

OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE PITAYAS E CONFIRMAÇÃO POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

Cristiane Andréa de Lima¹, Fábio Gelape Faleiro², Nilton Tadeu Vilela Junqueira³, Graciele Bellon⁴, Kelly de Oliveira Cohen⁵, Marcos Teixeira Castelo Branco⁶, Elisiane Fuhrmann⁷, Antônio José Pacheco Leão⁸, Rogério Rodrigues de Oliveira⁹

¹Estudante de doutorado em Agronomia, Universidade de Brasília-UnB, Brasília, DF, cristiane@cpac.embrapa.br, ²Dr. Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970, ffaleiro@cpac.embrapa.br, ³Dr. Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970, Planaltina-DF, junqueira@cpac.embrapa.br, ⁴Estudante de doutorado em Agronomia, Universidade de Brasília-UnB, Brasília, DF, gracibellon@yahoo.com.br ⁵Dr. Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970, Planaltina-DF, kelly.cohen@cpac.embrapa.br, ⁶Estudante de Agronomia, União Pioneira de Integração Social- UPIS, Brasília, DF, marquinnaza@hotmail.com, ⁷Estudante de mestrado em Agronomia, Universidade de Brasília-UnB, Brasília, DF, elisipva@yahoo.com.br, ⁸Estudante de mestrado em Agronomia, Universidade de Brasília -UnB, Brasília, DF, antoniojoseleao@gmail.com, ⁹Eng. Agr., Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970, Planaltina-DF, rogerio.oliveira@cpac.embrapa.br.

Introdução

A pitaya é uma fruta rústica, pertencente à família Cactaceae, sendo conhecida mundialmente como "Dragon Fruit" ou Fruta-do-Dragão. Produz flores de antese noturna de rara beleza, com grande potencial ornamental. De acordo com a espécie, seus frutos podem apresentar características diversificadas, dentre as quais podem ser citadas *Hylocereus undatus* (casca vermelha de polpa branca), *Hylocereus costaricensis* (casca vermelha de polpa vermelha), *Selenicereus megalanthus* (casca amarela com espinhos de polpa branca) e *Selenicereus setaceus* (casca vermelha com espinhos de polpa branca).

Atualmente, as espécies de pitaya mais cultivadas e comercializadas no mundo são: *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton e Rose e a *Selenicereus megalanthus* (K. Schum ex Vaupel) (MIZRAHI et al., 1997; NERD et al., 2002). No Brasil é comum serem encontradas, em estágio nativo no Cerrado e matas de transição, espécies do gênero *Selenicereus* e *Hylocereus*, dentre elas a *Selenicereus setaceus* (Rizz.), popularmente conhecida como pitaya-do-cerrado ou "saborosa" (JUNQUEIRA et al., 2002).

Os frutos da espécie *Hylocereus undatus* são muito atrativos ao consumidor, de sabor agradável e levemente adocicado, tem como origem às regiões de florestas tropicais do México e América Central e América do Sul (MIZRAHI et al., 1997). Encontra-se distribuída pela Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil, Colômbia e México, sendo os dois últimos os maiores produtores mundiais (CANTO, 1993).

Até o momento, não existe uma cultivar de pitaya adaptada às condições do Brasil, embora a região centro-norte do país seja considerada um dos maiores centros de diversidade de pitaya do mundo (JUNQUEIRA et al., 2007). Os principais entraves gerados pela falta de

uma cultivar brasileira acarretam em menor produtividade, maior ataque de pragas e doenças, escassez no mercado e desuniformidade dos frutos, levando a uma redução no preço pago ao produtor. No programa de melhoramento genético da pitaya realizado na Embrapa Cerrados, híbridos interespecíficos estão sendo obtidos utilizando a polinização manual e natural. Os supostos híbridos obtidos por polinização natural possuem genitor feminino conhecido e prováveis genitores masculinos. Neste trabalho, objetivou-se identificar, por meio de marcadores moleculares RAPD, o genitor masculino de plantas de uma progênie supostamente híbrida, obtida por meio de polinização natural.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados em Planaltina, DF. Foram analisados 5 supostos híbridos (Tabela 1) e seus prováveis genitores. Testaram-se dois genitores masculinos escolhidos em função da proximidade com a genitora feminina com antese coincidente.

A espécie *Hylocereus costaricensis* (genitor feminino) foi propagada via assexuada do mesmo clone desde 2006, porém as plantas floresciam abundantemente sem vingar frutos. Em março de 2010, com a mudança climática, a floração da espécie *Hylocereus costaricensis* coincidiu com as das espécies *Hylocereus undatus* e *Selenicereus setaceus*, favorecendo um cruzamento natural entre as espécies.

Após o amadurecimento, o fruto provindo da espécie *Hylocereus costaricensis* foi coletado e as sementes semeadas em bandejas de poliestireno de 72 células contendo substrato Plantmax®. Cladódios em estágio intermediário de maturação dos supostos híbridos e prováveis genitores foram coletados e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB com algumas modificações (Faleiro et al., 2003).

Amostras de DNA genômico de cada material genético foram extraídas, e foram utilizados 16 *primers* decâmeros: OPD (01, 05, 08 e 11), OPE (02, 11, 16 e 20), OPF (08 e 14), OPG (05 e 18) e OPH (04, 12, 13 e 15), para a obtenção de marcadores RAPD.

Os marcadores RAPD gerados para os supostos híbridos e os prováveis genitores foram analisados quanto a presença ou não de bandas informativas para a confirmação da fecundação cruzada. Segundo Faleiro et al. (2003), bandas informativas são alelos presentes no genitor masculino e ausentes no feminino, cuja presença nas plantas supostamente híbridas confirmam a fecundação cruzada. Foram consideradas bandas informativas somente aquelas com alta nitidez e reproducibilidade.

Resultados e Discussão

Os marcadores RAPD mostraram-se excelentes ferramentas para verificar a ocorrência ou não de fecundação cruzada entre as espécies de *Hylocereus costaricensis*, *Hylocereus undatus* e *Selenicereus setaceus* em estudo. Segundo Faleiro et al. (2003), o uso de um ou dois primers ou combinações de primers com, pelo menos, uma banda informativa é suficiente para confirmar ou não a ocorrência da fecundação cruzada. Segundo Borém (1997), cada banda informativa funciona como um gene marcador comumente utilizado pelos melhoristas.

O padrão de amplificação do DNA e as bandas informativas, confirmando a ocorrência da hibridação natural, são mostrados na Figura 1.

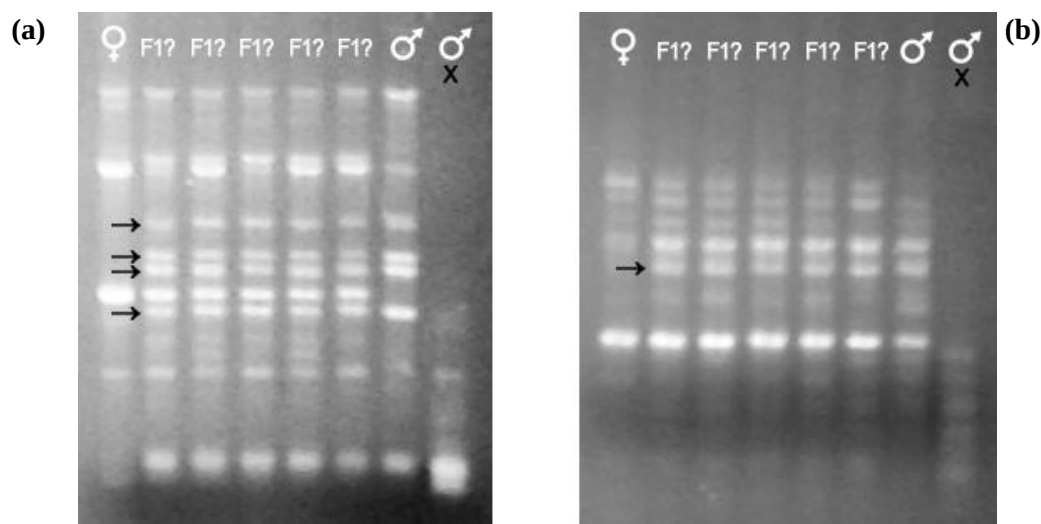


FIGURA 1. Produto de amplificação de amostras de DNA genômico dos possíveis híbridos interespecíficos (F1?), seus genitores *Hylocereus costaricensis* ♀, *Hylocereus undatus* ♂ e descartado o segundo genitor masculino *Selenicereus setaceus* ♂, obtidos com o uso dos primers decâmeros OPE-11 (a) e OPF-08 (b). As setas indicam bandas informativas utilizadas para a confirmação da fecundação cruzada.

Vale ressaltar que a confirmação da fecundação cruzada foi feita com base em vários produtos de amplificação e não apenas como ilustrado na Figura 1. Dessa forma confirmou que ocorreu cruzamento natural entre as espécies *Hylocereus costaricensis* e *Hylocereus undatus* somente, não havendo, portanto, autofecundação e interferência de *S. setaceus*. Com base nesses resultados, fica evidente a necessidade de plantios multiclonais de *H. costaricensis*. Por outro lado, o plantio de pitayas oriundas de sementes de polinização aberta pode representar grandes riscos ao empreendimento devido a misturas genéticas decorrentes de cruzamentos naturais entre espécies, reforçando a necessidade de se utilizar clones ou matrizes superiores.

Conclusão

Constatou-se a existência de compatibilidade genética entre as espécies *Hylocereus costaricensis* e *Hylocereus undatus*, sendo possível a utilização das mesmas em programas de melhoramento. Os marcadores RAPD confirmaram a espécie *Hylocereus undatus* como genitora masculina da progênie híbrida e mostraram-se excelentes ferramentas para verificar a ocorrência ou não da fecundação cruzada entre espécies de pitaya.

Referências Bibliográficas

BORÉM, A. 1997. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa,UFV.547p.

CANTO, A. R. **El cultivo de pitahaya em Yucatan**. Maxcanú: Yucatán, 1993. 53 p.

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 No.92) 6p.

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).

JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RAMOS, J. D.; PEREIRA, A. V. **Informações preliminares sobre uma espécie de Pitaya do Cerrado**. Documentos/ EMBRAPA Cerrados, ed. 1. Planaltina, DF, 2002. 18 p.

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.

MIZRAHI, Y.; NERD, A.; NOBEL, P. S. Cacti as crops. **Horticultural Review**, New York, v. 18, p. 291–320, 1997.

NERD, A.; TEL–ZUR, N.; MIZRAHI, Y. Fruit of vine and columnar cacti. In: NOBEL, P. S. (Ed.). **Cacti: biology and uses**. Los Angeles: UCLA, 2002. p. 254–262.