de *O. cochenillifera* e *O. undulata*.

F. V.	G. L.	Quadrados Médios					
		CTEPE	DRE	PEPE	NBE	NRE	NRPE
Tratamentos	3	0,92 ^{ns}	1,35*	6.466,09 ^{ns}	9,40 ^{ns}	2,42 ^{ns}	4,89 ^{ns}
Resíduo	12	5,52	0,35	3.588,11	5,23	1,87	2,44
Total	15						
Média geral		15,54	4,26	189,53	1,94	0,87	1,56
C.V. (%)		15,10	13,81	31,61	118,03	156,49	99,92

CTEPE, comprimento total do enxerto + porta-enxerto. DRE, diâmetro na região da enxertia. PEPE, peso em mg do enxerto + porta-enxerto. NBPE, número de brotos no enxerto. NRE, número de raízes no enxerto. NRPE, número de raízes no porta-enxerto. *significativo ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns} não significativo estatisticamente.

A não significância entre os diferentes tratamentos para a maioria dos caracteres também foi registrada para outras espécies de *Opuntia* e está relacionada a idade do enxerto, geralmente só se expressará quando as plântulas forem aclimatadas e levadas ao campo (Sl-Awomir et al., 2010).

Considerando as diferentes combinações de enxerto e porta-enxertos analisados, foram obtidas evidências de cicatrização e sucesso semelhantes nos heteroenxertos 06/57 (T2) e 57/06 (T1). Esses heteroenxertos também apresentaram maior média de comprimento (Figura 9) e diâmetro na região da enxertia, resultados semelhantes ao estudo de Bouzroud et al., (2022), reforçando uma possível compatibilidade entre *O. cochinellifera* ($2n = 2x = 22$) e *O. undulata* ($2n = 4x = 44$).

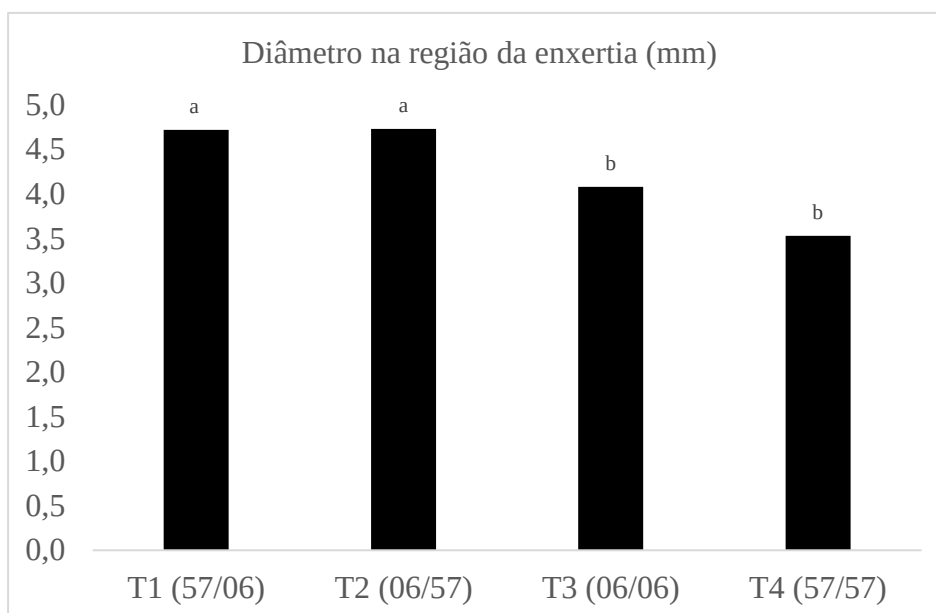


Figura 9. Comparação de médias entre os quatro tratamentos em relação ao diâmetro na região da enxertia em diferentes combinações de enxertos e porta-enxertos de *O. cochenillifera* (acesso 06) e *O. undulata* (acesso 57). T1 e T2, são heteroenxertias e T3 e T4 homoenxertias. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Neste estudo foi observado a presença de betacianinas na epiderme e no córtex das homoenxertias 06/06 (T3) e 57/57 (T4) que não foram submetidas ao ácido ascórbico, com predominância de necroses com coloração marrom-avermelhada na região de união do enxerto e porta-enxerto (figura 10), possivelmente consequências de estresse oxidativo induzido pelas excisões realizadas e ausência do uso de antioxidantes para a amenizar os efeitos do metabolismo secundário das *Opuntia* spp. (Lema-Ruminska; Kulus, 2014; Sl-Awomir et al., 2010).

O contato dos compostos fenólicos e sua oxidação causam a descoloração dos tecidos associados a microenxertia (Taji et al., 2002), ao contrário do que foi registrado neste trabalho, o pigmento avermelhado de betacianinas (Figura 10 A, B e C).

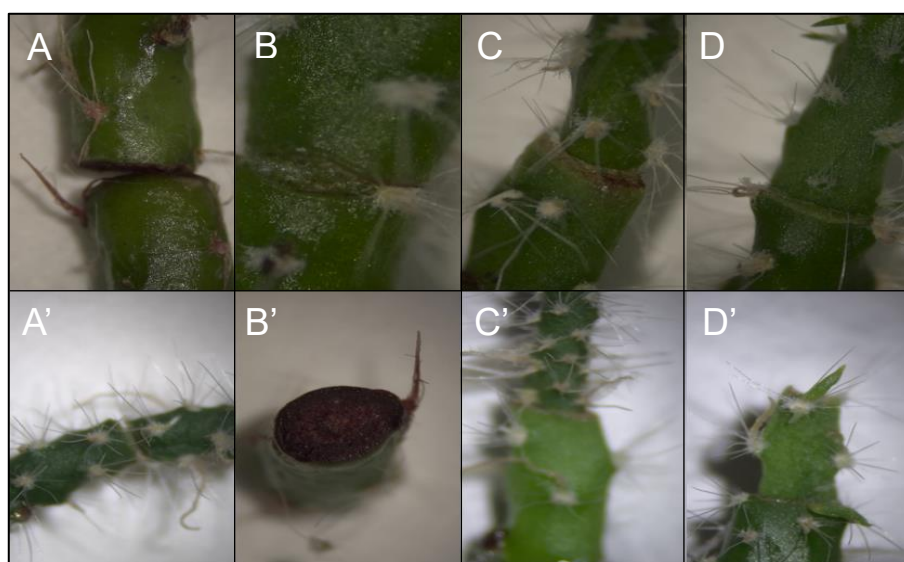


Figura 10. Cicatrizes de necrose ou união dos segmentos do conjunto enxerto + porta-enxerto de acessos de *Opuntia* spp. após 15 e 30 dias da realização das microenxertias sem adição de ácido ascórbico. A, A', B, B', correspondem respectivamente, as homoenxertias 06-06 (T3) e 57/57 (T4); C, C', D, D' correspondem às heteroenxertias 06/57 (T2) e 57/06 (T3) no 15º e 30º dia. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Em geral, a presença de marcas necróticas a partir da oxidação de tecidos, ocorridos principalmente nas homoenxertias sem adição de ácido ascórbico, não foram observados em homo ou heteromicroenxertias com adição do mesmo. (Figura 11). Apresentando cicatrizes uniformes ou processos de calogenese na zona de interface (espaço entre enxertos e porta-enxertos) em todos os tratamentos.

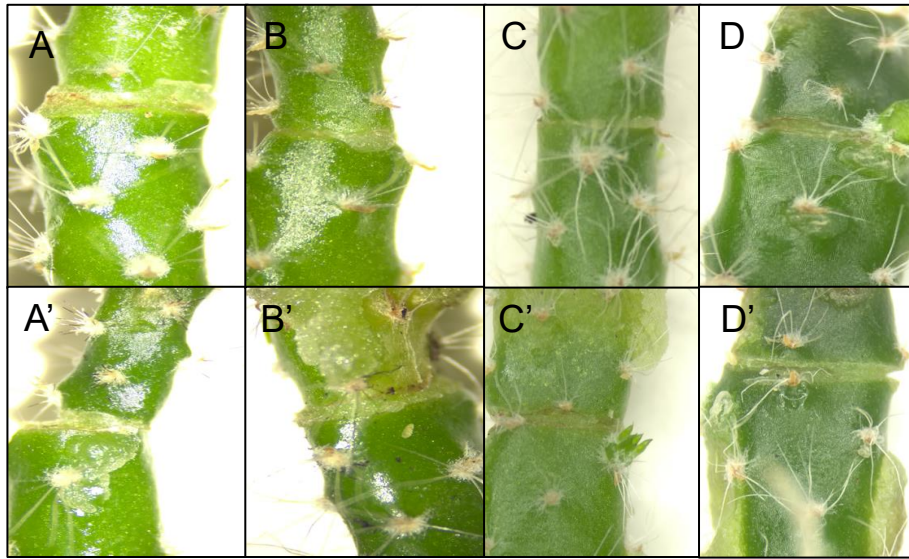


Figura 11. Cicatrizes de união dos segmentos do conjunto enxerto + porta-enxerto de acessos de *Opuntia* spp. após 15 e 30 dias da realização das microenxertias com adição de ácido ascórbico. A, A', B, B', correspondem respectivamente, as homoenxertias 06-06 (T3) e 57/57 (T4); C, C', D, D' correspondem às heteroenxertias 06/57 (T2) e 57/06 (T3) no 30º e 45º dia. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Segundo Estrada-luna et al., (2003), a calogenese é fundamental no desenvolvimento da união entre porta-enxerto e enxerto. Sendo a diferenciação celular parenquimática e o restabelecimento vascular entre os câmbios destes tecidos, os eventos que determinam a compatibilidade entre porta-enxerto e enxerto. Neste estudo, o restabelecimento vascular ocorreu no trigésimo dia após a microenxertia e cultivo *in vitro* na maioria das combinações realizadas, ocorrendo em algumas combinações a reorientação da direção do câmbios vasculares.

Na figura 12A, observamos camada necrótica e zona de interface sem preenchimento, indicando não união do porta-enxerto e enxerto da combinação 06/06 (T3) sem adição de ácido ascórbico. As combinação 57/57 (T4), 06/57 (T2) e 57/06 (T3) apresentam zona de interface preenchida por células parenquimáticas em processo de diferenciação (Figura 12.B, C e D), e regeneração de câmbios vasculares, indicando compatibilidade para estas microenxertias.

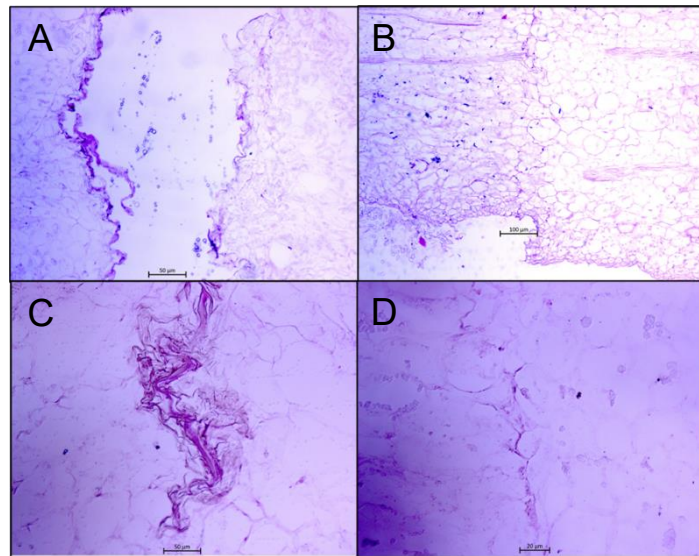


Figura 12. Cortes transversais das microenxertias sem adição de ácido ascórbico de *Opuntia* ssp. A-B, correspondem às homoenxertias 06-06 (T3) e 57/57 (T4); C, D, correspondem às heteroenxertias 06/57 (T2) e 57/06 (T3) no 30º dia. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

Todas as combinações de enxerto e porta-enxerto com adição de ácido ascórbico, apresentaram zona de interface preenchida por células parenquimáticas em processo de diferenciação (fig.13.D) ou regeneração de câmbios vasculares (Figura 13.A, B), reorientação da direção do câmbio vascular (Figura 13C) nas combinações 06-06 (T3), 57/57 (T4) e 06/57 (T2). Indicando possível compatibilidade para todas as combinações de microenxertias deste estudo.

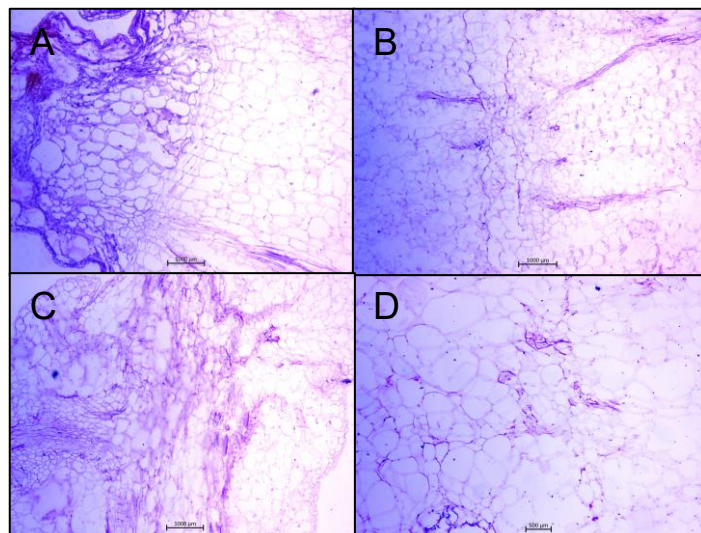


Figura 13. Cortes transversais das microenxertias sem adição de ácido ascórbico de *Opuntia* ssp. A-B, correspondem às homoenxertias 06-06 (T3) e 57/57 (T4); C, D, correspondem às heteroenxertias 06/57 (T2) e 57/06 (T3) no 30º dia. Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

O processo de diferenciação do tecido vascular se dá por indução do enxerto (YIN et al., 2012; RIBEIRO et al., 2015). O estabelecimento de conexões vasculares é considerado um marcador histológico de microenxertia bem-sucedida (ESTRADA-LUNA; LOPESPERALTA; CARDENAS-SORIANO, 2002; YIN et al., 2012).

Aproximadamente, após 130 dias do cultivo *in vitro* das microenxertias com adição de ácido ascórbico, obtivemos o saldo positivo de cinco indivíduos vivos, quatro destes permanecendo a condição *in vitro* (Figura 14A) e um aclimatado (Figura 14B) no 30º dia da realização da microenxertia. Sendo estes pertencentes respectivamente: tratamento T2 (57/06) dois indivíduos, T4 (57/57) um indivíduo, T1 (57/06) um indivíduo *in vitro* e outro aclimatado, os quais permanecem vigorosos até o final deste estudo.

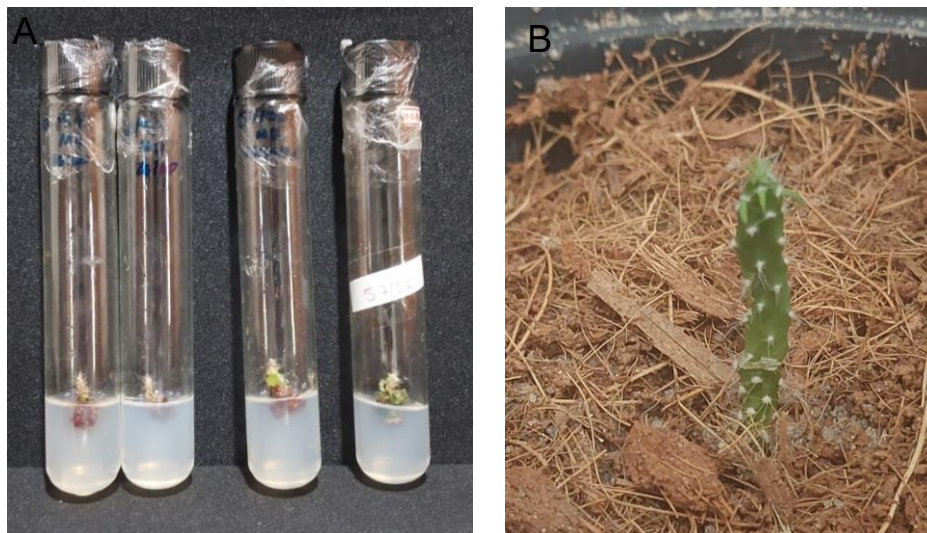


Figura 14. Cultivo *in vitro* das microenxertias com adição de ácido ascórbico de *Opuntia* ssp. A. Correspondem respectivamente, as heteroenxertias 06/57 (T3), 57/06 (T2) e homoenxertia 57/57 (T4) no 130º dia. B. Indivíduo aclimatizado proveniente da heteroenxertia 57/06 (T2). Fonte: Da Silva, S. T. P., (2023).

5.CONCLUSÃO

Com base nas condições de desenvolvimento deste trabalho, conclui-se que não há diferenças entre homo e heteroenxertias com ou sem a utilização de ácido ascorbico para a maioria das características avaliadas. Há evidências de que nas heteroenxertias há compatibilidade entre *O. cochinellifera* ($2n = 2x = 22$) e *O. undulata* ($2n = 4x = 44$), e devem ser empregados em estudos futuros no gênero. Além disso, deve-se realizar adequações nos procedimentos futuros para obtenção de indivíduos microenxertos mais produtivos.

A presença de necroses tecidos avermelhados, ocorridos principalmente nas homoenxertias não foi observado em tratamentos (combinações de enxertos e porta-enxertos) submetidos ao ácido ascorbico. Estas apresentaram cicatrizes uniformes e ausência de manchas avermelhadas em todos os tratamentos, resultando o saldo positivo de quatro indivíduos vivos na condição in vitro e um aclimatado.

REFÊRENCIAS

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia Vegetal**. ed. rev. ampl. UFV, v.3, p. 483, 2012.
- ALMEIDA, R.F. **Palma forrageira na alimentação de ovinos e caprinos no semiárido brasileiro**. Revista verde de Agroecologia e Desenvolvimento sustentável, v. 7, n. 4, p. 08-14, 2012.
- ANTONINO, A. C. D. et al. **Distribuição probabilística do fator de escala de dois solos do Estado da Paraíba**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 8, n. 2-3, p. 220-224, 2004.
- ARAÚJO, J.S.; PEREIRA, D.D.; LIRA, E.C.L.; FÉLIX, E.S.; SOUZA, J.T.A.; LIMA, W.B. **Palma Forrageira: plantio e manejo**. Ed. Instituto Nacional do Semiárido, p.60, 2019. ISBN:978-85-64265-40-0.
- BADALAMENTI, O., CARRA, A., ODDO, E., CARIMI, F. E SAJEVA, M. **A microenxertia in vitro é uma possível alternativa válida à micropropagação tradicional em Cactaceae? Pelecypora aselliformis como estudo de caso**. *SpringerPlus* v.1,n.5, p. 1-4, 2016.
- BOUZROUD, S.; EL MAAIDEN, E.; SOBEH M.; DEVKOTA, K.P; BOUKCIM, H.; KOUISNI, L.; EL KHARRASSI Y. **Micropropagation of *Opuntia* and Other Cacti Species Through Axillary Shoot Proliferation: A Comprehensive Review**. *Frontiers in Plant Science*, v.13, n.1, p.1-17, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.926653>; DOI=10.3389/fpls.2022.926653. Acesso em: 18 de março de 2023.
- COSTA, R.G.; TREVIÑO, I.H.; MEDEIROS, R.G.; MEDEIROS, A.N.; PINTO, T.F.; OLIVEIRA, R.L. **Effects of replacing corn with cactus pear (*Opuntia ficus indica* Mill) on the performance of Santa Inês lambs**. *Small Ruminant Research*, v. 102, n. 1, p. 13-17, 2012.
- DUTRA, M.F.B. **A biotecnologia como instrumento de desenvolvimento social e ambiental aplicado a palma forrageira**. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente – PRODEMA, p.162, Natal, RN, 2021.
- EMBRAPA. **Cochonilha de escama na palma forrageira: aspectos biológicos e estratégias de manejo**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094378/cochonilha-de-escama-na-palma-forrageira-aspectos-biologicos-e-estrategias-de-manejo>. Acesso em 19 de março de 2023.
- ESTRADA-LUNA, A.A.; LÓPEZ-PERALTA, C.; CÁRDENAS-SORIANO, E. **In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia spp.*)**. *rev. Scientia Horticulturae*, v.92, p.317-327, 2002.

FAUSTINO, A.; PIRES, R. C.; CAEIRO, S.; ROSA, A.; MARREIROS, A.; CANHOTO, J.; CORREIA, S.; MARUM, L. **Establishment and Optimization of Micrografting Assays with Almond (*Prunus dulcis*) Portuguese Varieties**. rev. Biol. Life Sci. Forum v.1, n. 11, p.47, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/IECPS2021-11918>. Acesso em: 18 de março de 2023.

FRANZON, R.C. **Produção de mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras**/Rodrigo Cezar Franzon, Silvia Carpenedo, José Carlos Sousa Silva. – Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 56p.- (Documentos/Embrapa Cerrados, ISSN 1517-511, ISSN online 2176-5081;283).

FROTA, M.N.L.; CARNEIRO, M.S.S.; CARVALHO, G.M.C.; NETO, R.B.A. **Palma Forrageira na Alimentação Animal**. Embrapa Meio-Norte, v.233, n.1, p.47, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/139110/1/Doc233.pdf>. Acesso em: 18 de março de 2023.

GRUPO DE PESQUISA LAVOURA XERÓFILA – GPLX. Palma Forrageira (*Opuntia-ficus-indica* e *Nopalea cochenilifera*). Disponível em: <http://www.cca.ufpb.br/lavouraxerofila/pdf/palma.pdf>. Acesso em: 19 de março de 2023.

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. Plant propagation: principles and practices. New Jersey: Prentice Hall. v.7, p.880, 2002.

HUFFMAN, M. Cactus grafting methods. Journal of the Professional Association for Cactus Development. v. 5, p. 106-114, 2003.

HUSSAIN, G.; WANI, M. S.; MIR, M. A.; RATHER, Z. A.; BHAT, K. M. **Micrografting for fruit crop improvement**. AcademicJournals. v. 13, n.25, p. 2474-2483, 2014.

IBGE. Censo Agropecuário 2017. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>. Acesso em: 19 de março de 2023.

LEMA-RUMIŃSKA, J.; KULUS, D. **Micropropagation of cacti-a review**. Haseltonia. v.19, p.46-63, 2014. doi: 10.2985/026.019.0107.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Ed.Instituto Plantarum, v.3, n.1, p. 41, 2001.

MARQUES, O. F. C.; GOMES, L. S. P.; MOURTHÉ, M. H. F.; BRAZ, T. G. S.; PIRES NETO, O. S. **Palma forrageira: cultivo e utilização na alimentação de bovinos**. Caderno de Ciências Agrárias, v. 9, n. 1, p. 75-93, 2017.

MOGHADAM, A. R. L.; ARDEBILI, Z. O.; REZAIE, L. **Effect of índole butyric acid on micrografting of cactus**. African Journal of Biotechnology. v. 11, n. 24, p. 6484-6493, 2012.

MONDRAGON-JACOBO, C.; BORDELON, B. B. Cactus pear (*Opuntia* spp. Cactaceae) breeding for fruit production. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. v. 7, p. 19-35, 1996.

NEFZAOU, A.; LOUHAICHI, M., & SALEM, H. BEN. Cactus as a Tool to Mitigate Drought and to Combat Desertification. *Journal of Arid Land Studies*, v. 24, n.1, p.121–124, 2014.

OLIVEIRA A. S. C.; FILHO F. N. C.; RANGEL A. H. N.; LOPES K. B. P. **A palma forrageira: alternativa para o semi-árido**. *rev.Verde*,v.6, n.3, p. 49-58, 2011.

RIBEIRO, L. M.; NERY, L. A.; VIEIRA, L. M.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O. **Histological study of micrografting in passionfruit**. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, v. 123, n. 1, p. 173-181, 2015.

SILVA, M. M. A. **Micropropagação da palma forrageira variedade Miúda em meio de cultura simplificado**. *Rev. Tecnologia & Ciência Agropecuária*, v.11, n.2, p.25-29, 2017. Disponível em: <https://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-11-2017/v-11-n-2-junho2017/tca11205.pdf>. Acesso em: 18 de março de 2023.

SILVA, R.R; SAMPAIO, E.V.S.B. **Palmas forrageiras *Opuntia fícus-indica* e *Nopalea cochenillifera*: sistemas de produção e usos**. *rev. GEAMA*, v.1, n.2, p.151-161, 2015.

SLAWOMIR, W.; PAWELL, S.; ANETA, S.; YOSEF, M.J. **Profiles of betacyanins in epidermal layers of cacti grafted and stressed by light trained by LC-DAD-ESI-MS/MS**. *Agric. Food Chem.*, v. 58, n. 9, p.1-5, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf100065w> Acesso em: 18 de março de 2023.

TAJI, A.; KUMAR, P. P & LAKSHMANAN, P. **In vitro micrografting**. In: *In vitro Planting Breeding*. 167p. 2002.

VASCONCELOS, A. G. V.; LIRA, M.A; CAVALCANTI, V. L. B.; SANTOS, M. V. F. WILLADINO, L. **Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius* sp)**. *rev.Brasileira de Zootecnia.*, v.38, n.5, p.827-831, 2009.

YIN, H. ; YAN, B. ; SUN, J.; JIA, P.; ZHANG, Z.; YAN, X.; CHAI, J.; REN, Z.; ZHENG, G. **Graft-union development: a delicate process that involves cell–cell communication between scion and stock for local auxin accumulation**. *Journal of experimental botany*. v. 63, n. 11, p. 4219-4232, 2012.

ZAPPI, D., AONA, L.Y.S. & TAYLOR, N. **Cactaceae** In: MELHEM, T.S., WANDERLEY, M.G.L., MARTINS, S.E., JUNG-MENDAÇOLLI, S.L., SHEPHERD, G.J., KIRIZAWA, M. (eds.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica, São Paulo, v. 5, p. 163-194, 2007.

APÊNDICE A - Protocolo de Coloração Hematoxilina – Eosina (Modificado).

Sequência de submersão e suspensão de tecidos em soluções previamente preparadas no Laboratório de Anatomia e Histologia Animal da Universidade Federal da Paraíba.

1. Xilol I – 15 minutos;
2. Xilol II – 15 minutos;
3. Xilol + Álcool – 5 minutos;
4. Álcool 100% – 5 minutos;
5. Álcool 90% – 5 minutos;
6. Álcool 70% – 3 minutos;
7. Água corrente – 3 minutos;
8. Safranina 1% - 10 minutos;
9. Água corrente – 4 minutos;
10. Álcool 70% – 5 minutos;
11. Álcool 90% – 5 minutos;
12. Álcool 100% I – 5 minutos;
13. Álcool 100% II – 5 minutos;
14. Xilol I – 10 minutos;
15. Xilol II – 10 minutos;