



VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE PITAYA COM DIFERENTES NÍVEIS DE PRODUÇÃO POR MEIO DE MARCADORES RAPD

Keize Pereira Junqueira¹, Fábio Gelape Faleiro¹, Graciele Bellon¹, Nilton Tadeu Vilela Junqueira¹, Cristiane Andréa de Lima¹, Kênia Gracielle da Fonseca¹, Erivanda Carvalho Santos¹ (¹Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. e-mail: keize@cpac.embrapa.br). Auxílio Financeiro: CAPES, CNPq.

Termos para indexação: variabilidade genética, *Hylocereus undatus*, marcadores moleculares, seleção, melhoramento genético.

Introdução

Pertencentes à família das cactáceas, as pitayas vêm se destacando no mercado de frutas exóticas. Há várias espécies denominadas “pitayas”, dentre as quais podem ser citadas *Hylocereus undatus* (pitaya vermelha de polpa branca), *Hylocereus costaricensis* (pitaya vermelha de polpa vermelha), *Selenicereus megalanthus* (pitaya amarela) e *Selenicereus setaceus* (pitaya-do-cerrado). Há também outras espécies de ocorrência em áreas de Cerrado (Junqueira et al., 2007).

A espécie mais cultivada atualmente é a pitaya vermelha de polpa branca. Colômbia e México são os principais produtores mundiais (Andrade et al., 2005). Os frutos são bastante atrativos, de coloração vermelha e polpa esbranquiçada, com numerosas sementes pretas. Segundo Ortiz e Liveira (1995), a pitaya vermelha possui alto potencial agrônomico e econômico. De acordo com Junqueira et al. (2002), devido à sua rusticidade, a pitaya é considerada uma alternativa potencialmente viável também para o aproveitamento de solos pedregosos, arenosos e maciços rochosos.

Os preços atualmente cotados nos mercados regional, nacional ou internacional, têm estimulado a extensão e a intensificação do cultivo da pitaya em diferentes sistemas de plantio, no México, Nicarágua, Malásia, Vietnã e Israel (Hesen & Tellez, 1995; Nerd & Mizrahi, 1997; Rodríguez, 2000, citados por Andrade et al., 2007). No Brasil, existem pequenas áreas de produção de pitaya, situadas principalmente no Estado de São Paulo, localizadas na região de Catanduva. Na região Sudeste, a produção dos frutos ocorre durante os meses de dezembro a maio. A produtividade média anual é de 14 toneladas de fruto/ha (Bastos et al., 2006).

Apesar da crescente demanda, ainda não há uma cultivar lançada no mercado que atenda às necessidades climáticas de produção e às exigências do consumidor brasileiro. As mudas comercializadas atualmente não são provenientes de sementes selecionadas e observa-se num mesmo plantio grande variação na produção, tamanho e formato de frutos, bem como suas características físico-químicas, refletindo a desuniformidade das mudas e necessidade de existência de uma cultivar indicada para a região.

O presente trabalho é parte do programa de seleção e melhoramento da pitaya CPAC PY-01 da Embrapa Cerrados. Objetivou-se realizar o estudo da variabilidade genética de 16 acessos de pitayas mantidos na coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados, apresentando diferentes características fenotípicas relacionadas especialmente à produção, por meio de marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Foram analisados 16 acessos de pitaya vermelha (*Hylocereus undatus*) pertencentes a Coleção de Germoplasma da Embrapa Cerrados (Tabela 1). Cladódios em estágio inicial de maturação foram coletados e o DNA genômico extraído, utilizando-se o método do CTAB, com algumas modificações (Faleiro et al., 2003).

Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas para a obtenção de marcadores RAPD. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 μ L, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, $MgCl_2$ 3 mM, 100 μ M de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 μ M de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima *Taq* polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Foram utilizados 11 *primers* decâmeros: OPD (01, 02, 05, 11), OPE (11), OPF (08 e 14), OPG (18) e OPH (04, 13 e 15).

As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 35°C e 90 segundos a 72°C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72°C e, finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 μ l de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%), em água. Essas amostras foram



aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Tabela 1. Acessos de pitaya analisados e respectivas características agrônômicas relacionadas à forma do fruto e produtividade.

Número	Acesso	Características agrônômicas	
		Produtividade (Nº de frutos na safra de 2007)	Formato do Fruto /Vigor da Planta
1	Planta “51”	Mais de 25	ovóides
2	Planta “52”		ovóides
3	Planta “53”		ovóides
4	Planta “55”		ovóides
5	Planta “47”	Entre 15 e 25	ovóides
6	Planta “63”		ovóides
7	Planta “28”		longos
8	Planta “33”	Entre 1 e 15	longos
9	Planta “4”		ovóides
10	Planta “13”	Sem produção	ovóides
11	Planta “22”		ovóides
12	Planta “19”		longos
13	Planta “59”	Sem produção	Alto Vigor
14	Planta “61”		Alto Vigor
15	Planta “1”		Baixo Vigor
16	Planta “26”		Baixo Vigor

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li (1979), utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se o método do UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*) como critério de agrupamento e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS INSTITUTE INC., 1989) e Statistica (STATSOFT INC., 1999)

Resultados e Discussão

Os marcadores RAPD mostraram-se excelentes ferramentas para detectar a variabilidade genética em pitayas, fato já observado por Junqueira et al. (2007), que trabalharam com acessos de pitayas nativos.

Os 11 *primers* decâmeros geraram um total de 111 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 10,1 marcadores por *primer*. Dos 111 marcadores, 45 (40,54%) foram polimórficos. A baixa porcentagem de marcadores polimórficos evidenciam a baixa variabilidade genética dos acessos analisados. Tal resultado já era esperado, tendo em vista que trata-se da mesma espécie e que os acessos já se encontram em fase avançada de seleção, estreitando-se a base genética da população analisada.

As distâncias genéticas entre os 16 acessos de pitaya variaram entre 0,006 e 0,148 (dados não apresentados). As maiores distâncias genéticas foram obtidas entre os acessos “52” e “61”. Considerando que, em 2007, o primeiro produziu mais de 25 frutos e o segundo, nenhum, deduz-se que, neste caso, a provável causa da variação seja o ambiente e não o genótipo. As menores distâncias genéticas foram constatadas entre os acessos “63” e “55” e entre “19” e “59”. Os dois grupos apresentaram valores de produção próximos. Junqueira et al. (2007), estudando acessos nativos de pitaya, de diferentes espécies, obtiveram distâncias variando entre 0,088 e 0,848, comprovando a larga base genética das pitayas de modo geral e concluindo ser o Brasil um dos maiores centros de diversidade destas frutas.

A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, permitiram subdividir os 16 acessos em, pelo menos, quatro grupos de similaridade genética (Figura 1). O maior grupo foi formado por 10 dos 16 acessos. Dentro deste grupo pode-se verificar o agrupamento da maioria das plantas que produziram mais de um fruto na safra de 2007 (“51”, “33”, “55”, “63”, “13” e “28”), havendo significativo agrupamento das plantas mais produtivas. Os frutos de diferentes formatos não formaram grupos específicos. Outro grupo foi formado por apenas pelo acesso “52”, que produziu mais de 25 frutos na referida safra. O terceiro grupo foi constituído pelos acessos “19”, “59”, “26” e “1”, sendo que as três últimas não produziram frutos na safra de 2007. O último grupo foi formado pelo acesso “61”, que não produziu frutos em 2007, porém apresentou alto vigor.

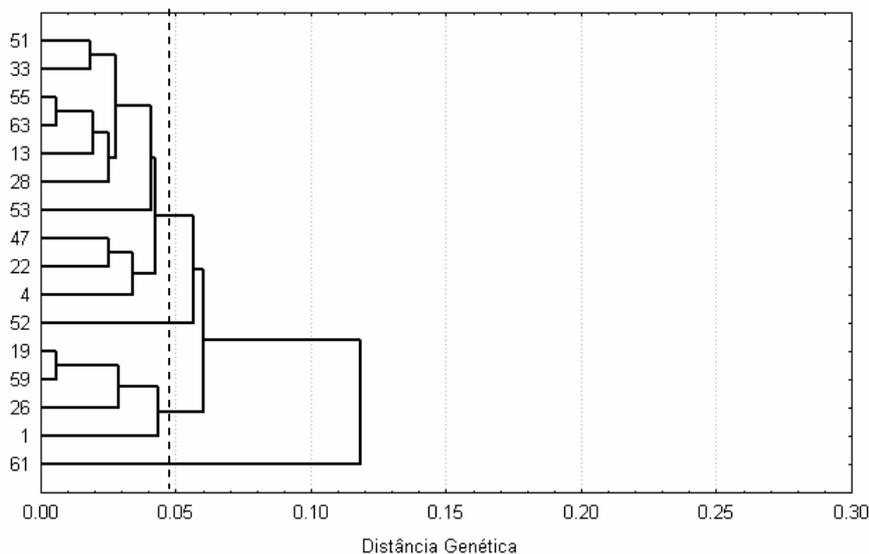


Figura 1. Análise de agrupamento de 16 acessos de pitaya com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 111 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

Conclusões

Os marcadores moleculares RAPD mostraram que, mesmo dentro da mesma espécie, há variabilidade genética entre plantas com produções diferentes, ressaltando a importância das técnicas moleculares como instrumentos auxiliares na seleção de matrizes. Tal fato poderá subsidiar futuros trabalhos de avaliação agrônômica dessas variedades, principalmente objetivando o lançamento de uma cultivar de pitaya no mercado.

Referências bibliográficas

ANDRADE, R.A.; OLIVEIRA, I.V.M.; MARTINS, A.B.G. Influência da condição e período de armazenamento na germinação de sementes de pitaya vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2005. v.27, n.1, p. 168-170.

ANDRADE, R.A.; MARTINS, A. B.G.; SILVA, M.T.H. Influência da fonte material e do tempo de cura na propagação vegetativa da pitaya vermelha (*Hylocereus undatus* Haw). **Revista Brasileira de Fruticultura**. 2007, vol.29, no.1, p.183-186.

BASTOS, D.C.; PIO, R.; SCARPARE FILHO, J.A.; LIBARDI, M.N.; ALMEIDA, L.F.P.; GALUCHI, T.P.D.; BAKKER, S.T. Propagação da Pitaya 'vermelha' por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**. 2006, vol.30, no.6, p.1106-1109.



CRUZ, C.D. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV. 1997. 442p.

FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R., KARIA, C.T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico N^o92) 6p.

JUNQUEIRA, K. P. ; FALEIRO, F, G ; JUNQUEIRA, N,T,V ; BELLON, G. ; FONSECA, K.G ; LIMA, C.A ; SANO, S.M . Diversidade genética de Pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. In: **4º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS**, 2007, São Lourenço- MG. Diversidade genética de Pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD, 2007.

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V.; RAMOS, J.D.; PEREIRA, A.V. **Informações Preliminares sobre uma espécie de pitaya do Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 18p. 2002. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; 62).

NEI, M.; LI, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 76, n. 10, p. 5269-5273.

ORTIZ, H.Y.D.; LIVERA, M.M. La pitahaya (*Hylocereus spp*): Recurso genético de América. Pimienta B. et al. (ed.s). **Memorias del 6º Congreso Nacional y 4º Internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal**. Guadalajara. México. p.191-194. 1995.

SAS INSTITUTE INC. 1989. **SAS/STAT user's guide**. Version 6, 4 ed. SAS Institute, North Caroline, Cary. 1989.

STATSOFT INC. **Statistica for Windows [Computer program manual]** Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.