

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOTECNIA

TESE

**Caracterização Morfoagronômica, Diversidade
Genética e Requerimentos de Polinização de
Pitaieiras**

Fábio Ferreira Cruvinel

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA, DIVERSIDADE
GENÉTICA E REQUERIMENTOS DE POLINIZAÇÃO DE PITAIERAS**

FÁBIO FERREIRA CRUVINEL

*Sob a Orientação do Professor
Marco Antônio da Silva Vasconcellos*

*e
Coorientação do professor
Luiz Aurélio Peres Martelleto*

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Fitotecnia, no Programa
de Pós-Graduação em fitotecnia,
área de concentração Produção
Vegetal.

Seropédica, RJ
Novembro de 2020

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001”.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C955c Cruvinel, Fábio Ferreira, 1979-
Caracterização morfoagronômica, diversidade genética e
requerimentos de polinização de pitaieiras / Fábio Ferreira
Cruvinel. - Seropédica-RJ, 2020.
98 f.: il.

Orientador: Marco Antônio da Silva Vasconcellos.
Coorientador: Luiz Aurélio Peres Martelletto.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Pós-Graduação em fitotecnia, 2020.

1. *Selenicereus* spp.. 2. Recurso genético vegetal.
3. Coleção de germoplasma. I. Vasconcellos, Marco Antônio
da Silva, 1963-, orient. II. Martelletto, Luiz Aurélio
Peres, 1963-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Pós-Graduação em fitotecnia. IV. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta tese, desde que seja citada a fonte.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**



HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO Nº 5 / 2024 - DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)

Nº do Protocolo: 23083.009981/2024-69

Seropédica-RJ, 28 de fevereiro de 2024.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

FABIO FERREIRA CRUVINEL

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Fitotecnia**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal.

TESE APROVADA EM 20/11/2020.

Marco Antônio da Silva Vasconcellos. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Jorge Jacob Neto. Dr. UFRRJ

Fábio Gelape Faleiro. Dr. Embrapa Cerrados

Nobuyoshi Narita. Dr. APTA-SP

Almy Junior Cordeiro de Carvalho. Dr. UENF

(Assinado digitalmente em 29/02/2024 11:12)
JORGE JACOB NETO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)
Matrícula: 387256

(Assinado digitalmente em 02/03/2024 23:36)
MARCO ANTONIO DA SILVA VASCONCELLOS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)
Matrícula: 988442

(Assinado digitalmente em 28/02/2024 10:15)
FÁBIO GELAPE FALEIRO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 739.634.706-82

(Assinado digitalmente em 07/03/2024 06:51)
NOBUYOSHI NARITA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 042.500.728-60

(Assinado digitalmente em 29/02/2024 17:17)
ALMY JUNIOR CORDEIRO DE CARVALHO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 879.805.847-91

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **5**, ano: **2024**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO**, data
de emissão: **28/02/2024** e o código de verificação: **dfc6672dcd**

DEDICATÓRIAS

Dedico e ofereço à minha mãe Aparecida e à minha esposa Barbara.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço e reconheço a mão de Deus neste trabalho.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), ao Instituto de Agronomia e ao curso de Pós-Graduação em Fitotecnia pelos docentes dedicados e o corpo administrativo sempre solícito e eficiente.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa e taxa de bancada tão necessários à minha manutenção e da pesquisa durante esse período de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À FAPERJ pelo apoio ao programa de pós graduação.

Ao Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular de Plantas pela estrutura e treinamento em biologia molecular, em especial ao professor Pedro pela abertura e parceria e à Fernanda pela ajuda com a rotina laboratorial. Ainda ao professor Pedro Correa Damasceno Junior agradeço as lições, os artigos, as técnicas, incentivo, a postura pessoal e profissional que serviram para nortear esta tese.

À minha esposa Barbara e meus filhos Fábio e Felipe que são a minha principal motivação.

Ao professor, orientador e amigo Marco por todos os ensinamentos, oportunidades e preocupação com o meu bem estar e de minha família, orientando não somente a tese, mas também meu futuro como pessoa e profissional.

Ao professor Martelletto por sempre considerar-me maior do que realmente sou e acreditar no meu potencial e das nossas pesquisas, pelas lições de didática e por ser tão acessível e solícito.

Ao engenheiro agrônomo Gustavo pelo acesso à coleção de pitaieiras, a coleta de dados e ensinamentos práticos sobre a cultura.

À banca examinadora por dedicar tempo na leitura, sugestões e críticas que adicionam qualidade nesta tese e em minha formação.

RESUMO

CRUVINEL, Fábio Ferreira. **Caracterização morfoagronômica, diversidade genética e requerimentos de polinização de pitaieiras.** 2020. 83p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

A pitaia é uma fruta emergente, sendo apreciada pelo seu sabor e propriedades nutricionais. Originada no continente americano e conhecida desde o período pré-colombiano, apenas nos últimos 30 dias anos essa fruteira ganhou importância comercial refletindo em poucos trabalhos relacionados ao manejo seu melhoramento genético. Este trabalho objetiva a caracterização morfoagronômica, o estudo da diversidade e o levantamento dos requerimentos de polinização das pitaieiras presentes coleção de germoplasma da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como base para futuros trabalhos de melhoramento dessa cactácea nessa região e a indicação espécies e futuro lançamento de cultivares aos produtores rurais. Para tanto, foram avaliados 54 descritores morfoagronômicos qualitativos e quantitativos, 25 dos quais foram descartados pela análise de componentes principais por se mostrarem redundantes e correlacionados com os demais. Dos 29 descritores mantidos, os que mais contribuíram para a variância fenotípica foram os relacionados as características dos frutos e das flores para o levantamento da diversidade da coleção (capítulo 1). A dissimilaridade entre os acessos foi estimada com base nos 29 descritores multicategóricos (quantitativos e qualitativos) em conjunto. A partir da matriz de dissimilaridade, foi realizada a análise de agrupamento dos acessos por meio de dendrograma utilizando o método do UPGMA como critério de agrupamento. Foram obtidos 6 grupos condizentes com a caracterização taxonômica e a origem do material e os acessos HuxHp1, HixHi2, Hs4 e HmxHi mostram-se promissores na obtenção de frutos de pitaia de alta qualidade e para futuras hibridações (capítulo 2). A extração de DNA a partir de cladódios das pitayas pode ser dificultada pelo excesso de mucilagem, polissacarídeos e compostos secundários do metabolismo típico dessas cactáceas. A adição de etanol hidratado na concentração de 70% antes da extração que utiliza o detergente CTAB foi proposta para facilitar a extração de DNA de pitaieiras. Com essa adaptação foi possível a extração de DNA em quantidade e qualidade que permitem os estudos moleculares com DNA e foi notada a eliminação da mucilagem (capítulo 3). Foram estudados, ainda na referida coleção, os requerimentos de polinização de 4 espécies de pitaieiras (*Selenicereus undatus*, *S. polyrhizus*, *S. costaricensis* e *S. setaceus*). A polinização cruzada aumenta o pegamento de frutos em pitaieiras. Os acessos das espécies *S. polyrhizus* e *S. costaricensis* da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ possuem heterostilia que causa diminuição no pegamento de frutos na polinização aberta. O acesso da espécie *S. costaricensis* possui evidência de autoincompatibilidade (Capítulo 4).

Palavras-Chave: *Selenicereus* spp.. Recurso genético vegetal. Coleção de germoplasma.

ABSTRACT

CRUVINEL, Fábio Ferreira. **Morpho-agronomic characterization, genetic diversity and pollination requirements of pitayas trees.** 2020. 83p. Thesis (Doctorate in Phytotechnics). Institute of Agronomy, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

The pitaya (or dragon fruit) is an emerging fruit, it has appreciation for its flavor and nutritional properties. Originating in the American continent and despite the knowledge of this fruit being pre-Columbian, its breeding is incipient. This work aims at the morpho-agronomic characterization of the germplasm collection of pitaieiras at the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, the study of the diversity of this collection and the survey of the pollination requirements of this fruit tree, intending to be the basis for future work to improve this cactus in this region and the indication of species and the future launch of cultivars for rural producers. For this purpose, 54 qualitative and quantitative morpho-agronomic descriptors were evaluated by multivariate statistics, 25 of these descriptors were discarded by the principal component analysis because they are redundant and correlated with the others. 29 descriptors maintained, the most important were those related to the characteristics of fruits and flowers for surveying the diversity of the collection (chapter 1). The dissimilarity was made based on the 29 descriptors maintained, considered to the multi-categorical descriptors (quantitative and qualitative) together. The cluster study was then carried out by average of the dissimilarities (UPGMA) and 6 groups were obtained, consistent with the taxonomic characterization and the origin of the material, and the accessions HuxHp1, HixHi2, Hs4 and HmxHi show promise in obtaining high quality pitaya fruits and for future hybridizations (chapter 2). The pollination requirements of 4 species of pitaieiras (*S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. costaricensis* and *S. setaceus*) were also studied in this germplasm collection. Cross-pollination increases fruit set in pitaya trees. The accessions of the species *S. polyrhizus* and *S. costaricensis* of the collection of germplasm of pitaieiras of UFRRJ have heterostyly that causes a decrease in set fruits in open pollination. The accession of the species *S. costaricensis* has evidence of self-sterility (chapter 3). The extraction of DNA from pitaiyas stems can be hindered by the excess of mucilage, polysaccharides and secondary compounds of the typical metabolism of these cacti and the addition of hydrated ethanol in the concentration of 70% before the extraction using the CTAB detergent has been proposed to facilitate DNA extraction of pitaya stems. With this adaptation it was possible to extract DNA in quantity and quality that allow molecular studies with DNA and the elimination of mucilage was noted (Chapter 4).

Key Words: *Selenicereus spp.*. Plant genetic resource. Germplasm collection.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Acessos de pitaieiras da coleção de trabalho da UFRRJ	29
Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (continua).	30
Tabela 3. Análise de componentes principais (ACP) dos autovalores maiores que 0,7. Componentes principais (CP), autovalores (λ) e contribuição de cada componente principal na explicação da variância total (VCP) dos descritores qualitativos e quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.	34
Tabela 4. Análise de componentes principais (ACP) dos autovalores após o descarte. Componentes principais (CP), autovalores (λ) e contribuição de cada componente principal na explicação da variância total (VCP) dos descritores qualitativos e quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.	35
Tabela 5. Descritores morfoagronômicos de pitaieiras utilizados para a caracterização de 25 acessos da coleção de germoplasma da UFRRJ.	36
Tabela 6. Acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.....	50
Tabela 7. Agrupamento Tocher dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ.....	55
Tabela 8. Análise da variância de 4 concentrações de etanol aplicado previamente ao uso do método CTAB para a extração de DNA de pitaieiras.....	65
Tabela 9. Absorbância de amostras de DNA extraídas de pitaieiras pelo método CTAB com tratamento prévio com etanol em 4 concentrações.....	67
Tabela 10. Heterostilia floral de 4 espécies de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.	77
Tabela 11. Porcentagem de frutos produzidos por 4 espécies de pitaieiras submetidas a tratamentos de polinização.	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia floral da pitaieira <i>Selenicereus undatus</i>	5
Figura 2. Flor completa: morfologia externa.....	12
Figura 3. Sistemas reprodutivos. A-Autopolinização. B- Geitonogamia. C-Xenogamia.	15
Figura 4. Importância relativa dos descritores qualitativos de 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. Onde: FD3 – Cor da polpa, RD1- Intensidade de vermelho das brácteas, CD7- Borda da Costilha, RD2- Cor da pétala, CD4 – Cor do cladódio, CD2- Cerosidade do cladódio, FD5 – Cor do exocarpo, RD3 – Cor principal da sépala e FD6 – Cavidade apical.....	37
Figura 5. Gráfico de setores da caracterização qualitativa de 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.....	38
Figura 6. Importância relativa dos descritores quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. RQ1 - comprimento do perianto, RQ4 - comprimento das pétalas, FQ1- número de brácteas do fruto, FQ7- espessura da exoderme do fruto, FQ9- Massa da polpa, FQ6- Massa de 100 sementes, FQ5- sólidos solúveis, CQ2- diâmetro do cladódio, CQ5- Distância entre aréolas, FQ3- diâmetro basal das brácteas, RQ9 - comprimento das anteras, CQ7- diâmetro da aréola, CQ12 - altura da costilha, CQ1 - Comprimento do cladódio, RQ10 - diâmetro da antera, CQ8 - número de espinhos, CQ10 - Comprimento do espinho, RQ8- comprimento dos filetes, RQ2 - comprimento do estilete, RQ11 – comprimento da base do estigma à antera.....	39
Figura 7. Boxplot's dos descritores quantitativos utilizados para caracterizar 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. RQ1 - comprimento do perianto, RQ4 -comprimento das pétalas, FQ1- número de brácteas do fruto, FQ7- espessura da exoderme do fruto, FQ9- Massa da polpa, FQ6- Massa de 100 sementes, FQ5- sólidos solúveis, CQ2- diâmetro do cladódio, CQ5- Distância entre aréolas, FQ3- diâmetro basal das brácteas, RQ9 - comprimento das anteras, CQ7- diâmetro da aréola, CQ12 - altura da costilha, CQ1 - Comprimento do cladódio, RQ10 - diâmetro da antera, CQ8 - número de espinhos, CQ10 - Comprimento do espinho, RQ8- comprimento dos filetes, RQ2 - comprimento do estilete, RQ11 – comprimento da base do estigma à antera.....	40
Figura 8. Dendograma do agrupamento UPGMA baseado na dissimilaridade multicategórica de caracteres morfoagronômicos da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ. Cofenética UPGMA=0,86	52
Figura 9. Mapa de calor demostrando os desvios de cada variável em cada genótipo em relação à média de todos os acessos. A barra indicativa de cores refere-se aos desvios padrão. Cerosidade do cladódio (CD2), cor do cladódio (CD4), borda da costela (CD7), comprimento do cladódio (CQ1), diâmetro ¼ do cladódio (CQ3), distância entre aréolas (CQ5), diâmetro da aréola (CQ7), número de espinhos (CQ8), comprimento do espinho (CQ10), altura da costilha (CQ12), intensidade de vermelho das brácteas (RD1), cor da pétala (RD2), cor principal da sépala (RD3), comprimento do perianto (RQ1), comprimento do estilete (RQ2), comprimento das pétalas (RQ4), comprimento dos filetes (RQ8), comprimento da antera (RQ9), diâmetro da antera (RQ10), distância da base do estigma à antera distal (RQ11), cor da polpa (FD3), cor do exocarpo (FD5),	

cavidade apical (FD6), número de brácteas (FQ1), diâmetro da base das brácteas (FQ3), sólidos solúveis (FQ5), massa de 100 sementes (FQ6), espessura da exoderme (FQ7) e massa da polpa (FQ9).	53
Figura 10. Distribuição do ajuste dos resíduos em relação à regressão.	65
Figura 11. Gráfico e equação da regressão quadrática de DNA bruto de pitaieiras, obtido pelo método de extração CTAB com tratamento prévio com etanol em 4 concentrações.	66
Figura 12. Método de mensuração da heterostilia: Distância entre a antera distal e os lóbulos do estigma.....	75

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Atributos, polinizadores e síndromes florais..... 14

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A Pitaieira	3
2.1.1 Importância econômica.....	3
2.1.2 Taxonomia.....	3
2.1.3 Origem e dispersão	4
2.1.4 Morfologia.....	4
2.1.5 Fisiologia	5
2.1.6 Propagação	6
2.1.7 Tratos culturais	6
2.1.8 Melhoramento.....	7
2.2 Recursos Genéticos Vegetais	8
2.2.1 Germoplasma Vegetal	8
2.2.2 Manejo de Coleção de Germoplasma.....	9
2.2.3 Estudo da Diversidade Genética.....	10
2.2.4 Análise de Componentes Principais	10
2.2.5 Dissimilaridade de Gower	11
2.2.6 Análise de Agrupamentos.....	11
2.3 Biologia Floral e Requerimentos de Polinização	12
2.3.1 Morfologia floral	12
2.3.2 Atributos florais e polinizadores	13
2.3.3 Sistema reprodutivos	15
2.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
3 CAPÍTULO I CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE PITAYA (<i>Selenicereus</i> spp.) COM BASE EM DESCRIPTORES MORFOAGRONÔMICOS	25
3.1 RESUMO	26
3.2 ABSTRACT	27
3.3 INTRODUÇÃO.....	28
3.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.6 CONCLUSÕES	42
3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
4 CAPÍTULO II DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE PITAYA BASEADA EM CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONOMICAS	46
4.1 RESUMO	47
4.2 ABSTRACT	48
4.3 INTRODUÇÃO.....	49
4.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.6 CONCLUSÕES	56
4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
5 CAPÍTULO III ETANOL 70% OTIMIZA A EXTRAÇÃO DE DNA DE PITAIEIRAS (<i>Selenicereus</i> spp.)	59
5.1 RESUMO	60
5.2 ABSTRACT	61

5.3 INTRODUÇÃO	62
5.4 MATERIAIS E MÉTODOS	63
5.4.1 Material vegetal	63
5.4.2 Local do experimento	63
5.4.3 Experimento	63
5.4.4 Protocolo	63
5.4.5 Avaliações	64
5.4.6 Análises estatísticas	64
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.6 CONCLUSÕES	68
5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
6 CAPÍTULO IV HETEROSTILIA E REQUERIMENTOS DE POLINIZAÇÃO EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PITAYAS	71
6.1 RESUMO	72
6.2 ABSTRACT	73
6.3 INTRODUÇÃO	74
6.4 MATERIAIS E MÉTODOS	75
6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
6.6 CONCLUSÕES	80
6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ANEXOS	83
Anexo A. Documento de aprovação da tese	83

1 INTRODUÇÃO

O fruto da pitaieira, conhecido como pitaia, ganhou grande notoriedade nos últimos anos por possuir formato exuberante, epicarpo colorido, escamas salientes, gosto levemente adocicado (dependendo da espécie), propriedades nutracêuticas, fácil digestibilidade e facilidade de propagação e cultivo. Essa cactácea epífita é encontrada naturalmente em área de sub-bosque na copa de árvores e sobre rochedos em toda a América Latina e sendo cultivada também na Ásia, Oriente Médio e Europa. A pitaieira possui caule trepador suculento que emite raízes adventícias para sua fixação e absorção de água e nutrientes. Sua exigência nutricional é baixa (para sua sobrevivência) e apresenta o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), com plasticidade de poder abrir os estômatos no período noturno para absorver dióxido de carbono e armazená-lo na forma de ácido málico, o qual sofre reações durante o dia e é transformado em glicose (Mizrahi, 2014; Cruvinel *et al.*, 2017).

Os preços praticados na comercialização das mudas, plantas e frutas da pitaieira são muito atrativos variando de 4,00 a 15,00 reais (por muda, planta ou quilo da fruta) pagos ao produtor. Pequenas áreas de cultivo fornecem alta rentabilidade, fazendo com que essa fruteira seja uma alternativa para compor renda especialmente de pequenos produtores familiares, ajudando na retenção do homem no campo, criação de vagas de emprego e diminuição da migração para áreas urbanas, com consequências sociais importantes.

A ocorrência natural da pitaieira em local sombreado faz com que apresente potencial para composição de sistemas agroflorestais (SAF) utilizando como seu tutor e suporte o componente arbóreo, aumentando a diversidade existente e preconizado nos sistemas agroecológicos de produção agrícola. A baixa exigência nutricional, hídrica e luminosa da pitaieira favorece o sistema sem aumentar demasiadamente a competição interespecífica contribuindo com a sinergia do sistema. É importante salientar que nem todas as espécies e seleções de pitaya possuem alta produtividade em ambientes sombreados e que em sistemas intensivos de produção, as plantas de pitaya são muito exigentes em nutrientes, água e luz no sentido de se obter altas produtividades de frutos.

A baixa exigência hídrica característica de plantas com o metabolismo CAM, que a pitaieira manifesta, possibilita alta eficiência no uso da água (EUA). No contexto climático/hídrico atual, o uso de cactáceas como produtoras de alimento pode ajudar a minimizar o uso da água ou ser uma alternativa para regiões com escassez deste recurso natural. A mesma ideia de uso de cactáceas como produtoras de alimentos pode diminuir o uso de demais insumos agrícolas favorecendo inclusive a agricultura com sistema de condução agroecológico por possibilitar menor entrada de insumos na matriz produtiva (Ortiz-Hernández *et al.*, 1999).

Essas potencialidades no cultivo da pitaieira geraram, nos últimos anos, várias pesquisas sobre sua propagação vegetativa via estquia e micropropagação in vitro, uso de fitorreguladores como auxinas, giberelinas e citocininas, melhoramento genético, adubação, efeito da radiação solar sobre o seu crescimento, fenologia, descrição do crescimento, propriedades nutricionais, caracterização química, constituição e potencial uso na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica de seus compostos (Mizrahi, 2014).

A diversidade genética das variedades produzidas no Brasil é pouco conhecida. Essa cactácea possui espécies auto incompatíveis o que dificulta o vingamento das flores que possuem antese noturna, com a necessidade de polinizadores específicos. Poucos estudos foram publicados sobre os requerimentos de polinização da pitaieira. Essas lacunas na pesquisa dessa frutífera são abordadas nesta tese por meio do estudo dos descritores morfoagronômicos, da diversidade genética baseada nesses tipos de descritores e no sistema reprodutivo de diferentes

espécies e acessos da coleção de germoplasma de pitaieiras da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Esta tese está dividida em quatro capítulos sobre essas demandas importantes para a pesquisa no sentido de gerar informações úteis para o melhoramento genético dessa cactácea. O primeiro capítulo aborda o estudo dos descritores morfoagronômicos da pitaieira e a caracterização da coleção de germoplasma da UFRRJ com o objetivo de explorar quais descritores são importantes para o trabalho de caracterização dessa coleção. O segundo capítulo discorre sobre a diversidade genética da referida coleção acessada pelos descritores morfoagronômicos estudados no capítulo 1. O terceiro capítulo trata de uma adaptação no processo de extração de DNA a partir de cladódios de pitaieiras que algumas vezes são dificultados pelo excesso de mucilagem, polissacarídeos e outros compostos que podem comprometer a qualidade das amostras de DNA. O quarto capítulo versa sobre o estudo da heterostilia e requerimentos de polinização de 4 espécies de pitaya da coleção de germoplasma.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Pitaieira

2.1.1 Importância econômica

O fruto da pitaieira é a parte da planta com maior apelo econômico, porém os dados mercadológicos das pitaias ainda são pouco padronizados e divulgados. O Vietnã figura como o país com maior produção com cerca de 700 mil t/ano, seguido pela China com cerca de 200 mil t/ano, Indonésia com cerca de 40 mil t/ano, Taiwan com 30 mil t/ano, Malásia com 9 mil t/ano, Nicarágua com 7 mil toneladas e México com 3 mil t/ano. O preço médio praticado em 2018 foi de 3,00 dólares/kg (Fróes Júnior *et al.*, 2019).

O Brasil em 2017, conforme relatado pelo censo agropecuário, produziu aproximadamente 1500 t (IBGE, 2017). Segundo o mesmo censo, o estado de São Paulo foi o maior produtor nacional com 516 t, seguido pelo estado de Santa Catarina com 328 t, Minas Gerais com 185 t, Pará com 156 t, Rio de Janeiro com 100 t, Rio Grande do Sul com 89 t (IBGE, 2020). A produção de pitaias concentra-se na agricultura familiar em propriedades com menos de 5 hectares localizadas próximas a grandes centros consumidores ou com facilidade de distribuição (IBGE, 2017).

A casca do fruto da pitaieira é fonte de proteínas pigmentares usadas na indústria de alimentos. As betalaínas, como a betacianina (pigmentação vermelha) e betaxantinas, (pigmentação amarela) presentes na pitaia possuem alta solubilidade, estabilidade e são inodoras, sendo, portanto, uma alternativa aos corantes artificiais (Tze *et al.*, 2012). Os compostos fenólicos e flavonoides da pitaieira possuem ação antioxidante, inclusive com potencial de inibição de crescimento de células cancerígenas e proteção ao DNA (Wu *et al.*, 2006; Tsai *et al.*, 2019).

Além do fruto, os cladódios e flores podem ser utilizados na alimentação humana e animal (Kinupp; Lorenzi, 2014).

2.1.2 Taxonomia

As pitaieiras cultivadas pertencem a ordem Caryophyllales, família Cactaceae, subfamília Cactoideae, tribo Hylocereeae, gênero *Selenicereus*. Essa classificação é recente e baseada em análises de filogenia molecular de 4 regiões do plastídio (Korotkova ; Borsch; Arias, 2017). Anteriormente Bauer (2003) havia incluído 19 espécies do gênero *Selenicereus* no gênero *Hylocereus* o que foi revertido e se mostrado equivocado. Assim a nova classificação inclui o antigo gênero *Hylocereus* e mais 4 espécies do gênero *Weberocereus* no gênero *Selenicereus*. Assim as espécies mais cultivadas atualmente são: *S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. megalanthus*, *S. costaricensis* e *S. setaceus*.

Além dos dois estudos citados acima outros 3 grandes estudos foram carreados nos últimos 100 anos com o objetivo de classificar as pitaieiras botanicamente: Britton e Rose (1963) baseados em características morfológicas consideraram o grupo Hylocereeae com 9 gêneros como uma subtribo da tribo Cereeae. Buxbaum (1958) classificou Hylocereeae como tribo e incluiu mais 3 gêneros e excluiu um. Barthlott (1993) excluiu mais 5 gêneros da tribo Hylocereeae. Atualmente, a tribo Hylocereeae contém 8 gêneros (*Acanthocereus*, *Aporacactus*, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Kimmachia*, *Pseudorhipsalis*, *Selenicereus* e *Weberocereus*).

Controvérsias entre gêneros e espécies também são comuns (Mizrahi, 2014), por exemplo a espécie *S. setaceus* foi classificada no gênero *Selenicereus* por Britton e Rose (1963),

depois realocada no gênero *Hylocereus* (Bauer, 2003) e hoje agrupada novamente no gênero *Selenicereus*, o mesmo acontece com a espécie *S. megalanthus*. Essas relações não são tão definidas por causa da origem de muitas espécies dessa tribo terem se dado por hibridações e poliploidias naturais (Tel-Zur, 2004).

2.1.3 Origem e dispersão

As pitaieiras são encontradas em regiões costeiras, montanhosas e florestas tropicais desde o sul dos Estados Unidos, América Central e do Sul de onde são originárias. Essas frutíferas têm sido utilizadas como fonte de alimento desde épocas pré-colombianas, porém somente na década de 1980 que se iniciaram os cultivos com fins comerciais (Luders; Mcmahon; Dpifm, 2006).

No início da década de 1900 plantas de *Selenicereus undatus* foram levadas ao Vietnam para servir ao rei, o que trouxe grande notoriedade ao fruto da pitaieira naquela região e posteriormente espalhou-se por toda a Ásia, como sendo um fruto nobre e promotor de saúde. Atualmente o sudeste asiático figura entre os maiores produtores mundiais de frutos dessa cactácea. Em Israel, na década de 1990, as pitaieiras foram introduzidas por pesquisadores da Universidade *Ben-Gurion de Negev*, para serem alternativa de cultivo para regiões áridas (Mizrahi, 2014).

No Brasil, no início da década de 1990, iniciou-se os primeiros plantios de pitaieiras no interior do estado de São Paulo. Hoje há produção em todas as regiões do Brasil graças ao intercâmbio entre colecionadores e comunidades de etnia japonesa. As primeiras pesquisas datam do final da década de 1990 e início de 2000 e figuraram sobre a fenologia reprodutiva, propagação via estauquia (Marques *et al.*, 2012) e melhoramento e seleção de cultivares (Junqueira *et al.*, 2010).

2.1.4 Morfologia

As pitaieiras são epífitas de crescimento indeterminado, possuem raízes basais fasciculadas, longas e superficiais, emitem ainda raízes ao longo do caule para fixação em árvores ou rochas no habitat natural sub bosque. Em cultivos comerciais necessitam de tutores (Donadio, 2009; Mizrahi, 2014).

O caule suculento dessa cactácea, o cladódio, possui presença de areolas de onde surgem os espinhos, novas brotações, botões florais. No momento da emissão de novas brotações apresentam exsudação de compostos açucarados. Possui forma triangular, com costilhas planas, convexas ou côncavas com bordas firmes ou quebradiças conforme a variedade ou clone. Em toda a extensão do cladódio há presença cera, uma adaptação para evitar perda de água.

A pitaieira apresenta flor completa com 20 a 35 cm de comprimento, em forma de trombeta, com antese noturna, perfumadas, contêm numerosos estames (mais de 800) arranjados em 2 fileiras, com anteras que se abrem em fendas longitudinais, flor unicarpelar formada por pistilo com 14 a 28 estiletes de cor creme, com estames esverdeados, as sépalas são livres verdes claras, rajadas ou coloridas nas bordas. A corola é actinomorfa com pétalas livres geralmente são de cor branca ou creme (Donadio, 2009; Almeida; Cota-Sánchez; Paoli, 2013).

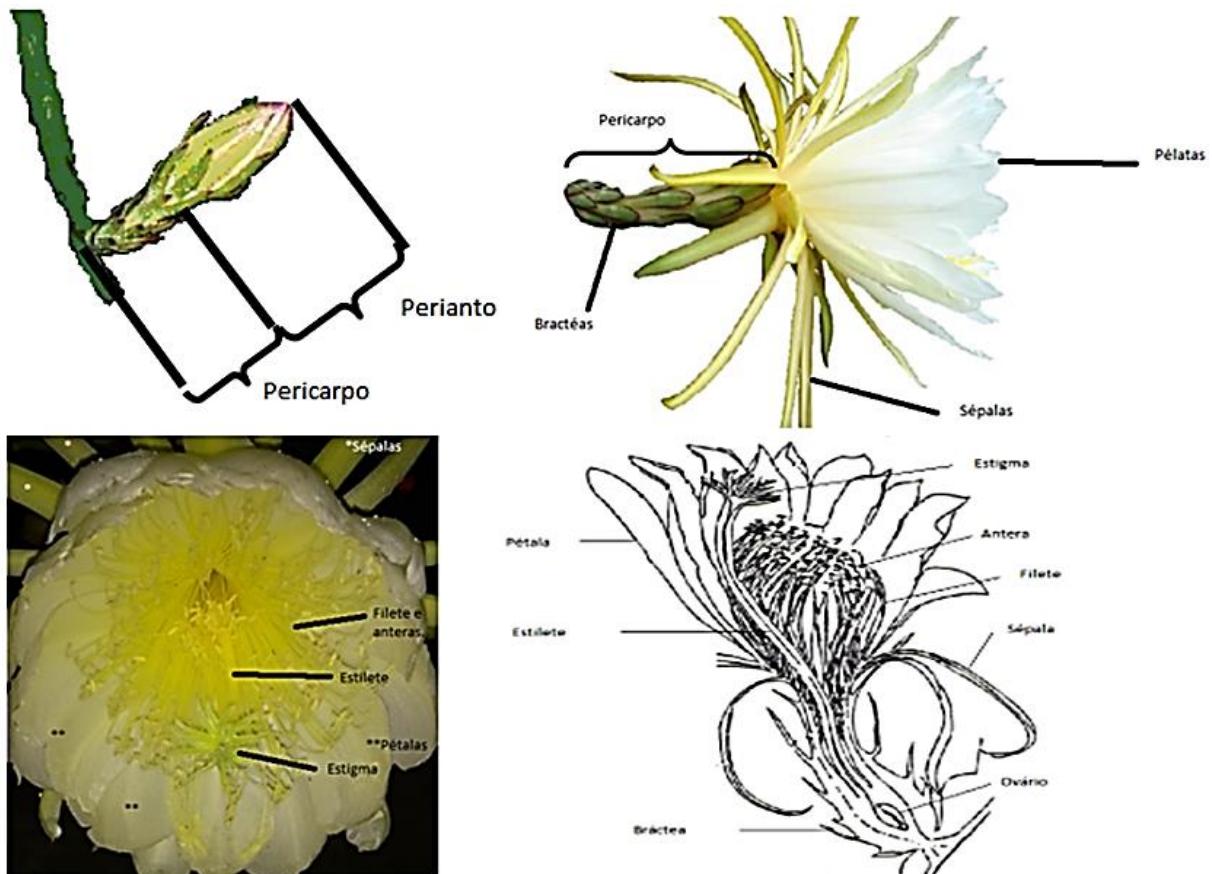


Figura 1. Morfologia floral da pitaieira *Selenicereus undatus*.

Fonte: Adaptado de UPOV (2011).

Seu fruto é uma baga globosa, cujo exocarpo pode apresentar várias brácteas coloridas ou na mesma cor do exocarpo. O exocarpo é verde quando o fruto está imaturo e pode apresentar cor vermelha, amarela, alaranjada, verde, arroxeadas e com tonalidades diversas quando maduro. A polpa pode apresentar cor branca, vermelha ou translúcida com variações de tons e com centenas de sementes pretas.

2.1.5 Fisiologia

As pitaieiras apresentam metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) facultativo, podendo abrir os estómatos no período diurno (CAM cíclico) se cultivada em condições sem estresse. As pitaieiras possuem 11 a 20 estómatos por mm^2 (Ortiz-Hernández, 2000). Algumas espécies ou clones possuem baixa tolerância a altas radiações luminosas e a morfologia dos cladódios pode ser afetada por este estresse (Oliveira *et al.*, 2020).

O maior crescimento vegetativo se dá no período chuvoso e o período reprodutivo em dias longos, que no hemisfério sul, vai de novembro a abril para a maioria das espécies e híbridos. O crescimento dos ramos e a frutificação são assíncronos, com vários estágios vegetativos e fluxos florais (Cavalcante *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2015). As pitaieiras são polinizadas por morcegos nectarívoros, grandes mariposas durante a noite e por abelhas durante as primeiras horas da manhã (Muniz *et al.*, 2019).

O tempo de abertura floral é dependente das condições ambientais e acontece em uma única noite podendo se estender por algumas horas após o amanhecer. O estigma se mantém receptivo durante toda a antese e o pólen pode ser armazenado por alguns meses em ambiente

refrigerado. A autopolinização pode ocorrer em algumas espécies e acontece quando os lóbulos do estigma se dobram e tocam as anteras (Ortiz-Hernández, 2000). Autoesterilidade, hercogamia e heterostilia são descritas em alguns clones (Ortiz-Hernández; Carrillo-Salazar, 2012).

Os frutos são não-climatéricos (ZEE et al., 2004) e ficam aptos a colheita 32 a 98 dias após a antese (Ortiz-Hernández; Carrillo-Salazar, 2012; Lima; Faleiro; Junqueira, 2013b) dependendo da espécie, ambiente e genótipo. A polpa é formada a partir do ovário e o exocarpo é formado a partir do desenvolvimento do pericarpo. A massa do fruto é influenciada pela eficiência da polinização e pela fonte de pólen (Silva; Martins; Cavallari, 2011). Os frutos são sujeitos a danos por *chilling* e recomenda-se o armazenamento em ambiente refrigerado a 8°C (Castro et al., 2017).

2.1.6 Propagação

As sementes das pitaieiras são fotoblásticas positivas, podem ser armazenadas em câmara fria por 28 dias, são muito vigorosas, germinam em temperaturas entre 25 e 30°C e papel filtro e fibra de coco são os substratos que proporcionam maior taxa de germinação. A propagação seminífera deve ser utilizada para fins de obtenção de variabilidade (programas de melhoramento genético) pois pitaieiras oriundas de sementes podem levar mais de 3 anos para início da produção de frutos (Andrade; Oliveira; Martins, 2005; Andrade et al., 2008; Ruths et al., 2019).

O enraizamento de cladódios (estaquia) é o principal método de propagação para fins comerciais, pois proporciona uniformidade ao plantio necessários para os tratos culturais e a qualidade dos frutos. Deve ser dada preferência a estacas maiores de 15 cm, como substrato recomenda-se a utilização de mistura de esterco com areia (1/1 em volume). As estacas enraízam facilmente e o uso de auxinas exógenas (ácido indolbutírico) acelera o processo. A citocinina benzilaminapurina (BAP) pode ser utilizada para aumentar a taxa de crescimento e número de brotações (Bastos et al., 2006; Le Bellec; Vaillant; Imbert, 2006; Santos et al., 2010; Cruvinel et al., 2017).

A enxertia possui uso potencial em pitaieiras da espécie *Selenicereus megalanthus* com suscetibilidade a nematoides enxertadas sobre *S. undatus* ou *S. setaceus*. Recomenda-se a técnica de enxertia por inglês simples, fenda cheia, enxertia por furo e a microenxertia (Silva, 2014; Cavichioli; Contiero, 2018; Moreira, 2018).

A micropropagação pode ser feita com o meio MS (Murashige; Skoog, 1962), suplementando com citocininas thidiazuron (TDZ), cinetina ou BAP e auxinas ácido naftalacético (ANA) ou AIB. Usa-se cladódios novos como fonte de explantes e após a incubação devem ser submetidos a fotoperíodo de 16 horas, por até 11 subcultivos com proliferação de até 6 brotações novas por explante. Após a proliferação de novos brotos, esses devem ser enraizados em meio MS suplementado com auxina e aclimatizados em substrato orgânico por 90 dias sob sombreamento de 50% (Mohamed-Yasseen, 2002; Menezes et al., 2012; Hua et al., 2015).

2.1.7 Tratos culturais

Os locais indicados para o plantio comercial de pitaieiras devem ter temperatura média anual entre 18 a 30°C, sendo que temperaturas acima de 38°C e inferiores a 4°C são limitantes. A pitaieira exige aporte hídrico de 150 mm por ano em casa de vegetação e 650 a 1200 mm por ano em plantios abertos. O solo deve ser rico em matéria orgânica e bem drenado pois a pitaieira não suporta encharcamento (Ortiz-Hernández; Carrillo-Salazar, 2012; Mizrahi, 2014).

No preparo da cova de plantio recomenda-se a adição de 20 L de esterco bovino, 200 g por cova de fertilizante mineral NPK (N:15%, P₂O₅:15%, K₂O:15) ou outro composto orgânico equivalente, adição de 500 g de calcário dolomítico (fornecimento de Ca). Em cobertura recomenda-se ser aplicados anualmente até 600 Kg/ha de N e 200 Kg/ha K₂O parcelados em aplicações mensais diretamente no solo ou por fertirrigação (Mizrahi, 2014; Fernandes *et al.*, 2018; Luo *et al.*, 2019; EMATER, 2020).

A pitaieira necessita ser tutorada e nessa operação utilizam-se tutores de 1,50 m a 1,80 m para facilitar os tratos culturais, esses tutores podem ser de madeira, cimento, tipo espaldeira ou suportes vivos como a *Gliricidia sepium* (Thomson, 2002; Le Bellec; Vaillant; Imbert, 2006). Os cladódios com ou sem raízes devem ser fixados nos tutores enterrando-se 2 cm a 5 cm. Pode-se utilizar cobertura (*mulching*) plástica ou viva para prevenir danos às raízes superficiais das pitaieiras (Luo *et al.*, 2019).

O crescimento dos cladódios é vigoroso, podendo chegar a mais de 2 cm por dia (Cruvinel *et al.*, 2017) e a condução desses novos cladódios se faz necessária. Recomenda-se a poda de formação e condução de 1 a 2 cladódios até a altura de 1,50m ou 1,80m (dependendo do suporte empregado). Quando os cladódios atingirem o ápice do suporte faz-se a poda cessar a dominância apical e mantem-se os cladódios que surgirem acima do suporte, que serão os ramos produtivos (Bellec; Vaillant; Imbert, 2006).

A colheita deve ser feita quando a casca apresentar 50% da cor característica do fruto maduro conforme a espécie ou clone. Corta-se parte do cladódio que fixa o fruto para aumentar a longevidade pós-colheita da pitaia, que deve ser mantida em refrigeração (Freitas; Mitcham, 2013; Castro *et al.*, 2017b).

2.1.8 Melhoramento

O melhoramento da pitaieira é recente e focaliza-se na obtenção de frutos com alta qualidade (sabor e cor da casca e polpa), plantas autocompatíveis, alta produtividade e período produtivo longo. Na literatura disponível destacam-se três grupos de pesquisa em âmbito mundial: o norte/centro americano; o grupo de pesquisa asiático China/Taiwan e o grupo de estudos para regiões áridas em Israel. O primeiro grupo tem o protagonismo dos pesquisadores Paul Thomson (1916-2008), Ramiro Lobo e Edgar Valdivia e hoje seus alunos e colaboradores (Universidade da Califórnia) já lançaram mais de 70 clones, que são produzidos na América Central (Thomson, 2002; Valdivia, 2010).

O grupo asiático liderados por Taiwan, Vietnam e China concentram suas pesquisas no lançamento de variedades com alta produtividade (40 ton/ha), clones com autocompatibilidade polínica e adaptação às condições edafoclimáticas daquela região (Luo *et al.*, 2019).

O grupo israelense, liderado pelos pesquisadores Yoseph Mizrahi, Avinom Nerd e Noemi Tel-Zur (da Universidade de Ben Gurion de Negev), relata importantes avanços nas técnicas de hibridização, em estudos citogenéticos e moleculares, inclusive com hibridação entre gêneros *Selenicereus* e *Epiphilium* com lançamento de variedades com elevada qualidade de frutos e resistência à estresses ambientais (Tel-Zur *et al.*, 2020).

No Brasil destacam-se os esforços da Embrapa Cerrados, do grupo de estudos da Faculdade da Unesp de Jaboticabal, Universidade Federal de Lavras e esforços de empresas de pesquisa e extensão rural (EMATER-SC, APTA-SP), produtores rurais e colecionadores. Junqueira *et al.* (2010) e Lima, Faleiro e Junqueira (2013) relataram estudos da Embrapa Cerrados na busca e lançamento de cultivares nacionais oriundas de seleção clonal e hibridação das espécies de importância comercial focadas na produtividade, adaptabilidade e qualidade dos frutos. Silva *et al.* (2017) em Jaboticabal-SP, relata o estudo de diversidade entre os híbridos das espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. setaceus* e suas progêneres.

2.2 Recursos Genéticos Vegetais

A Convenção Sobre Diversidade Biológica (CDB) definiu o termo ‘recurso genético’ como sendo o material genético de valor real ou potencial, ou seja, faz referência a amostra física, de origem biológica herdável, que tenha valor notório ou com potencialidade de ser valorado e recursos genéticos vegetais quando se trata desses produtos oriundos de plantas (Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2005). A legislação brasileira amplia esse conceito com a inclusão do termo ‘património genético’ definido como sendo toda a informação de origem biológica e as substâncias oriundas do seu metabolismo (Brasil, 2015) ou seja, agrupa não só o objeto tangível e agora inclui o conhecimento associado à biodiversidade (Oliveira, 2018).

A variabilidade genética vegetal, pressuposto da biodiversidade, é essencial para os trabalhos de melhoramento de plantas e tem sua origem natural na recombinação de genes, que ocorre nas plantas de propagação sexuada, na modificação do número de cromossomos (ploidia) e em mutações. Os melhoristas de plantas manipulam essas fontes de variação genética para acelerar o processo evolutivo e atingir os seus objetivos (Acquaah, 2012).

No Brasil, a Embrapa Cerrados é pioneira na manutenção da espécie *Selenicereus setaceus* no seu programa de melhoramento genético (Junqueira *et al.*, 2002). Essa espécie é encontrada em vários países sul-americanos em condição de sub-bosque (Korotkova; Borsch; Arias, 2017).

2.2.1 Germoplasma Vegetal

O material genético diversificado usado pelos melhoristas de plantas é chamado de germoplasma. O germoplasma pode ter origem proveniente de cultivares comerciais, produtos de programas de melhoramento, raças locais (incluindo variedades caboclas), exóticas ou de material não domesticado da mesma espécie ou de gêneros correlatos (Acquaah, 2012).

Harlan e De Wet (1971) introduziram o conceito de complexo gênico, que é a categorização das espécies cultivadas de acordo com a viabilidade e facilidade de fluxo gênico interespecífica. O completo gênico primário (GP1) compreende espécies biológicas com facilidade de cruzamento, cujo híbridos são férteis, com bom pareamento cromossômico e segregação próxima a mendeliana. O complexo gênico secundário (GP2) inclui as espécies que facilmente cruzam com a espécie alvo, cuja transferência gênica é possível, porém com algumas barreiras, entre elas o pareamento cromossômico incompleto. E no complexo gênico terciário (GP3) os híbridos são completamente estéreis, a transferência gênica possui barreiras fortes que necessitam de biotecnologia (como por exemplo, indução de haploides ou poliploidia) para serem transpostas (Nass, 2007).

A variabilidade necessita ser conservada para evitar a erosão genética, ou seja, o declínio do estoque de diversidade existente por causa de fatores naturais ou por ação antrópica. Duas abordagens podem ser empregadas para a conservação de germoplasma: a primeira é a conservação *in situ* que corresponde à preservação do recurso genético no habitat natural e a conservação *ex situ* que se refere àquela preservação que ocorre fora do habitat natural em condições planejadas. Os conjuntos de genótipos que representam a variabilidade das espécies conservadas denominam-se coleções de germoplasma (Acquaah, 2012).

As coleções de germoplasma classificam-se em 5 tipos: coleção de base, coleção *backup*, ativa, nuclear e de trabalho. A coleção de base possui a finalidade de salvaguardar a variabilidade por longos períodos, geralmente em condições de umidade e temperatura muito baixas. A coleção *backup* compreende uma cópia da coleção de base para eventual substituição em caso de perda de material. A coleção nuclear objetiva reunir no menor número de amostras a máxima variabilidade possível. A coleção ativa contém material da coleção de base que é

utilizado para documentação, caracterização e intercâmbio. Finalmente, a coleção de trabalho é aquela que efetivamente o melhorista encontra a fonte de genes para a seleção e desenvolvimento de novas cultivares (Nass, 2007; Acquaah, 2012).

Em relação às pitaieiras, Estados Unidos, México, Nicarágua, Colômbia, Israel, Vietnã, Taiwan, China e Brasil mantém coleções ativas (BAG) de germoplasma dessa cactácea com diversos relatos de coleções de trabalho (Thomson, 2002; Junqueira *et al.*, 2010; Mizrahi, 2014; Silva *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2020).

As pitaieiras das espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. setaceus*, *S. costaricensis* são diploides e possuem facilidade de cruzamento entre si (Mizrahi, 2014). A espécie *S. megalanthus* é tetraploide e possui facilidade de cruzamento com as demais espécies do gênero e formam o complexo gênico primário dessa frutífera (Tel-Zur, 2004). A tribo Hylocereeae, que inclui o gênero *Selenicereus*, possui 8 gêneros, sendo que 7 deles são de cactáceas epífitas e potencialmente formam o complexo gênico secundário e terciário, com relato de sucesso na hibridação entre com o gênero *Epiphyllum* (Mizrahi, 2014). Garcia *et al.* (2009) produziram haploides de pólen e ovários de pitaieiras, assim como a poliploidia artificial (Tel-Zur *et al.*, 2020), podem ser utilizados na hibridação e superação de dificuldades de pareamentos cromossómicos nessa tribo.

2.2.2 Manejo de Coleção de Germoplasma

As atividades que norteiam uma coleção de germoplasma são: introdução, regeneração, multiplicação, caracterização, avaliação, documentação, monitoramento da viabilidade e integridade genética dos acessos e intercâmbio. A introdução é a etapa de entrada de novas amostras na coleção de germoplasma, podem ser oriundas de coletas ou de intercâmbio de outras coleções (Nass, 2007).

A regeneração e multiplicação são etapas que se referem à recuperação da viabilidade, rejuvenescimento ou aumento da quantidade de material vegetal (e material propagativo) na coleção de germoplasma e deve ser sempre realizada em consonância com o monitoramento regular da qualidade e quantidade de material (Nass, 2007).

A caracterização é o levantamento e registro sistemático de atributos altamente herdáveis, geralmente regidos por expressão monogénica ou poucos genes. Para facilitar a operacionalidade e padronização desse processo usam-se descritores, que podem ser morfológicos, físico-químicos, agronômicos e moleculares. Já a avaliação, refere-se ao levantamento do desempenho de características mais complexas geralmente resultado de expressão poligênica (como produtividade e qualidade nutricional) em um determinado ambiente (Acquaah, 2012).

O intercâmbio de recursos genéticos é a etapa mais regulada pelos organismos governamentais, envolvendo uma série de protocolos, quarentenas, restrições e normativas, rigor esse necessário para salvaguardar o patrimônio genético da biopirataria e de introdução de pragas, doenças ou plantas invasoras que poderão causar desequilíbrio na fauna e flora local. No Brasil o acesso, pesquisa e intercâmbio de recursos genéticos são regulamentados pela Lei 13.123 de 2015 e o Decreto 8772 de 2016 (Brasil, 2015; Oliveira, 2018).

O estabelecimento de germoplasmas de pitaieiras é recente com relatos de início em menos de 30 anos (Thomson, 2002). GRIMALDO-JUÁREZ *et al.* (2007) estudaram os parâmetros morfológicos de 21 acessos de pitaieiras no México que serviram de base para a padronização de descritores para *S. undatus* no ano de 2011 (UPOV, 2011) que por sua vez foi adotado no Brasil somente em 2019 como descritores para proteção de novas cultivares do gênero *Selenicereus* (Brasil, 2019).

Junqueira *et al.* (2010) estudaram a diversidade molecular de pitaieiras com diferentes produtividades via marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

Lima, Faleiro e Junqueira (2013) estudaram as características dos frutos para analisar a diversidade genética de pitaieiras do cerrado. Tao *et al.* (2014) selecionou alguns descritores morfológicos aleatoriamente e comparou com marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). Silva *et al.* (2017) utilizaram 6 descritores quantitativos dos cladódios no estudo da diversidade genética de híbridos de *Selenicereus* spp.

Visto a caracterização ser de extrema importância na manutenção de uma coleção de germoplasma, essa tese tem como um dos seus objetivos caracterizar e estudar a importância relativa de descritores morfoagronômicos analisados em conjunto para um maior conhecimento da diversidade de pitaieiras.

2.2.3 Estudo da Diversidade Genética

A caracterização e avaliação do germoplasma permite o levantamento da diversidade genética existente na coleção. As variações existentes entre os acessos na coleção fornecem um conjunto de informações (marcadores) que podem ser utilizados no estudo das relações entre os indivíduos ou populações e sua categorização gerando uma matriz de distâncias (similaridade ou dissimilaridade) que podem ser organizadas em mapas, dendogramas ou gráficos.

Os marcadores moleculares são baseados no polimorfismo do DNA. Como as sequências de pares de bases do DNA diferem de um indivíduo para o outro, com o uso dessa informação cada planta pode ser identificada unicamente pela caracterização de seus pares de bases. Essas sequências de DNA são reconhecidas e cortadas por determinadas enzimas ou identificadas por *primers* que possibilitam a amplificação do DNA pela reação da polimerase em cadeia (PCR) em fragmentos cujas dimensões e composição dos nucleotídeos variam e refletem as diferenças entre os alelos dos vários loci. Diferentes fragmentos de DNA movimentam-se de modo diferente quando submetidos a eletroforese e o resultado é um padrão de bandas que difere de um indivíduo para o outro (Millach, 1999; Weising *et al.*, 2005).

Os caracteres morfoagronômicos são também utilizados para analisar a divergência genética de coleções de germoplasma (Silva *et al.*, 2017). Os dados para tal caracterização são obtidos de forma simples e acessível e tornam-se um importante instrumento para tomadas de decisão no melhoramento de plantas. A caracterização morfoagronômica pode ser confrontada ou analisada em conjunto com a caracterização molecular possibilitando inferências sobre a expressão fenotípica e identificação de genes responsáveis por tal expressão (Li *et al.*, 2020).

O termo fenômica, ou fenotipagem de próxima geração (*next-generation phenotyping*), refere-se à ciência que estuda a relação genótipo/fenótipo com a utilização de modernas técnicas de determinação fenotípica massal, como processamento de imagens de alta definição e processamento automático de dados (Cobb *et al.*, 2013).

2.2.4 Análise de Componentes Principais

Para evitar trabalho desnecessário, diminuir os custos e tempo de caracterização torna-se necessário redução da quantidade de descritores que possam contribuir para a discriminação dos acessos sem perda de informação (Paiva *et al.*, 2010), evitando a aferição de caracteres que sejam redundantes com baixa variabilidade, estabilidade de expressão ou de difícil mensuração (Strapasson; Vencovsky; Batista, 2000).

A estatística multivariada é de utilização rotineira no melhoramento genético de plantas. A caracterização e avaliação de germoplasma resultam em uma quantidade grande de dados multicategóricos que necessitam ser analisados por esse ramo da estatística. A análise de componentes principais (ACP) consiste na mudança ortogonal via vetores de dados

possivelmente correlacionados em dados não correlacionados (autovalores) e cada componente principal é ordenado de acordo com as maiores variâncias entre os dados que estão contidos, sendo possível ranquear os conjuntos de parâmetros analisados e estabelecer a sua importância em relação a variação total (Lever; Krzywinski; Altman, 2017).

Jolliffe (1973) propôs o descarte de todas as variáveis cujo autovalores sejam menores que 0,7. Nesse método, as variáveis com maior contribuição (maiores autovetores) nos menores autovalores devem ser descartadas e realizada nova ACP com as variáveis restantes para verificar a nova distribuição da variância e autovalores e realiza-se esse procedimento até obter concentração significativa da variação nos primeiros componentes principais.

2.2.5 Dissimilaridade de Gower

Em ecologia, similaridades e dissimilaridades são coeficientes que possibilitam medir a diferença e associação entre dois indivíduos ou populações pela transformação dos valores de seus parâmetros em distâncias. O algoritmo de gower (Gower, 1971) permite combinar descritores multicategóricos e os processa de acordo com sua natureza (binária, qualitativa e quantitativa).

As variáveis que possuem natureza binária ou qualitativa o algoritmo considera o valor 1 se houver concordância entre o par analisado e 0 se há discordância. Se as variáveis forem quantitativas, calcula-se a distância entre os dois acessos e divide-se pela maior diferença encontrada na amostra, como essa taxa é um tipo de distância então subtrai-se o valor 1 para encontrar o valor da dissimilaridade de gower, segundo a expressão:

$$S_{ijk} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}}, \text{ onde:}$$

K = o número de variáveis ($k = 1, \dots, p$); **i** e **j** = acessos; **W_{ijk}** = valor dado à comparação **ijk**, atribuindo valor **1** para comparações válidas e valor **0** para comparações inválidas (quando o valor da variável está ausente em um ou ambos indivíduos); **S_{ijk}** = contribuição da variável **k** na similaridade entre os indivíduos **i** e **j**, com valores entre **0** e **1**. Para uma variável qualitativa, se o valor da variável **k** é o mesmo para ambos os indivíduos, **i** e **j**, então **S_{ijk} = 1**, caso contrário, é igual a 0; para uma variável quantitativa **S_{ijk} = 1 - |x_{ik} - x_{jk}| / R_k** onde **x_{ik}** e **x_{jk}** são os valores da variável **k** para os indivíduos **i** e **j**, respectivamente, e **R_k** é o intervalo, da variável **k** na amostra. A divisão por **R_k** elimina as diferenças entre escalas das variáveis, produzindo valor dentro do intervalo [0, 1] e valores iguais. Se a variável é qualitativa, **S_{ijk}** assume valor 1, quando há concordância positiva ou negativa para a característica **k** entre os indivíduos **i** e **j**; e em caso contrário quando a variável quantitativa tem-se:

$$S_{ij} = \frac{|Y_{ik} - Y_{jk}|}{R_k} \text{ onde,}$$

R_k = amplitude de variação da variável **k**, assumindo valores 0 e 1 ou inteiros entre estes. O valor de **W_{ijk}** é um peso usado para definir as contribuições dos **S_{ijk}**'s individuais. Nesse aspecto, quando o valor da variável **k** é ausente em um ou ambos os indivíduos, **W_{ijk} = 0**, em caso contrário, igual a 1.

2.2.6 Análise de Agrupamentos

Análise de agrupamento é uma técnica que objetiva reunir indivíduos de uma população (natural ou de uma coleção) em grupos de tal forma que haja homogeneidade intragrupo e heterogeneidade intergrupos (Cruz, 2012). São muitos os algoritmos utilizados para definir a proximidade entre os pares considerados nos agrupamentos entre eles destacam-se os métodos de otimização e hierárquicos.

O método de otimização de Tischer (Rao, 1970) forma grupos mutuamente exclusivos. Neste método primeiramente os indivíduos mais similares (identificados pela matriz de dissimilaridades) formam o grupo inicial e a partir daí verifica-se inclusão de novos indivíduos pelo critério da média das dissimilaridades dentro do grupo ser sempre menor que as dissimilaridades (ou similaridades) entre quaisquer outros grupos, admitindo-se um valor máximo arbitrário ou o valor máximo da medida de dissimilaridade dos indivíduos (Cruz; Regazzi; Carneiro, 2012).

Nos métodos hierárquicos, cada indivíduo é considerado um grupo e então é agrupado com o próximo indivíduo mais similar e assim sucessivamente até formar um grande grupo com todos os indivíduos. Essa abordagem permite formar gráficos de folhas ou dendogramas, que podem ter o seu ajuste verificado pela correlação entre a matriz de dissimilaridade e a matriz cofenética ou predita. O método da ligação média entre grupos (UPGMA - *Unweighted pair-group method using arithmetic averages*) considera as médias das medidas de dissimilaridades evitando os valores extremos que podem distorcer os resultados (Cruz, 2012).

2.3 Biologia Floral e Requerimentos de Polinização

2.3.1 Morfologia floral

As flores são as estruturas reprodutivas das fanerógamas, onde os gametas masculinos e femininos são produzidos e onde há a singamia que dá origem aos frutos e sementes. O estudo da biologia e morfologia floral é essencial para o entendimento dos mecanismos de polinização e reprodução dos vegetais superiores (Endress, 2001).

A flor completa (Figura 2) é formada pelos verticilos florais: cálice, corola, androceu e gineceu. O cálice formado pelas sépalas e a corola formada pelas pétalas são órgãos estéreis e em conjunto recebem o nome de perianto. O androceu e o gineceu são os órgãos reprodutivos. O androceu é o órgão masculino produtor de pólen e é constituído de estames formados por filetes e anteras (geralmente 2 tecas). O gineceu é o órgão feminino, onde são formados os óvulos, suas partes constituintes são ovário, estilete e estigma (Vieira; Fonseca, 2014).

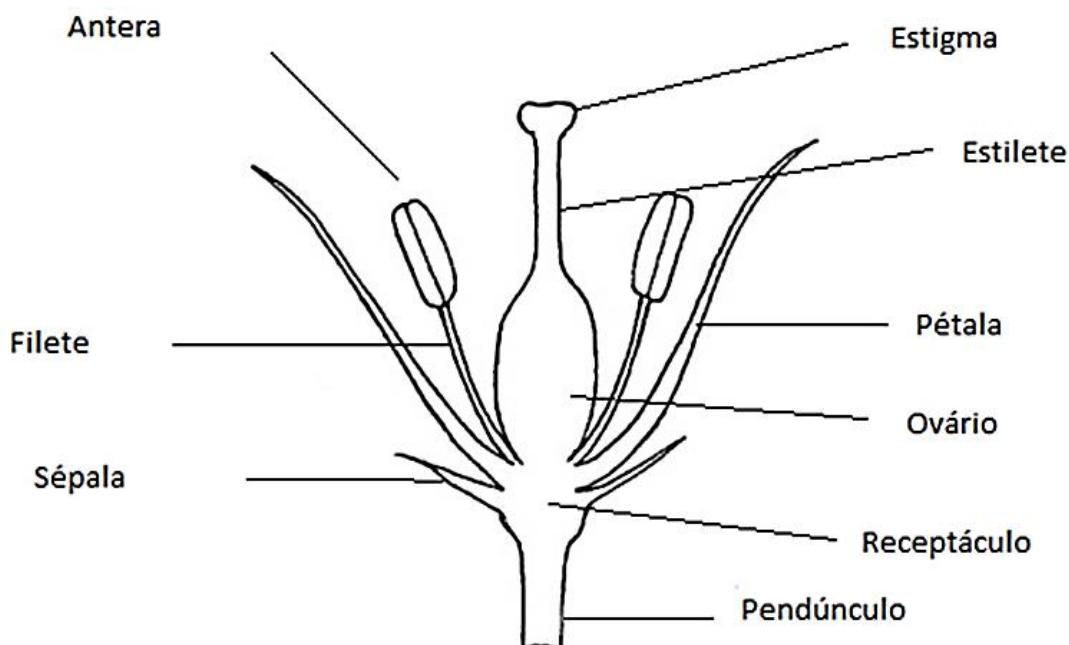


Figura 2. Flor completa: morfologia externa.

Fonte: Adaptado de Vieira e Fonseca (2014).

O perianto pode ter suas peças livres (dialissépalo ou dialipétalo) ou unidas (gamossépalo ou gamopétalo). Quando unidos geralmente a flor aparenta forma tubular. A corola é classificada como actinomorfa quando as pétalas apresentam simetria radial e zigomorfa quando apresenta simetria bilateral. Algumas plantas (ex.: Passiflora) pode apresentar uma estrutura chamada corona, localizada entre a corola e o androceu (Vieira; Fonseca, 2014).

O androceu é formado pelo filete e antera que geralmente se dispõe em formas de 2 tecas e abrem-se por fendas longitudinais, poros apicais ou valvas. O gineceu pode ser unicarpelar quando formado por único pistilo contendo o ovário, estilete e estigma (recebe o grão de pólen) ou multicarpelar quando formado por mais de um pistilo que podem ser separados (dialicarpelar) ou unidos (gamocarpelar). Flores dialicarpelares podem formar mais de um fruto ou os carpelos podem ser fundidos formando um único fruto. No ovário protegido pelo pericarpo encontram-se os óvulos, organizados em sacos embrionários e ligados ao ovário pela placenta (Gonçalves; Lorenzi, 2011).

2.3.2 Atributos florais e polinizadores

O processo evolutivo fez com que as adaptações florais das plantas superiores se adequassem às necessidades de polinização e dos polinizadores tornando possível a reprodução sexuada do vegetal. A morfologia e outros atrativos florais são o que se consideram os atributos florais. O conjunto dos atributos florais comuns a certos tipos de polinizadores é chamado de síndrome floral ou síndrome de polinização (Gonçalves; Lorenzi, 2011; Vieira; Fonseca, 2014). O quadro 1 elenca os atributos florais, os polinizadores e a síndrome floral respectiva.

Os atributos florais mais importantes para caracterização das síndromes florais são: período da antese, características da corola quanto à coloração e odor e recurso oferecido ao polinizador. Os recursos oferecidos podem ser o néctar, pólen, óleo, resina, substâncias odoríferas (produzidas nos osmóforos) ou corpos de alimentação (partes da flor que servem como alimentos aos polinizadores) (Almeida; Cota-Sánchez; Paoli, 2013).

Quadro 1. Atributos, polinizadores e síndromes florais.

Polinizadores			Características florais				Síndromes
Grupo	Período de atividade	Antese	Da corola e outras	Cor	Odor	Recurso	
Besouros	Diurno ou noturno	Diurna ou noturna	Actinomorfa, com os órgãos sexuais expostos ou flores com câmara de polinização	Pálida, incluindo esverdeada, branca e creme	Suave ou forte à noite	Partes florais, incluindo corola e estames	Cantarofilia
Moscas	Diurno	Diurna	Actinomorfa, aberta e com os órgãos sexuais expostos ou flores armadilhas	Pálida, incluindo purpúrea	Suave ou forte (pútrido)	Néctar e pólen	Miiofilia/ SaproMiiofilia
Abelhas	Diurno	Diurna	Actinomorfa e aberta ou zigomorfa, tubulosa e com plataforma de pouso	Viva, incluindo amarela, azul e lilás (nunca vermelha)	Suave	Néctar, pólen, óleo, resina ou substâncias odoríferas	Melitofilia
Borboletas	Diurno	Diurna	Actinomorfa, corola longo-tubulosa e na posição ereta	Viva, incluindo vermelha	Suave	Néctar	Psicofilia
Mariposas	Noturno	Noturna	Actinomorfa, tubulosa (tubo muito longo) e na posição horizontal ou pendente, ou ainda flores longo-calcaradas	Pálida, incluindo branca e branco-esverdeada	Forte (adocicado)	Néctar	Falenofilia/ Esfingofilia
Beija-flores	Diurno	Diurna	Principalmente actinomorfa, tubulosa e na posição horizontal ou pendente	Viva, incluindo vermelha associada à amarela	Ausente	Néctar	Ornitofilia
Morcegos	Noturno	Noturna	Actinomorfa ou zigomorfa, flor grande, resistente, posicionada fora da folhagem	Pálida, principalmente branca	Forte (fruto em decomposição)	Néctar	Quiropterofilia
Outros mamíferos (marsupiais, ratos e macacos)	Diurno ou noturno	Diurna ou noturna	Flor grande e resistente	Variada	Variado	Néctar, pólen ou partes florais	-

Fonte: Vieira e Fonseca (2014).

A flor da pitaieira tem forma tubular, radial, cor branca/creme, exala odor agradável, antese noturna com duração até 15 horas se estendendo até as primeiras horas da manhã seguinte, secretam néctar pelos tricomas, mesófilo e estômatos e produzem pólen abundantemente (Almeida *et al.*, 2013; Muniz *et al.*, 2019). Essas características são condizentes com as síndromes de polinização quiropterofilia, esfingofilia. De fato, Valiente-Banuet *et al.* (2007) relatam que morcegos e mariposas (esfingídeo) são polinizadores noturnos preferenciais da pitaia e que abelhas (*Apis mellifera*) são polinizadores matutinos (melitofilia), Muniz *et al.* (2019), em trabalho realizado no Ceará, relata que o estigma permanece receptivo durante toda a antese e o pólen não perde sua viabilidade (Weiss; Nerd; Mizrahi, 1994), e que no período da manhã as abelhas (*Apis mellifera* e *Xylocopa grisescens*), vespas, formigas, e

besouros (cantarofilia) são os visitantes mais encontrados entrando em contato com o androceu e gineceu da flor da pitaieira.

Muniz *et al.* (2019) relatam que para a espécie *S. undatus*, a polinização pela mariposa (*Agrius cingulata*) proporcionou frutos maiores e que a espécie *S. polyrhizus* a polinização realizada por *Apis mellifera* resultou em frutos mais pesados. Marques *et al.* (2012) relatam que a polinização cruzada da pitaieira em Lavras-MG foi realizada por *Apis mellifera* e que os insetos que causaram maiores danos às flores foram formigas (*Atta sexdens* e *Solenopsis spp*) e a abelha irapuá (*Trigona spinipes*).

2.3.3 Sistema reprodutivos

As plantas que fazem autopolinização são chamadas de plantas autógamas e as que necessitam de polinização cruzada são plantas alógamas. Quando é possível polinizar o mesmo indivíduo alógamo com seu pólen caracteriza-se ou geitonogamia e cleistogamia quando isso ocorre antes da abertura floral. Quando é possível que ocorra a polinização somente com pólen de indivíduos distintos tem-se a xenogamia (Figura3) (Vieira; Fonseca, 2014).

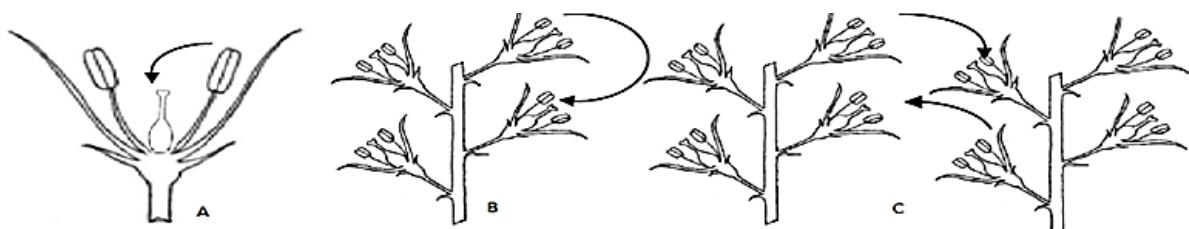


Figura 3. Sistemas reprodutivos. A-Autopolinização. B- Geitonogamia. C-Xenogamia.
Fonte: Vieira e Fonseca (2014).

A autocompatibilidade manifestada na autogamia e geitonogamia caracteriza-se pela aceitação do pólen da própria planta pelo estigma, germinação do tubo polínico e formação do zigoto, sem o afloramento de alelos deletérios (pela perda da depressão endogâmica). As plantas autógamas têm baixa relação pólen/óvulo, as flores são geralmente muito pequenas, sem recurso floral, o androceu e gineceu amadurecem simultaneamente, tem um sucesso reprodutivo elevado, geralmente as plantas autógamas são herbáceas, com ciclo de vida curto e são resilientes em ambientes antropogênicos. As plantas autógamas que expõem suas peças florais aos polinizadores potenciais são chamadas de casmógamas e as que não se abrem cleistógamas (Gonçalves; Lorenzi, 2011; Vieira; Fonseca, 2014).

Plantas alógamas manifestam flores grandes, com um ou vários atrativos florais, a maturação do androceu e gineceu podem ocorrer em épocas distintas, tem um sucesso reprodutivo médio a baixo, com elevada relação pólen/óvulo, hábito lenhoso, com ciclo de vida longo e sobrevivem em ambientes conservados pois necessitam da presença nesses ambientes de polinizadores (Endress, 2001).

As plantas alógamas apresentam algumas estratégias que favorecem a polinização cruzada. A hercogamia é uma barreira física presente na flor que dificulta a polinização natural, como por exemplo os lóbulos do estigma localizados acima da posição das anteras. A dicogamia é o amadurecimento em épocas diferentes do androceu e gineceu. Se o androceu amadurece primeiro temos a protandria e se o gineceu fica receptivo antes do androceu temos a protoginia. Flores alógamas ainda podem apresentar a enantiomorfia que é o espelhamento dos aparelhos reprodutivos (o estigma fica semelhante aos estames) (Vieira; Fonseca, 2014).

A autoincompatibilidade polínica é uma barreira genética definida pela incapacidade da planta fértil hermafrodita produzir zigotos após a autopolinização, pode ser de origem gametofítica (AIG) ou esporofítica (AIE). A autoincompatibilidade gametofítica é gerada por um alelo (S) presente no pólen (haplóide), já a autoincompatibilidade esporofítica é gerada pelo genótipo diploide da planta-mãe. A autoincompatibilidade polínica pode ser ainda homomórfica quando não há alteração no formato flora ou heteromórfica quando é possível observar diferenças na estrutura e formato das flores (Vieira; Fonseca, 2011).

Na AIG, o grão de pólen germina e ocorre a reação de autoincompatibilidade no crescimento do tubo polínico no estilete sofrendo degradação pela ação de RNAses e glicoproteínas inibindo a segunda mitose. Já na AIE a reação de incompatibilidade ocorre logo no estigma, que impede a germinação do pólen e crescimento do tubo polínico (Gonçalves; Lorenzi, 2011).

Weiss, Nerd e Mizrahi (1994) e Nerd e Mizrahi (1996) verificaram em seus trabalhos que a espécies *S. polyrhizus* (sin. *H. polyrhizus*) e *S. costaricensis* como sendo autoincompatíveis e *S. undatus* e *S. megalanthus* sendo autocompatíveis. Weiss, Nerd e Mizrahi (1994) notaram que existe contato entre o estigma e as anteras no momento do fechamento da flor na espécie *S. megalanthus*. Dinh Há e Chung (2014) verificaram também, em trabalhos de polinização artificial, que os clones de *S. undatus* foram completamente autocompatíveis, os mesmos autores relataram também que a espécie *S. polyrhizus* foi totalmente autoincompatível. Por sua vez Silva, Martins e Cavallari (2011) não observaram frutificação em plantas de *S. undatus* autopolinizadas, sugerindo esses resultados contrastantes existir clones autoincompatíveis, autocompatíveis e parcialmente autoincompatíveis.

Essa autoincompatibilidade parcial pode ser relacionada a hercogamia, de fato, Fernandes *et al.* (2010) descreve o estigma localizado em nível superior às anteras favorecendo a alogamia caracterizando a heterostilia (diferença entre a altura do estigma e anteras). Menezes *et al.* (2015) relatam que a taxa de autofecundação natural da espécie *S. undatus* foi de 7% próxima ao nível de 5% que caracteriza plantas alógamas.

Ramírez (1999) e Lichtenzveig *et al.* (2000) verificaram em pitaieiras autoincompatíveis que o grão de pólen germina no estigma, que o tubo polínico se desenvolve até o ovário onde então ocorre incompatibilidade, definindo esses autores a autoincompatibilidade gametofítica tardia. Tel-Zur *et al.* (2012) verificaram que níveis diferentes de poliploidia podem superar os efeitos da autoincompatibilidade polínica em pitaieiras.

Mizrahi *et al.* (2004) verificaram o efeito de metaxenia (ou xenia), ou seja, a fonte de grãos de pólen causa alterações no tecido materno (pericarpo, ovário, placenta) afetando o tempo de amadurecimento, tamanho e quantidade de sementes no fruto da pitaieira. Esse fato foi observado por Dinh Há e Chung (2014) e Menezes *et al.* (2015) que observaram frutos maiores em plantas submetidas a polinização cruzada em comparação as plantas autopolinizadas.

2.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACQUAAH, G. **Principles of Plant Genetics and Breeding**. 1. ed. Nova Jersey, USA: Wiley-Blackwell, 2012. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118313718>. Acesso em: 27 fev. 2024.

ALMEIDA, O. J. G.; COTA-SÁNCHEZ, J. H.; PAOLI, A. A. S. The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 15, n. 5, p. 255–268, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2013.08.001>

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**, v. 27, n. 1, p. 168–170, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452005000100044>

ANDRADE, R. A.; OLIVEIRA, I. V. M.; SILVA, M. T. H.; MARTINS, A. B. G. Germinação de pitaya em diferentes substratos. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, p. 71–75, 2008.

BARTHLOTT, W. Cactaceae. In: KUBITZKI, K.; HUNT, D. R. **The Families and Genera of Vascular Plants**. New York: Springer, 1993. p. 161–197. *E-book*. Disponível em: <https://www.springer.com/series/1306>. Acesso em: 27 fev. 2024.

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**, v. 30, n. 6, p. 1106–1109, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000600009>

BAUER, R. A synopsis of the tribe Hylocereeae F.Buxb. **Cactaceae Systematics Initiatives**, v. 17, p. 6–63, 2003.

BELLEC, F. L.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, n. 4, p. 237–250, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/fruits:2006021>

BRASIL. **Lei n.º 13.123, de 20 de maio de 2015**. Regulamenta aspectos da Constituição Federal e da Convenção sobre Diversidade Biológica, abordando acesso ao patrimônio genético, proteção do conhecimento tradicional associado e repartição de benefícios. Revoga a Medida Provisória nº 2.186-16 e traz outras disposições. , 2015. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2015/lei/l13123.htm. Acesso em: 27 fev. 2024.

BRASIL. **Ato n.º 6, de 8 de maio de 2019**. O Serviço Nacional de Proteção de Cultivares divulga os descritores mínimos para a proteção de cultivares de PITAIA, conforme previsto na Lei nº 9.456/1997 e no Decreto nº 2.366/1997, e conforme o Processo nº 21000.007726/2015-38. O formulário estará disponível online. , 2019. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/INSDAn7_2019_excluiPQAs.pdf

BRITTON, N. L.; ROSE, J. N. **The Cactaceae**. Revised edição ed. New York: Dover Publications, 1963.

BUXBAUM, F. **BUXBAUM The phylogenetic division of the subfamily Ceroideae, Cactaceae**. Berkeley: California Botanical Society, 1958. v. 14. *E-book*. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/part/170160>

CASTRO, J. C.; MARDIGAN, L. P.; WATANABE, R.; CLEMENTE, E.; ABREU FILHO, B. A. Conservação de frutos de pitaia (*Hylocereus undatus* (Haw.)) com utilização de revestimentos comestíveis e refrigeração. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 89–103, 2017 a. Disponível em: <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v8n4.4544>

CASTRO, J. C.; MARDIGAN, L. P.; WATANABE, R.; CLEMENTE, E.; ABREU FILHO, B. A. Conservação de frutos de pitaia (*Hylocereus undatus* (Haw.)) com utilização de revestimentos comestíveis e refrigeração. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 89, 2017 b. Disponível em: <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v8n4.4544>

CAVALCANTE, Í. H. L.; MARTINS, A. B. G.; SILVA JÚNIOR, G. B.; ROCHA, L. F.; FALCÃO NETO, R.; CAVALCANTE, L. F. Adubação orgânica e intensidade luminosa no crescimento e desenvolvimento inicial da Pitaya em Bom Jesus-PI. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 970–983, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000086>

CAVICHIOLI, J. C.; CONTIERO, L. A. F. Diferentes métodos de enxertia na produção de mudas de pitaia amarela. *In: II SIMPÓSIO DE PROPAGAÇÃO DE PLANTAS E PRODUÇÃO DE MUDAS2018*, Águas de Lindóia, SP. **Anais** [...]. Águas de Lindóia, SP: [s. n.], 2018. p. 1.

COBB, J. N.; DECLERCK, G.; GREENBERG, A.; CLARK, R.; MCCOUCH, S. Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype–phenotype relationships and its relevance to crop improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 4, p. 867–887, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2066-0>

CRUVINEL, F. F.; RANGEL JUNIOR, I. M.; MARTELLETO, L. A. P.; VASCONCELLOS, M. A. S. Análise de crescimento e fatores climáticos na estação da pitaieira [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] tratadas com citocinina BAP. **Revista Cultura Agronômica**, v. 26, n. 4, p. 657–670, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.32929/2446-8355.2017v26n4p657-670>

CRUZ, C. D. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético - Volume 1**. 4. ed. Viçosa, MG: UFV, 2012.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético – Volume 1**. Viçosa, MG: UFV, 2012. *E-book*. Disponível em: <https://livraria.funep.org.br/product/modelos-biometricos-aplicados-ao-melhoramento-genetico-vol-1-4a-edicao/>. Acesso em: 28 fev. 2024.

DINH HA, T.; CHUNG, R. Y. DINH Morphological Characteristics and Pollination Requirement in Red Pitaya (*Selenicereus* spp.) - Pesquisa Google. **International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering**, v. 8, n. 3, p. 5, 2014.

DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 1, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000300001>

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO DISTRITO FEDERAL - EMATER. **Cultura da pitaya: informações básicas de cultivo**. EMATER, , 2020.

ENDRESS, P. K. Origins of flower morphology. **Journal of Experimental Zoology**, v. 291, n. 2, p. 105–115, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jez.1063>

FERNANDES, D. R.; MOREIRA, R. A.; CRUZ, M. C. M.; RABELO, J. M.; OLIVEIRA, J. Improvement of production and fruit quality of pitayas with potassium fertilization. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, n. 1, p. 35290, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.35290>

FERNANDES, L. M. S.; VIEITES, R. L.; CERQUEIRA, R. C.; BRAGA, C. L.; SIRTOLI, L. F.; AMARAL, J. L. Características pós-colheita em frutos de pitaia orgânica submetida a diferentes doses de irradiação. **Biodiversidade**, v. 9, n. 1, p. 8, 2010.

FREITAS, S. T.; MITCHAM, E. J. Quality of pitaya fruit (*Hylocereus undatus*) as influenced by storage temperature and packaging. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 257–262, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000400006>

FRÓES JÚNIOR, P.; CARDOSO, N. R.; REBELLO, F.; HOMMA, A.; LOPES, M. L. Aspectos da produção, comercialização e desenvolvimento da cultura da pitaya no estado do Pará. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 264, 2019.

GARCIA, R. B.; CISNEROS, A.; SCHNEIDER, B.; TEL-ZUR, N. Gynogenesis in the vine cacti *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). **Plant cell reports**, v. 28, n. 5, p. 719–726, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00299-009-0687-1>

GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. Jardim em Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2011. *E-book*. Disponível em: <https://www.ofitexto.com.br/morfologia-vegetal/p>. Acesso em: 28 fev. 2024.

GOWER, J. C. A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties. **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857, 1971. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2528823>

GRIMALDO-JUÁREZ, O.; TERRAZAS, T.; GARCÍA-VELÁSQUEZ, A.; CRUZ-VILLAGAS, M.; PONCE-MEDINA, J. Morphometric Analysis of 21 Pitahaya (*Hylocereus undatus*) Genotypes♦. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 9, p. 19, 2007.

HARLAN, J. R.; DE WET, J. M. J. Toward a Rational Classification of Cultivated Plants. **Taxon**, v. 20, n. 4, p. 509–517, 1971. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1218252>

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 (PCTOC)**, v. 120, n. 2, p. 741–745, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0643-9>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **IBGE | Censo Agro 2017 | Home.** [s. l.], 2017. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>. Acesso em: 27 fev. 2024.

JOLLIFFE, I. T. Discarding Variables in a Principal Component Analysis. II: Real Data. **Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)**, v. 22, n. 1, p. 21–31, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2346300>

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; LIMA, C. A.; SOUZA, L. S. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 819–824, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000104>

JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RAMOS, J. D.; PEREIRA, A. V. **Informações preliminares sobre uma espécie de pitaya do cerrado**. Embrapa Cerrados, , 2002. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2009/24169/1/p2002_57.pdf. Acesso em: 9 jan. 2024.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2014.

KOROTKOVA, N.; BORSCH, T.; ARIAS, S. A phylogenetic framework for the Hylocereeae (Cactaceae) and implications for the circumscription of the genera. **Phytotaxa**, v. 327, n. 1, p. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.327.1.1>

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (Hylocereus spp.): A new fruit crop, a market with a future. <http://dx.doi.org/10.1051/fruits:2006021>, v. 61, n. 4, p. 237–250, 2006 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/fruits:2006021>

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (Hylocereus spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, n. 4, p. 237–250, 2006 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/fruits:2006021>

LEVER, J.; KRZYWINSKI, M.; ALTMAN, N. Principal component analysis. **Nature Methods**, v. 14, n. 7, p. 641–642, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nmeth.4346>

LI, B.; COCKERTON, H. M.; JOHNSON, A. W.; KARLSTRÖM, A.; STAVRIDOU, E.; DEAKIN, G.; HARRISON, R. J. Defining strawberry shape uniformity using 3D imaging and genetic mapping. **Horticulture Research**, v. 7, n. 1, p. 115, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41438-020-0337-x>

LICHENZVEIG, J.; ABBO, S.; NERD, A.; TEL-ZUR, N.; MIZRAHI, Y. Cytology and mating systems in the climbing cacti Hylocereus and Selenicereus. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 7, p. 1058–1065, 2000.

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Diversidade genética intra e interespecífica de pitaya com base nas características físico-químicas de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1066–1072, 2013 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400018>

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Diversidade genética intra e interespecífica de pitaya com base nas características físico-químicas de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1066–1072, 2013 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400018>

LUDERS, L.; MCMAHON, G.; DIFM, F. The Pitaya or Dragon Fruit. 2006.

LUO, J.; XU, M.; QI, Z.; XIONG, R.; CHENG, Y.; LIU, C.; WEI, S.; TANG, H. Differential responses of the soil microbial community in two pitaya orchards with different mulch types. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 10413, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46920-3>

MARQUES, V. B.; ARAÚJO, N. A.; MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; RIZENTAL, M. Ocorrência de insetos na pitaia no município de Lavras-MG. **Revista Agrarian 1684-2538**, v. 5, p. 88–92, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.30612/agrarian.v5i15.1116>

MENEZES, T. P.; GOMES, W. A.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 868–876, 2012.

MILLACH, S. C. K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/153831/recursos-geneticos-e-melhoramento-de-plantas-para-o-nordeste-brasileiro>. Petrolina, PE: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p. 868–876. E-book. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/153831/recursos-geneticos-e-melhoramento-de-plantas-para-o-nordeste-brasileiro>. Acesso em: 27 fev. 2024.

MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 124–138, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-2945-452/13>

MOHAMED-YASSEEN, Y. Micropropagation of pitaya (*Hylocereus undatus* Britton & Rose). **In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant**, v. 38, n. 5, p. 427–429, 2002.

MOREIRA, R. A. **Microenxertia de Selenicereus megalanthus em diferentes porta-enxertos de pitaia**. 2018. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2018. Disponível em: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/29341/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Microenxertia%20de%20Selenicereus%20megalanthus%20em%20diferentes%20porta-enxertos%20de%20pitaia.pdf

MUNIZ, J. P.; BOMFIM, I. G.; CORRÊA, M. C.; FREITAS, B. Floral biology, pollination requirements and behavior of floral visitors in two species of pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 4, p. 10, 2019 a.

MUNIZ, J. P.; BOMFIM, I. G.; CORRÊA, M. C.; FREITAS, B. Floral biology, pollination requirements and behavior of floral visitors in two species of pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 4, 2019 b. Disponível em: <http://periodicos.ufc.br/revistacienciaagronomica/article/view/84884>. Acesso em: 27 fev. 2024.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

NASS, L. L. **Recursos Genéticos Vegetais**. 1. ed. [S. l.]: Embrapa, 2007.

NERD, A.; MIZRAHI, Y. Reproductive Biology of Cactus Fruit Crops. In: JANICK, J. (org.). **Horticultural Reviews**. 1. ed. New York: Wiley, 1996. p. 321–346. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470650608.ch7>. Acesso em: 23 fev. 2024.

OLIVEIRA, A. C. D. de. **Manual de acesso ao patrimônio genético brasileiro e ao conhecimento tradicional associado**. Rio de Janeiro, RJ: Abifina, 2018 a.

OLIVEIRA, A. C. D. de. **Manual de acesso ao patrimônio genético brasileiro e ao conhecimento tradicional associado**. Rio de Janeiro, RJ: Abifina, 2018 b.

OLIVEIRA, M. M. T.; SHUHUA, L.; KUMBHA, D. S.; ZURGIL, U.; RAVEH, E.; TEL-ZUR, N. Performance of *Hylocereus* (Cactaceae) species and interspecific hybrids under high-temperature stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 153, p. 30–39, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.044>

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D. **Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* spp.)**. Oaxaca, México: IPN-CONACYT-SIBEJ-FMCN, 2000. E-book. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=geeArgEACAAJ>

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, 2012.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; LIVERA-MUÑOZ, M.; COLINAS-LEÓN, M. T.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Estres Hídrico e intercambio de co2 de la Pitahaya (*Hylocereus undatus*). **Agrociencia**, v. 33, n. 4, p. 397–405, 1999.

PAIVA, A. L. C.; TEIXEIRA, R. B.; YAMAKI, M.; MENEZES, G. R. O.; LEITE, C. D. S.; TORRES, R. A. Análise de componentes principais em características de produção de aves de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, p. 285–288, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000200009>

RAMÍREZ, M. F. J. **Caracterización y compatibilidad en pitahaya *Hylocereus* sp.** 1999. Tese (Doutorado em Horticultura) - Universidad Autónoma, Chapingo, México, 1999.

RAO, C. R. **Advanced Statistical Methods in Biometric Research**. New York: Macmillan Pub Co, 1970.

RUTHS, R.; BONOME, L. T. S.; TOMAZI, Y.; SIQUEIRA, D. J.; MOURA, G. S.; LIMA, C. S. M. Influência da temperatura e luminosidade na germinação de sementes das espécies: *Selenicereus setaceus*, *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 2, p. 194–201, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5965/223811711812019194>

SANTOS, C. M. G.; CERQUEIRA, R. C.; FERNANDES, L. M. S.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Efeito de substratos e boro no enraizamento de estacas de pitaya. **Revista Ceres**,

v. 57, n. 6, p. 795–802, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000600015>

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY (org.). **Handbook of the Convention on Biological Diversity: including its Cartagena Protocol on Biosafety**. 3. ed. Montreal, Canadá: Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2005.

SILVA, A. C. C. **Pitaya: melhoramento e produção de mudas**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP, 2014. Disponível em: <http://acervodigital.unesp.br/handle/11449/113995>. Acesso em: 27 fev. 2024.

SILVA, A. C. C.; CAVALLARI, L. L.; SABIÃO, R. R.; MARTINS, A. B. G. Fenologia reprodutiva da pitaya vermelha em Jaboticabal, SP. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 585–590, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20120403>

SILVA, A. C. C.; SABIÃO, R. R.; CHIAMOLERA, F. M.; SEGANTINI, D. M.; MARTINS, A. B. G. Morphological traits as tool to verify genetic variability of interspecific dragon fruit hybrids. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017168>

SILVA, A. D. C. C. D.; MARTINS, A. B. G.; CAVALLARI, L. D. L. Qualidade de frutos de pitaya em função da época de polinização, da fonte de pólen e da coloração da cobertura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1162–1168, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000400014>

STRAPASSON, E.; VENCOVSKY, R.; BATISTA, L. A. R. Seleção de descritores na caracterização de germoplasma de *Paspalum* sp. por meio de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 373–381, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000200008>

TAO, J.; QIAO, G.; WEN, X.-P.; GAO, G.-L.; LIU, T.; PENG, Z.-J.; CAI, Y.-Q.; CHEN, N.; YAN, F.-X.; ZHANG, B.-X. Characterization of genetic relationship of dragon fruit accessions (*Hylocereus* spp.) by morphological traits and ISSR markers. **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 82–88, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.03.006>

TEL-ZUR, N. Genetic Relationships among *Hylocereus* and *Selenicereus* Vine Cacti (Cactaceae): Evidence from Hybridization and Cytological Studies. **Annals of Botany**, v. 94, n. 4, p. 527–534, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mch183>

TEL-ZUR, N.; MOUYAL, J.; ZURGIL, U.; MIZRAHI, Y. In Support of Winge's Theory of "Hybridization Followed by Chromosome Doubling". **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 954, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00954>

THOMSON, P. H. **Pitahaya: a promising new fruit crop for Southern California**. 2. ed. Bonsall, Califórnia: Bonsall Publications, 2002.

TSAI, Y.; LIN, C.-G.; CHEN, W. L.; HUANG, Y.-C.; CHEN, C.-Y.; HUANG, K.-F.; YANG, C.-H. Evaluation of the Antioxidant and Wound-Healing Properties of Extracts from

Different Parts of *Hylocereus polyrhizus*. **Agronomy**, v. 9, n. 1, p. 27, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy9010027>

TZE, N. L.; HAN, C. P.; YUSOF, Y. A.; LING, C. N.; TALIB, R. A.; TAIP, F. S.; AZIZ, M. G. Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 675–682, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0088-z>

UPOV-INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS. **Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability – dragon fruit**. Geneva, EUA: UPOV, 2011. Disponível em: <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg271.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2024.

VALDIVIA, E. **The pitahaya's Arrival**. Fruit Gardener, , 2010.

VALIENTE-BANUET, A.; SANTOS GALLY, R.; ARIZMENDI, M. C.; CASAS, A. Pollination biology of the hemiepiphytic cactus *Hylocereus undatus* in the Tehuacán Valley, Mexico. **Journal of Arid Environments**, v. 68, n. 1, p. 1–8, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.04.001>

VIEIRA, M. F.; FONSECA, R. **Biologia reprodutiva em angiospermas: síndromes florais, polinização e sistemas reprodutivos sexuados**. Viçosa, MG: UFV, 2014.

WEISING, K.; NYBOM, H.; PFENNINGER, M.; WOLFF, K.; KAHL, G. **DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications, Second Edition**. 0. ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 2005. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9781420040043>. Acesso em: 27 fev. 2024.

WEISS, J.; NERD, A.; MIZRAHI, Y. Flowering Behavior and Pollination Requirements in Climbing Cacti with Fruit Crop Potential. **HortScience**, v. 29, n. 12, p. 1487–1492, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.12.1487>

WU, L.; HSU, H.-W.; CHEN, Y.-C.; CHIU, C.-C.; LIN, Y.-I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, n. 2, p. 319–327, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.002>

3 CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE PITAYA (*Selenicereus* spp.) COM BASE EM DESCRIPTORES MORFOAGRONÔMICOS

3.1 RESUMO

A caracterização é uma etapa essencial para subsidiar o uso de acessos de bancos de germoplasma, pois permite identificar o potencial e variabilidade genética necessários ao melhoramento vegetal. São escassos os registros de caracterização de germoplasmas de pitaieiras (*Selenicereus* spp.). Neste trabalho, objetivou-se o levantamento das características morfoagronômicas da coleção de germoplasma de pitaieiras da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e sua importância relativa. Para tanto, foram avaliados 54 descritores morfoagronômicos dos cladódios, flores e frutos. Utilizou-se a análise de componentes principais para descartar os descritores redundantes e correlacionados e o método de Singh para verificar a importância relativa dos descritores mantidos. Foram descartados 46,3% dos descritores, sendo que os mais importantes para caracterização dos acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ foram: borda da costilha, cor do cladódio e cerosidade do cladódio, diâmetro $\frac{1}{4}$ do cladódio, distância entre aréolas, diâmetro da aréola, altura da costilha, intensidade de vermelho das brácteas, cor da pétala, cor principal da sépala, comprimento do perianto, comprimento das pétalas, comprimento da antera, cor da polpa, cor do exocarpo, número de brácteas, espessura da exoderme, massa da polpa, massa de 100 sementes e sólidos solúveis.

Palavras-Chave: Descritores mínimos. Variabilidade. Recursos genéticos vegetais. Germoplasma.

3.2 ABSTRACT

The morphometric descriptors of the cladodes, flowers and fruits were evaluated aimed to make the selection of the most important descriptors to the characterization of dragon fruit tree accessions. A principal component analysis and Singh method were carried to discard redundant descriptors and to see relative importance of the variables. It was possible to discard 46.30% of the descriptors and the most important descriptors for the characterization of the accessions of dragon fruit tree of the germplasm bank of the UFRRJ are: rib shape, cladode's color, cladode's cerosity , cladode $\frac{1}{4}$ diameter, areolas distance,areola diameter, rib's height, bracts red intensisity, petals color, sepals main color, perianth length, petals length, anther length, pulp color, exocarp color, bracts number, exorderme thickness, pulp weight, 100 seeds weight, soluble solids amount.

Key Words: *Selenicereus spp.* Characterization. Variability.

3.3 INTRODUÇÃO

O incremento na produção e produtividade da pitaieira seja pelo aumento da área de cultivo (IBGE, 2018) ou maior conhecimento das técnicas de sua condução é reflexo do interesse crescente nesta cactácea frutífera. Sua fruta, a pitaia, tem como atrativos seu aspecto exuberante, formato globoso com brácteas coloridas, sabor agradável e propriedades nutracêuticas (Choo *et al.*, 2018). Os cultivos comerciais da pitaieira no Brasil se apoiam principalmente em cinco espécies: a *Selenicereus undatus*, a *S. polyrhisis*, *S. costaricensis*, a *S. megalanthus* e a *S. setaceus* (Donadio, 2009; Mizrahi, 2014).

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) mantém uma coleção de germoplasma de pitaieiras desde 2016 com finalidade de avaliar a cultura nas condições climáticas no estado do Rio de Janeiro, difundir a cultura aos agricultores fluminenses e iniciar um programa de melhoramento da cultura. Os acessos foram obtidos de colecionadores desta frutífera e em fundo de quintais de pequenos agricultores da região norte fluminense.

A etapa de caracterização dos acessos permite descrever os atributos qualitativos e quantitativos com a finalidade de diferenciá-los, observar a variabilidade existente e torná-los funcionais em estratégias de melhoramento (Ronoh *et al.*, 2019). Descritores morfológicos, físico-químicos, agronômicos e moleculares podem ser usados para a caracterização dos acessos. Os descritores morfoagronômicos são vastamente utilizados no melhoramento vegetal e na caracterização e estimativa de diversidade genética por sua facilidade de mensuração e custos reduzidos uma vez que não são necessários processos ou equipamentos dispendiosos (Tao *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2017; Ronoh *et al.*, 2019). Tal caracterização deve ser feita com descritores morfoagronômicos que possam contribuir para a discriminação dos acessos sem perda de informação em relação à variabilidade (Paiva *et al.*, 2010), evitando a aferição de caracteres que sejam redundantes e ou de difícil mensuração (Strapasson; Vencovsky; Batista, 2000). Alguns desses descritores são utilizados em ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares, tendo em vista a sua proteção.

Estudos de caracterização de pitaieiras que usam descritores morfoagronômicos são escassos e não seguem critérios de DHE propostos no âmbito internacional pela União Internacional para Proteção de Novas Variedades de Plantas (UPOV, 2011) e no Brasil pelo Ministério da Agricultura (Brasil, 2019). Ademais, estudos sobre a importância relativa desses descritores e sua otimização são necessários para evitar aferição de caracteres redundantes, com baixa variabilidade, estabilidade ou de difícil mensuração.

Tendo em vista a necessidade de caracterização morfoagronômica da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ, objetivou-se neste trabalho, otimizar tais descritores, estabelecer sua importância relativa e caracterizar a referida coleção.

3.4 MATERIAIS E MÉTODOS

A coleção de germoplasma de pitaieiras foi instalada em janeiro de 2016 no Campus Campos dos Goytacazes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado na cidade de Campos dos Goytacazes, RJ ($21^{\circ}45'14"S$ e $41^{\circ}19'26"W$, a 14 m de altitude). O clima da região é do tipo Aw, conforme a classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e a temperatura média anual é de $22,7^{\circ}\text{C}$.

Vinte e cinco acessos de pitaieiras foram obtidos junto a colecionadores, produtores e centro de pesquisas, sendo que os códigos utilizados neste trabalho, as espécies ou híbridos e o local de origem ou coleta são apresentados no Tabela 1.

Tabela 1. Acessos de pitaieiras da coleção de trabalho da UFRRJ.

Código	Espécie/híbridos	Procedência
01	<i>S. undatus</i>	UFLA-MG
02	<i>S. undatus</i>	São Marcos-RS
03	<i>S. undatus</i>	São Francisco Itabapuana-RJ
04	<i>S. undatus</i>	Batatais-SP
05	<i>S. undatus</i>	Miracatu-SP
06	<i>S. polyrhizus</i>	UFLA-MG
07	<i>S. polyrhizus</i>	Monte Alto-SP
08	<i>Selenicereus</i> sp.	São Marcos-RS
09	<i>Selenicereus</i> sp.	São Marcos-RS
10	<i>Selenicereus</i> sp.	São Marcos-RS
11	<i>S. costaricensis</i>	São Marcos-RS
12	<i>S. costaricensis</i>	Batatais-SP
13	<i>S. megalanthus</i> x <i>Selenicereus</i> sp.	Miracatu-SP
14	<i>S. setaceus</i>	Cantagalo-RJ
15	<i>S. setaceus</i>	Mutum-MG
16	<i>S. setaceus</i>	São Marcos-RS
17	<i>S. setaceus</i>	Itatiaia-RJ
18	<i>S. setaceus</i>	Campos dos Goytacazes-RJ
19	<i>S. setaceus</i>	Campos dos Goytacazes-RJ
20	<i>Selenicereus</i> sp. x <i>Epiphyllum</i> sp.	Campos do Goytacazes-RJ
21	<i>Selenicereus</i> sp. x <i>Epiphyllum</i> sp.	Monte Alto-SP
22	<i>S. undatus</i> x <i>S. polyrhizus</i>	Monte Alto-SP
23	<i>S. undatus</i> x <i>S. polyrhizus</i>	Monte Alto-SP
24	<i>S. undatus</i> x <i>S. polyrhizus</i>	Monte Alto-SP
25	<i>S. undatus</i> x <i>Selenicereus</i> sp.	Monte Alto-SP

Os acessos de pitaia foram plantadas em tutores feitos de concreto de 1,70 m no espaçamento de 2 m entre plantas e 3 m entre fileiras. Foi conduzida uma brotação até a extremidade do tutor e feita então uma poda para incentivar a brotação lateral e feitas adubações indicadas para a cultura.

As avaliações dos descritores vegetativos foram realizadas em maio de 2017 e repetido 2018. As avaliações florais e dos frutos foram realizadas em dezembro de 2018 a maio de 2019 no período produtivo com exceção dos acessos 18, 19 que apresentaram produção de flores e frutos em julho e agosto de 2018.

Para a fenotipagem, foram seguidas as recomendações estabelecidas pela International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV, 2011) e Ministério da Agricultura

(Brasil, 2019) para a espécie *Selenicereus undatus*: os descritores foram obtidos de acessos com mais de um ano de instalação do cultivo ou de plantas com mais de 40 cm de comprimento de plantas vigorosas e livres de doenças e pragas. O material reprodutivo (flores e frutos) avaliado foi de plantas com mais de um ciclo de cultivo.

Foram analisados 20 descritores qualitativos e 34 descritores quantitativos. No Tabela 2 encontram-se listados os descritores qualitativos e quantitativos dos cladódios, flores e frutos, o valor atribuído a cada variável do descritor qualitativo ou a unidade de medida utilizada para o descritor quantitativo e a referência e idealizador para o uso de tal descritor.

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (continua).

Descritores qualitativos dos cladódios			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
CD1	Intensidade de vermelho do cladódio jovem	1: ausente, 2: médio, 3: forte	UPOV (2011)
CD2	Cerosidade do cladódio	1: débil, 2: média, 3: forte	UPOV (2011)
CD3	Textura do cladódio	1:lisa, 2: média, 3: rugosa	UPOV (2011)
CD4	Cor do cladódio	1: verde claro, 2: verde médio, 3: verde escuro	UPOV (2011)
CD5	Intensidade de Cinza da aréola	1: claro, 2: médio, 3: escuro	UPOV (2011)
CD6	Cor do espinho	1: cinza, 2: marrom médio, 3: marrom escuro	UPOV (2011)
CD7	Borda da costilha	1:côncavo, 2: plana, 3: convexa	Britton e Rose (1963)
CD8	Dureza da margem da costela	1: ausente, 2: presente	UPOV (2011)
Descritores quantitativos dos cladódios			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
CQ1	Comprimento do cladódio	cm	Grimaldo-Juárez et al. (2007)
CQ2	Diâmetro do cladódio $\frac{1}{2}$	cm	UPOV (2011)
CQ3	Diâmetro $\frac{1}{4}$	cm	Britton e Rose (1963)
CQ4	Diâmetro $\frac{3}{4}$	cm	Britton e Rose (1963)
CQ5	Distância entre aréolas	cm	Grimaldo-Juárez et al. (2007)

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (continuação).

Descritores quantitativos dos cladódios			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
CQ6	Comprimento aréola	mm	Britton e Rose (1963)
CQ7	Diâmetro aréola	mm	Britton e Rose (1963)
CQ8	Número de espinhos	und	Grimaldo-Juárez et al. (2007)
CQ9	Diâmetro do espinho	mm	UPOV (2011)
CQ10	Comprimento do espinho	mm	Grimaldo-Juárez et al. (2007)
CQ11	Altura do arco da costilha	cm	Grimaldo-Juárez et al. (2007)
CQ12	Altura da costilha	cm	Grimaldo-Juárez et al. (2007)
CQ13	Espessura da Costilha	mm	UPOV, 2011
Descritores qualitativos das flores			
Código	Descriptor	Valor /unidade de medida	Referência
RD1	Intensidade de vermelho das brácteas	1: fraco, 2: médio, 3: forte	UPOV (2011)
RD2	Cor da pétala	1: branco, 2: creme, 3: amarela, 4: lilás	UPOV (2011)
RD3	Cor principal da sépala	1: branco, 2: verde, 3: vermelho, 4: outra	UPOV (2011)
RD4	Cor secundária da sépala	1: a mesma da cor principal, 2: bordô, 3: rajado	Britton e Rose (1963)
RD5	Cor do lóbulo do estigma	1: creme, 2: verde	Britton e Rose (1963)
RD6	Posição das anteras em relação ao estigma	1: abaixo, 2: mesmo nível, 3: acima	Britton e Rose (1963)
Descritores quantitativos das flores			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
RQ1	Comprimento do perianto	cm	Britton e Rose (1963)

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (continuação).

Descritores quantitativos das flores			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
RQ2	Comprimento estilete	cm	Britton e Rose (1963)
RQ3	Número de lóbulos do estigma	und	Britton e Rose (1963)
RQ4	Comprimento das pétalas	cm	UPOV (2011)
RQ5	Diâmetro do ovário	cm	UPOV (2011)
RQ6	Comprimento do ovário	cm	UPOV, 2011
RQ7	Comprimento do estigma	cm	Britton e Rose (1963)
RQ8	Comprimento dos filetes	cm	Britton e Rose (1963)
RQ9	Comprimento da antera	mm	Britton e Rose (1963)
RQ10	Diâmetro da antera	mm	Britton e Rose (1963)
RQ11	Comprimento da base do estigma à antera distal	cm	UPOV (2011)

Descritores qualitativos dos frutos			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
FD1	Posição das brácteas em relação à exoderme	1: alinhadas, 2: levemente desalinhadas, 3: muito desalinhadas	UPOV (2011)
FD2	Cor das brácteas medias	1:verde amarelado,2: verde, 3: lilás, 4: vermelho	Britton e Rose (1963)
FD3	Cor da Polpa	1: branca, 2: cinza claro, 3: rosa claro,4: rosa médio, 5: rosa escuro, 6:vermelho claro, 7: vermelho médio, 8: vermelho escuro, 9: púrpura	Tao et al. (2014)
FD4	Formato do fruto	1: circular, 2: oval, 3: achatado	Britton e Rose (1963)
FD5	Cor do exocarpo	1: branco, 2: amarela, 3: verde, 4: rosa médio, 5: lilás, 6: vermelha, 7: púrpura	Tao et al. (2014)

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (conclusão).

Descritores qualitativos dos frutos			
Código	Descriptor	Valor/unidade de medida	Referência
FD6	Cavidade apical	1: ausente, 2: média, 3: profunda	UPOV (2011)
Descritores qualitativos dos frutos			
Código	Descriptor	Valor /unidade de medida	Referência
FQ1	Número de brácteas	und	Britton e Rose (1963)
FQ2	Comprimento das brácteas apicais	cm	Britton e Rose (1963)
FQ3	Diâmetro basal das brácteas	cm	Britton e Rose (1963)
FQ4	Comprimento do fruto	cm	Lima et al. (2013)
FQ5	Sólido solúveis	Brix	Lima et al. (2013)
FQ6	Massa de 100 sementes	g	Britton e Rose (1963)
FQ7	Espessura da exoderme	mm	Lima et al. (2013)
FQ8	Massa do fruto	g	Lima et al. (2013)
FQ9	Massa da polpa	g	Lima et al. (2013)
FQ10	Diâmetro do fruto	cm	Lima et al. (2013)

Para realizar as análises estatísticas os dados foram agrupados em duas categorias: dados quantitativos e dados qualitativos. Foi feita a padronização dos dados quantitativos originais em X_j ($j=1, 2, \dots, p$) para Z_j (com média 0 e desvio padrão 1).

Para otimização dos descritores morfoagronômicos foram feitas análises multivariadas: análise de componentes principais (ACP), aplicado métodos de descarte de Jolliffe (1972) para redução do número de variáveis analisadas e o método de Singh (1981) de aferição da importância relativa dos descritores para a diferenciação dos acessos.

A ACP foi realizada com o auxílio do programa R, comando prcomp do pacote vegan (Oksanen *et al.*, 2015). O método descarte de Jolliffe (1972) consiste no descarte da variável de maior autovetor (valor absoluto) no componente principal de menor autovalor (menor significância) dos autovalores inferiores a 0,7. Então foi realizada nova ACP com os descritores mantidos com a finalidade observar a eficácia do descarte. A metodologia de Singh (1981) que foi utilizada para obter a importância relativa das variáveis foi feita pelo comando singh do pacote biotools (Silva; Malafaia; Menezes, 2017) no programa R. Então os descritores mantidos quantitativos foram analisados pela estatística descritiva e apresentados em boxplots e os descritores mantidos qualitativos foram apresentados em gráficos de setores.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram descartados pelo critério de Jolliffe (1973) 11 (55%) dos 20 descritores qualitativos e 14 (41,17%) dos 34 descritores quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. Após o descarte de variáveis, os dois primeiros componentes principais dos descritores qualitativos concentraram 95,67% (Tabela 3) da variância e os três primeiros componentes principais dos descritores quantitativos concentraram 73,47% da variância total, sendo que antes do descarte era de 57,47% e 66,37% (Tabela 3), respectivamente, demonstrando que o descarte de variáveis foi adequado segundo Jolliffe (2002) e Lever, Krzywinski e Altman (2017).

Tabela 3. Análise de componentes principais (ACP) dos autovalores maiores que 0,7.

Componentes principais (CP), autovalores (λ) e contribuição de cada componente principal na explicação da variância total (VCP) dos descritores qualitativos e quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.

ACP dos Descritores Qualitativos			
Componentes	λ_i	VCP	VCP acumulada
CP1	1,2514	0,3948	39,48%
CP2	0,8449	0,1800	57,47%
CP3	0,7929	0,1213	69,58%
CP4	0,7337	0,0771	79,70%
CP5	0,7044	0,0568	87,41%
CP6	0,7029	0,0472	93,08%
ACP dos Descritores Quantitativos			
Componentes	λ_i	VCP	VCP acumulada
CP1	2,098	0,3386	33,86%
CP2	1,5838	0,193	53,15%
CP3	1,3106	0,1321	66,37%
CP4	1,0671	0,0876	75,13%
CP5	0,9508	0,0557	80,69%
CP6	0,8547	0,0438	85,08%
CP7	0,8376	0,0418	89,26%
CP8	0,7613	0,0336	92,62%
CP9	0,7286	0,0304	95,66%
CP10	0,7168	0,0182	97,49%
CP11	0,7055	0,0126	98,75%

Tabela 4. Análise de componentes principais (ACP) dos autovalores após o descarte. Componentes principais (CP), autovalores (λ) e contribuição de cada componente principal na explicação da variância total (VCP) dos descritores qualitativos e quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.

ACP dos Descritores Qualitativos			
Componentes	λ_i	VCP	VCP acumulada
CP1	2,9282	0,6797	67,97%
CP2	1,1506	0,277	95,67%
CP3	1,0966	0,0155	97,22%
CP4	0,7001	0,0103	98,25%
CP5	0,5518	0,0017	98,42%
CP6	0,2767	0,0012	98,54%
ACP dos Descritores Quantitativos			
Componentes	λ_i	VCP	VCP acumulada
CP1	1,5807	0,3569	35,69%
CP2	1,5113	0,2176	57,45%
CP3	1,2654	0,1602	73,47%
CP4	1,2341	0,1051	83,97%
CP5	1,0589	0,0869	92,66%
CP6	1,038	0,0279	94,45%
CP7	0,8575	0,0204	96,44%
CP8	0,8378	0,011	97,54%
CP9	0,7798	0,0082	98,36%
CP10	0,6893	0,0071	99,07%
CP11	0,197	0,0023	99,3%

A Tabela 5 elenca os descritores mantidos após o descarte. Dos 9 descritores qualitativos mantidos 3 foram referentes ao cladódio, 3 referentes à flor e 3 referentes ao fruto. Já dos 20 descritores quantitativos 6 foram referentes aos cladódios, 7 às flores e 7 referentes aos frutos. Essa otimização da quantidade de descritores utilizados em um programa de melhoramento torna mais célere o processo de caracterização. Tao *et al.* (2014) utilizaram 9 descritores qualitativos na caracterização e estudo da diversidade de 50 acessos de pitaieiras das espécies *S. undatus* e *S. monocanthus* sendo 3 (cor do exocarpo, cor da polpa e borda da costilha) condizentes com os elencados neste estudo. Grimaldo-Juárez *et al.* (2007) relatam que a menor quantidade de descritores avaliados para a caracterização da pitaieira economiza recursos humanos e financeiros e permite a caracterização e avaliação dos genótipos sem perda de informações relevantes desde que essa otimização seja embasada em critérios matemáticos consolidados como o é a ACP.

Tabela 5. Descritores morfoagronômicos de pitaieiras utilizados para a caracterização de 25 acessos da coleção de germoplasma da UFRRJ.

Descritores qualitativos	
Código	Descriptor
CD2	Cerosidade do cladódio
CD4	Cor do cladódio
CD7	Borda da costilha
RD1	Intensidade de vermelho das brácteas
RD2	Cor da pétala
RD3	Cor principal da sépala
FD3	Cor da polpa
FD5	Cor do exocarpo
FD6	Cavidade apical

Descritores quantitativos	
Código	Descriptor
CQ1	Comprimento do cladódio
CQ2	Diâmetro do cladódio 1\2
CQ5	Diâmetro da aréola
CQ8	Número de espinhos
CQ10	Comprimento dos espinhos
CQ12	Altura da costilha
RQ1	Comprimento do perianto
RQ2	Comprimento do estilete
RQ4	Comprimento das pétalas
RQ8	Comprimento dos filetes
RQ9	Comprimento das anteras
RQ10	Diâmetro da antera
RQ11	Distância da base do estigma à antera distal
FQ1	Número de brácteas
FQ3	Diâmetro da base das brácteas
FQ5	Sólidos solúveis
FQ6	Massa de 100 sementes
FQ7	Espessura da exoderme
FQ9	Massa da polpa

A importância relativa dos descritores qualitativos foi calculada pelo método de Singh (1981) e são demonstrados na Figura 4. A característica qualitativa mais importante para diferenciação dos 25 acessos segundo essa metodologia é a cor da polpa dos frutos (27,32%), seguidos pela intensidade de vermelho das brácteas das flores (15,23%), formato da borda da costilha dos cladódios (13,47%), cor das pétalas (12,69%), cor do cladódio (12,18%), cerosidade do cladódio (7,36%), cor do exocarpo (5,58%), cor principal da sépala (5,08%) e cavidade apical (1,09%).

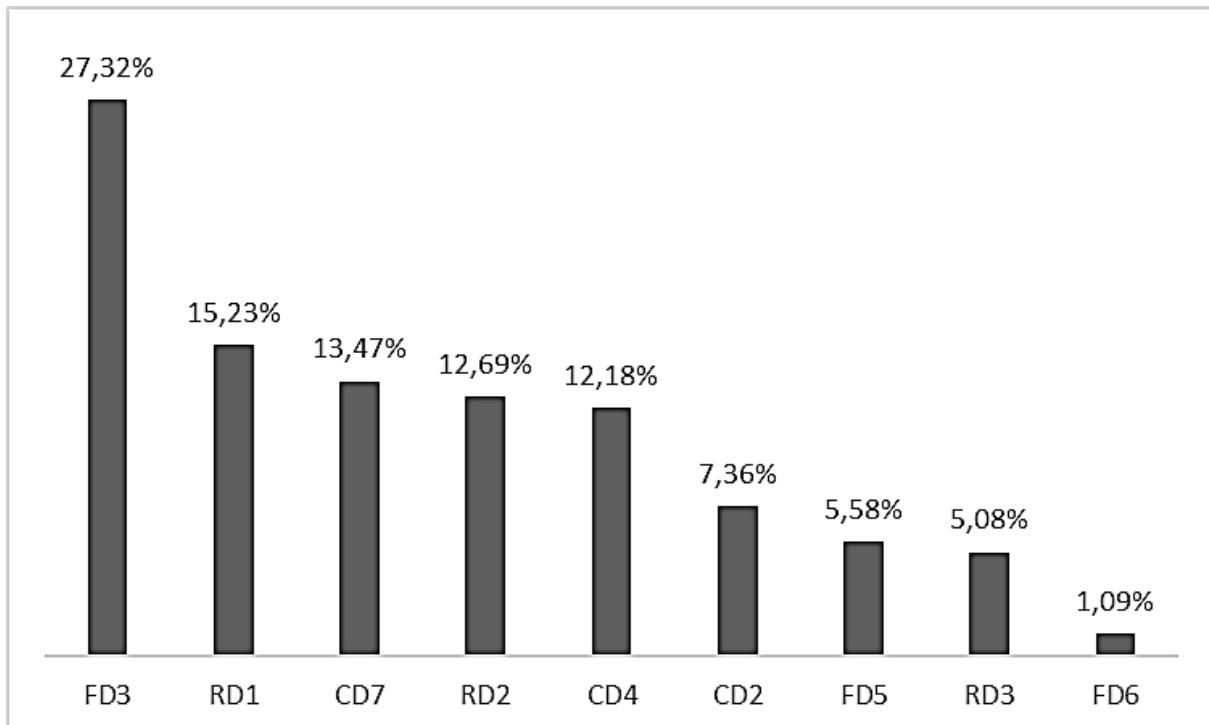


Figura 4. Importância relativa dos descritores qualitativos de 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. Onde: FD3 – Cor da polpa, RD1- Intensidade de vermelho das brácteas, CD7- Borda da Costilha, RD2- Cor da pétala, CD4 – Cor do cladódio, CD2- Cerosidade do cladódio, FD5 – Cor do exocarpo, RD3 – Cor principal da sépala e FD6 – Cavidade apical.

A coloração da polpa do fruto predominante nos acessos estudados foi a branca com 52% (Figura 5), que é intrínseca às espécies *S. undatus* e *S. setaceus*, sendo que nesta espécie também prevalece a polpa translúcida (12%). A cor da polpa e do exocarpo são atrativos aos consumidores por sua exuberância e a presença de betalaínas e betaxantinas que são proteínas pigmentares que possuem ação antioxidante e podem ser utilizadas na indústria alimentícia como corantes naturais (Mello *et al.*, 2014). Já a cavidade apical do fruto, que é uma cicatriz deixada pelos restos florais, foi a característica menos importante (1,09%).

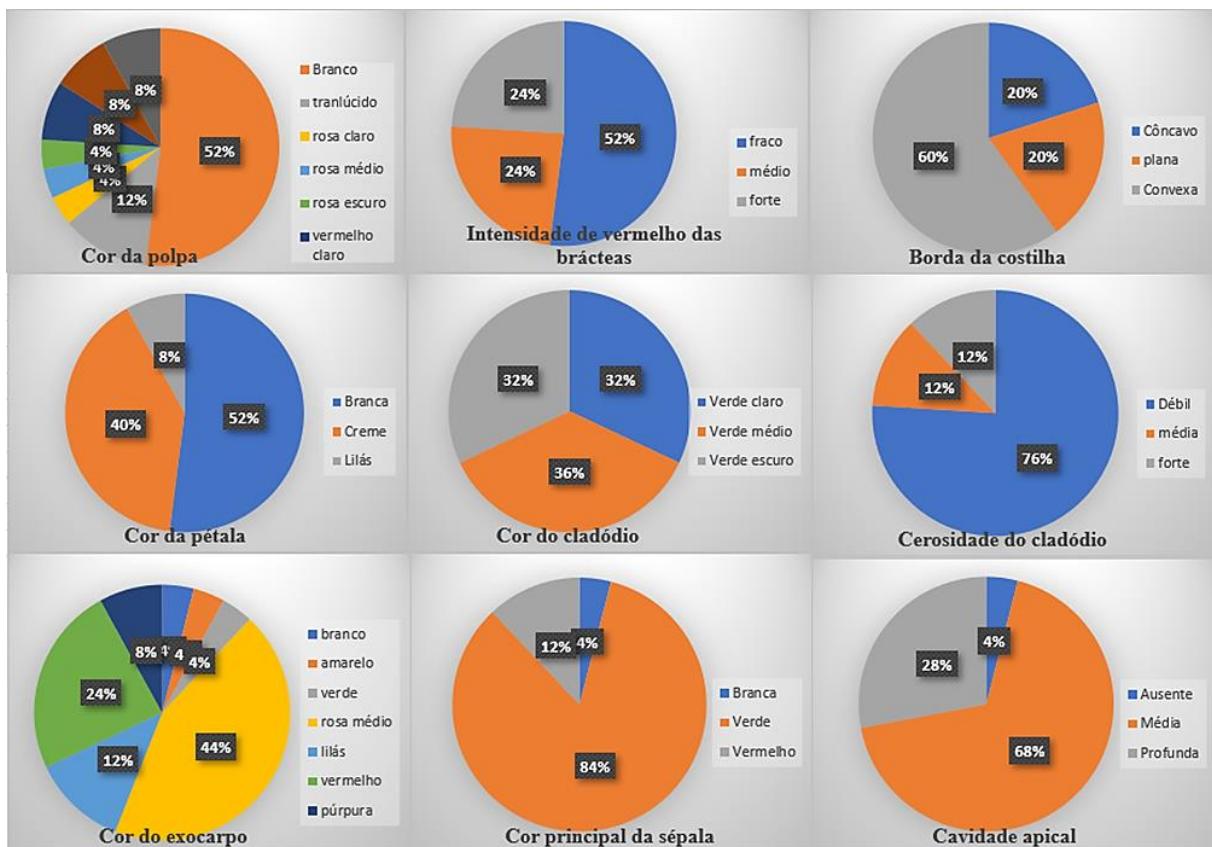


Figura 5. Gráfico de setores da caracterização qualitativa de 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.

A intensidade de vermelho brácteas que teve predominância nos 25 acessos estudados foi o tom fraco (52%) preponderando nas espécies *S. undatus* e *S. setaceus* enquanto os híbridos tiveram tons médios e fortes de vermelho nas brácteas. A coloração branca e creme que juntas perfazem 92% nas pétalas e 84% nas sépalas estão relacionadas com a antese noturna e as síndromes esfingofilia e quiropterofilia (Lichtenzveig *et al.*, 2000).

As características qualitativas mais importantes dos cladódios foram a prevalência de costilha convexa (60%) e cerosidade aparente fraca ou débil (76%). A graduação de verde dos cladódios da coleção possui distribuição equivalente entre os tons claros (32%) e escuro (32%) e médio (36%). O formato da borda da costilha apresenta-se importante em alguns estudos de separação taxonômica da pitaieira (Britton; Rose, 1963), já a cerosidade do cladódio relaciona-se com adaptações das cactáceas ao estresse hídrico e intensidade luminosa (Dettkke; Milaneze-Gutierrez, 2008).

Os descritores quantitativos mantidos após o descarte de variáveis da coleção de pitaieiras da UFRRJ tiveram sua importância relativa calculada pelo método de Singh (1981) e são mostradas na Figura 6. Nota-se que dos 10 descritores mais importantes 2 foram referentes às flores (comprimento do perianto com 6,40% e comprimento das pétalas com 6,33%), 6 foram referentes aos frutos (número de brácteas com 5,77%, espessura da exoderme com 5,73%, massa da polpa com 5,57%, massa de 100 sementes com 5,49%, teor de sólidos solúveis com 5,47% e diâmetro basal das brácteas com 5,27%) e 2 referentes ao cladódio (diâmetro do cladódio com 5,43% e distância entre areolas com 5,33%).

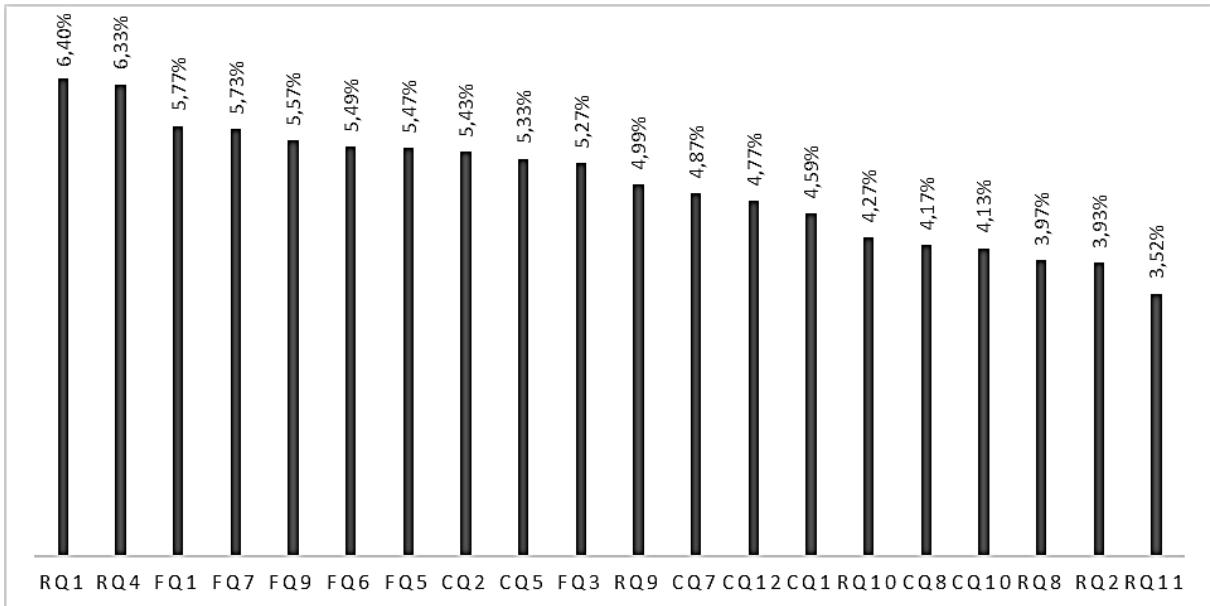


Figura 6. Importância relativa dos descritores quantitativos dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. RQ1 - comprimento do perianto, RQ4 - comprimento das pétalas, FQ1- número de brácteas do fruto, FQ7- espessura da exoderme do fruto, FQ9- Massa da polpa, FQ6- Massa de 100 sementes, FQ5- sólidos solúveis, CQ2- diâmetro do cladódio, CQ5- Distância entre areóolas, FQ3- diâmetro basal das brácteas, RQ9 - comprimento das anteras, CQ7- diâmetro da areóla, CQ12 - altura da costilha, CQ1 - Comprimento do cladódio, RQ10 - diâmetro da antera, CQ8 - número de espinhos, CQ10 - Comprimento do espinho, RQ8- comprimento dos filetes, RQ2 - comprimento do estilete, RQ11 – comprimento da base do estigma à antera.

Lima, Faleiro e Junqueira (2013a) que analisaram características físico-química de frutos de pitaieiras das espécies *S. undatus* (sin. *H. undatus*) e *S. setaceus*, relataram que a massa total do fruto, seguido pela massa da polpa dos frutos foram os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética dos acessos estudados. Silva *et al.* (2017) que analisaram 45 híbridos de *S. undatus* (sin. *H. undatus*) com *S. setaceus* e seus 6 parentais encontraram que as características dos cladódios mais importantes foram o comprimento do cladódio, seu diâmetro e a distância entre as areóolas.

O comprimento do perianto obteve média de 38,34 cm (Figura 7) e valores mínimo de 29 cm e máximo de 51,53 cm (Figura 7). As pétalas tiveram tamanho médio de 27,04 cm, mínimo de 18 cm e máximo de 37,08 cm (Figura 7). As anteras tiveram comprimento médio de 5,15 mm, valor mínimo de 2,7 mm e máximo de 9,06 mm e diâmetro médio de 1,81 mm, mínimo de 0,75 mm e máximo de 2,75 mm (Figura 7). O estilete teve comprimento médio de 16,10 cm, com valor mínimo de 7,60 cm e máximo de 21,20 cm (Figura 7). A distância média entre base do estigma a antera foi de 6,14 cm, com distância mínima nula e máxima de 13,78cm (Figura 7). O conhecimento do tamanho das estruturas reprodutivas das pitaieiras é importante para sua manipulação com finalidade de polinização (Weiss; Nerd; Mizrahi, 1994; Nerd; Mizrahi, 1996), pois alguns clones de pitaieiras podem apresentar auto incompatibilidade por causa da heterostilia, de fato, Fernandes *et al.* (2010) descreve o estigma localizado em nível superior às anteras favorecendo a alogamia.

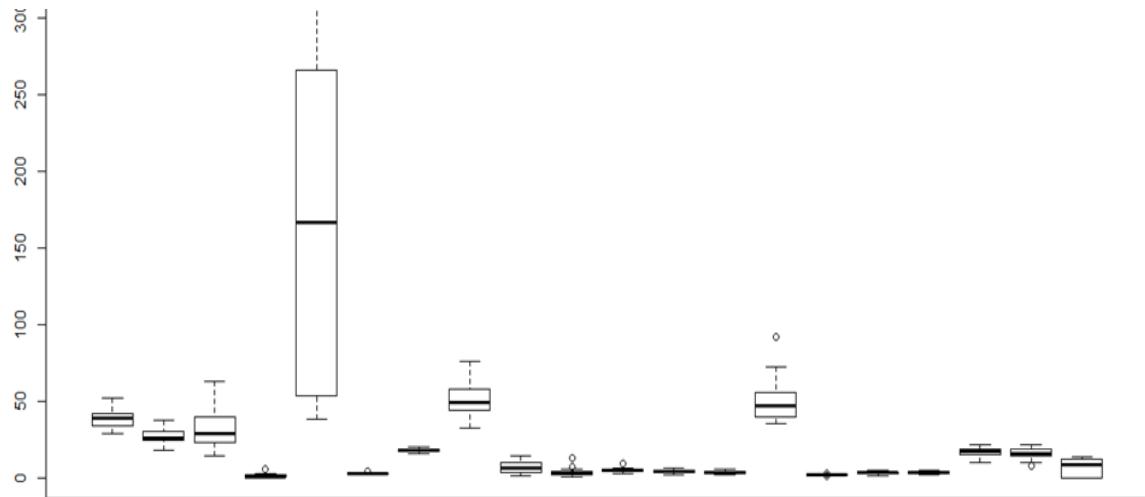


Figura 7. Boxplot's dos descritores quantitativos utilizados para caracterizar 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRJ. RQ1 - comprimento do perianto, RQ4 -comprimento das pétalas, FQ1- número de brácteas do fruto, FQ7- espessura da exoderme do fruto, FQ9- Massa da polpa, FQ6- Massa de 100 sementes, FQ5- sólidos solúveis, CQ2- diâmetro do cladódio, CQ5- Distância entre areolas, FQ3- diâmetro basal das brácteas, RQ9 - comprimento das anteras, CQ7- diâmetro da areola, CQ12 - altura da costilha, CQ1 - Comprimento do cladódio, RQ10 - diâmetro da antera, CQ8 - número de espinhos, CQ10 - Comprimento do espinho, RQ8- comprimento dos filetes, RQ2 - comprimento do estilete, RQ11 – comprimento da base do estigma à antera.

Notadamente, os aspectos relacionados aos frutos são importantes em uma coleção de germoplasma de pitaieiras (Junqueira *et al.*, 2010; Lima; Faleiro; Junqueira, 2013), por ser o órgão comercial e mais apreciado desta cactácea (Bellec; Vaillant; Imbert, 2006). No presente estudo, a quantidade média de brácteas no fruto foi de 30,92 com mínimo de 14 e máximo de 63 brácteas por fruto (Figura 7). A espessura da exoderme teve média de 1,07 mm, com mínima de 0,1 mm e valor máximo de 5,6 mm (Figura 7). A massa de 100 sementes obteve média de 2,81 g, com mínimo de 2,3 g e máximo de 3,8 g (Figura 7).

O teor médio de sólidos solúveis presente nos frutos foi de 17,95 °Brix, com mínimo registrado de 15,30 Brix e máximo de 19,8 Brix (Figura 7). Lima, Faleiro e Junqueira (2013a) registraram média de 16,5 Brix no terço superior dos frutos de pitaieiras analisados em seus estudos. O diâmetro basal das brácteas teve média de 3,36 cm, com valor mínimo de 0,5 cm e máximo de 12,54 cm (Figura 7).

Silva *et al.* (2017) relataram que os caracteres mais importantes na estimativa da diversidade dos acessos de pitaieiras por meio de características dos cladódios foram o comprimento, seguido pelo seu diâmetro e a distância entre areolas. Neste trabalho o comprimento médio dos cladódios dos 25 acessos de pitaieiras da coleção da UFRJ foi de 50,35 cm, com mínimo de 32,18 cm e máximo de 76,08 cm (Figura 7). A distância média entre as areolas foi de 2,9 cm, com mínima de 2,8 e máxima de 4,1 cm (Figura 7) e seu diâmetro teve média de 4,16 mm, mínimo de 1,76 mm máximo 6,36 mm (Figura 7). A altura da costilha teve média de 3,25 cm, com mínima de 1,8 cm e máxima de 5,1 cm (Figura 7). O comprimento médio nos cladódios foi de 49,30 cm, com mínimo de 35 cm e máximo de 92 cm (Figura 7). Quanto aos espinhos, a média encontrada por areola foi de 3,12 espinhos, com mínimo de 1,4 espinhos e máximo de 4,6 espinhos, com diâmetro médio na sua base de 3,39 mm, mínimo de 1,60 mm e diâmetro máximo de 4,7 mm.

De certo que outras avaliações agronômicas como índices de produtividade, resistência ou tolerância a pragas e patógenos são necessários em um programa de seleção e melhoramento de pitaieiras, porém a caracterização morfoagronômica inicial, a otimização e levantamento da importância relativa dos descritores realizada neste estudo pretende diminuir o gasto de recursos nas pesquisas e nas etapas seguintes e dar suporte ao levantamento de acessos promissores e diversidade existente.

3.6 CONCLUSÕES

Os descritores qualitativos cor da polpa do fruto, a intensidade de vermelho das brácteas das flores e o formato da borda da costilha do cladódio e os descritores quantitativos relativos aos frutos (número de brácteas, espessura da exoderme e massa da polpa) e flores (comprimento do perianto e comprimento das pétalas) são os mais relevantes na caracterização da coleção de pitaieiras da UFRRJ.

O aumento de concentração da variação total acumulada (VCP) nos dois primeiros componentes principais (CP) na análise de componentes principais (ACP) após o descarte de variáveis evidencia que a caracterização pode ser feita com um número reduzido de descritores sem perda da qualidade da informação com redução de custos no manejo de uma coleção de germoplasma de pitaieiras.

Há na coleção de germoplasma da UFRRJ acessos com potencial comercial evidenciados pelos descritores dos frutos (cor, massa e quantidade de sólidos solúveis presentes na polpa dos frutos).

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLEC, F. L.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, n. 4, p. 237–250, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/fruits:2006021>

BRASIL. **Ato n.º 6, de 8 de maio de 2019**. O Serviço Nacional de Proteção de Cultivares divulga os descritores mínimos para a proteção de cultivares de PITAIA, conforme previsto na Lei n.º 9.456/1997 e no Decreto n.º 2.366/1997, e conforme o Processo n.º 21000.007726/2015-38. O formulário estará disponível online. 2019. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/INSDAn7_2019_excluiPQAs.pdf

BRITTON, N. L.; ROSE, J. N. **The Cactaceae**. Revised edição ed. New York: Dover Publications, 1963.

CHOO, K. Y.; KHO, C.; ONG, Y.; THOO, Y. Y.; LIM, L. H.; TAN, C. P.; HO, C. W. Fermentation of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) for betalains concentration. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 6, p. 2539–2546, 2018.

DETTKE, G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Anatomia caulinar de espécies epífitas de Cactaceae, subfamília Cactoideae. **Hoehnea**, v. 35, n. 4, p. 583–595, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S2236-89062008000400010>

DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 1, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000300001>

FERNANDES, L. M. S.; VIEITES, R. L.; CERQUEIRA, R. C.; BRAGA, C. L.; SIRTOLI, L. F.; AMARAL, J. L. Características pós-colheita em frutos de pitaia orgânica submetida a diferentes doses de irradiação. **Biodiversidade**, v. 9, n. 1, p. 8, 2010.

GRIMALDO-JUÁREZ, O.; TERRAZAS, T.; GARCÍA-VELÁSQUEZ, A.; CRUZ-VILLAGAS, M.; PONCE-MEDINA, J. Morphometric Analysis of 21 Pitahaya (*Hylocereus undatus*) Genotypes. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v. 9, p. 19, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário**. [s. l.], 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html>. Acesso em: 23 fev. 2018.

JOLLIFFE, I. T. Discarding Variables in a Principal Component Analysis. I: Artificial Data. **Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)**, v. 21, n. 2, p. 160–173, 1972. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2346488>

JOLLIFFE, I. T. Discarding Variables in a Principal Component Analysis. II: Real Data. **Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)**, v. 22, n. 1, p. 21–31, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2346300>

JOLLIFFE, I. T. **Principal Component Analysis**. 2. ed. New York: Springer, 2002.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; LIMA, C. A.; SOUZA, L. S. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 819–824, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000104>

LEVER, J.; KRZYWINSKI, M.; ALTMAN, N. Principal component analysis. **Nature Methods**, v. 14, n. 7, p. 641–642, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nmeth.4346>

LICHTENZVEIG, J.; ABBO, S.; NERD, A.; TEL-ZUR, N.; MIZRAHI, Y. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 7, p. 1058–1065, 2000.

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Diversidade genética intra e interespecífica de pitaya com base nas características físico-químicas de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1066–1072, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400018>

MELLO, F. R.; BERNARDO, C.; DIAS, C. O.; GONZAGA, L.; AMANTE, E. R.; FETT, R.; CANDIDO, L. M. B. Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 323–328, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140548>

MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 124–138, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-2945-452/13>

NERD, A.; MIZRAHI, Y. Reproductive Biology of Cactus Fruit Crops. In: JANICK, J. (org.). **Horticultural Reviews**. 1. ed. New York: Wiley, 1996. p. 321–346. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470650608.ch7>. Acesso em: 23 fev. 2024.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; KINTDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P.; O'HARA, B.; SIMPSON, G.; SOLYMOS, P.; STEVENS, H.; WAGNER, H. Vegan: Community Ecology Package. **R Package Version 2.2-1**, v. 2, p. 1–2, 2015.

PAIVA, A. L. C.; TEIXEIRA, R. B.; YAMAKI, M.; MENEZES, G. R. O.; LEITE, C. D. S.; TORRES, R. A. Análise de componentes principais em características de produção de aves de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, p. 285–288, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000200009>

RONOH, R.; LINDE, M.; WINKELMANN, T.; ABUKUTSA-ONYANGO, M.; DINSSA, F. F.; DEBENER, T. Morphological characterization, genetic diversity and population structure of African nightshades (section *Solanum* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 66, n. 1, p. 105–120, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0700-z>

SILVA, A. C. C.; SABIÃO, R. R.; CHIAMOLERA, F. M.; SEGANTINI, D. M.; MARTINS, A. B. G. Morphological traits as tool to verify genetic variability of interspecific dragon fruit hybrids. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017168>

SILVA, A. R.; MALAFAIA, G.; MENEZES, I. P. P. Biotools: an R function to predict spatial gene diversity via an individual-based approach. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, p. 6, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4238/gmr16029655>

SINGH, D. The Relative Importance of Characters Affecting Genetic Divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 41, p. 237–245, 1981.

STRAPASSON, E.; VENCOVSKY, R.; BATISTA, L. A. R. Seleção de descritores na caracterização de germoplasma de Paspalum sp. por meio de componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 373–381, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982000000200008>

TAO, J.; QIAO, G.; WEN, X.-P.; GAO, G.-L.; LIU, T.; PENG, Z.-J.; CAI, Y.-Q.; CHEN, N.; YAN, F.-X.; ZHANG, B.-X. Characterization of genetic relationship of dragon fruit accessions (*Hylocereus* spp.) by morphological traits and ISSR markers. **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 82–88, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.03.006>

UPOV-INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS. **Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability – dragon fruit**. Geneva, EUA: UPOV, 2011. Disponível em: <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg271.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2024.

WEISS, J.; NERD, A.; MIZRAHI, Y. Flowering Behavior and Pollination Requirements in Climbing Cacti with Fruit Crop Potential. **HortScience**, v. 29, n. 12, p. 1487–1492, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.12.1487>

4 CAPÍTULO II

DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE PITAYA BASEADA EM CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONOMICAS

4.1 RESUMO

A pitaieira é uma nova frutífera cultivada no mundo com potencial mercadológico crescente, porém seu melhoramento e estudo da sua diversidade é incipiente. Este trabalho tem o objetivo estimar a divergência genética com base em dados qualitativos e quantitativos de acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ. Foram utilizados 25 acessos do banco de germoplasma da UFRRJ e analisados 9 descritores qualitativos e 20 quantitativos. Estimou-se a dissimilaridade pelo algoritmo de Gower, utilizou-se as técnicas de agrupamentos UPGMA e Tocher. Foram formados 6 e 5 grupos, pelo agrupamento UPGMA e Tocher, respectivamente e os grupos foram condizentes com a classificação taxonômica e origem dos acessos indicando que há variabilidade genética na coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ evidenciada pelos descritores morfoagronômicos. Os acessos HuxHp1, HixHi2, Hs4 e HmxHi mostram-se promissores na obtenção de frutos de pitaia de alta qualidade e para futuras hibridações.

Palavras-Chave: *Selenicereus* spp.. Germoplasma. UPGMA. Tocher.

4.2 ABSTRACT

The dragon fruit is a new fruit cultivated in the world with growing market potential, however its breeding and study of its diversity is incipient. This work aims to estimate genetic divergence based on qualitative and quantitative data on accessions of pitaieiras from the UFRRJ germplasm collection. 25 accessions from the germplasm bank of UFRRJ were used and 9 qualitative and 20 quantitative descriptors were analyzed. The dissimilarity was estimated by the Gower algorithm, the UPGMA and Tocher clustering techniques were used. Six and five groups were formed, by the UPGMA and Tocher grouping, respectively, and the groups were consistent with the taxonomic classification and origin of the accessions, indicating that there is genetic variability in the dragon fruit UFRRJ collection of germplasm evidenced by the morpho-agronomic descriptors. The HuxHp1, HixHi2, Hs4 and HmxHi accessions are promising in obtaining high quality pitaya fruits and for future hybridizations.

Key Words: *Selenicereus spp.*. Germplasm. UPGMA. Tocher.

4.3 INTRODUÇÃO

Pitaya é o fruto de cactáceas epífitas que ocorrem naturalmente no continente americano desde o sul dos Estados Unidos ao norte do Uruguai (Mizrahi, 2014; Korotkova; Borsch; Arias, 2017). No Brasil, pitaieiras são encontradas em todos os biomas e são conhecidas pelos nomes populares: pitaia (pitaya), pitaia do cerrado, tuia, dama-da-noite, flor-da-noite e saborosa. A demanda por essa fruta tem aumentado sua importância econômica e fomentado pesquisas que visam aumentar a produtividade e qualidade dos seus frutos com consequente criação coleções de germoplasma com finalidade de melhoramento genético dessa frutífera (Junqueira *et al.*, 2010; Tao *et al.*, 2014).

Marcadores morfoagronômicos das pitaieiras são utilizados para caracterizar tais coleções e estimar a divergência genética existente (Lima; Faleiro; Junqueira, 2013; Silva *et al.*, 2017). Esses tipos de marcadores são baratos e simples de serem obtidos pois requerem observações e mensurações visuais, instrumentação, reagentes e protocolos acessíveis. Essas observações produzem dados qualitativos e quantitativos que podem ser analisados conjuntamente para se obter uma matriz de dissimilaridade entre os acessos (Gower, 1971; Couto, 2018).

A Universidade Federal do Rio de Janeiro mantém uma coleção de germoplasma de pitaieiras com a finalidade de iniciar um programa de melhoramento e indicar acessos promissores aos produtores rurais do Estado do Rio de Janeiro que carecem de alternativas de frutíferas com valor agregado adaptadas às suas condições edafoclimáticas. Tendo em vista a necessidade de caracterização e levantamento da variabilidade genética dessa coleção, o objetivo deste trabalho foi estimar a divergência genética com base em dados morfoagronômicos de acessos de pitaieiras e apontar os acessos promissores com base nestas características.

4.4 MATERIAIS E MÉTODOS

O material vegetal utilizado neste trabalho pertence à coleção de germoplasma de pitaieiras da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado na cidade de Campos dos Goytacazes, RJ ($21^{\circ}45'14"S$ e $41^{\circ}19'26"W$, a 14 m de altitude). A Tabela 6 contém a lista dos acessos de pitaieiras utilizadas no presente estudo, códigos de identificação das espécies.

Tabela 6. Acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.

Código	Espécie
Hu1	<i>S. undatus</i>
Hu2	<i>S. undatus</i>
Hu3	<i>S. undatus</i>
Hu4	<i>S. undatus</i>
Hu5	<i>S. undatus</i>
Hp1	<i>S. monanthus</i>
Hp2	<i>S. polyrhizus</i>
Hi1	<i>Selenicereus</i> sp.
Hi2	<i>Selenicereus</i> sp.
Hi3	<i>Selenicereus</i> sp.
Hc1	<i>S. costaricenses</i>
Hc2	<i>S. costaricenses</i>
HmxHi	<i>S. megalaanthus</i> X <i>Selenicereus</i> sp.
Si1	<i>Selenicereus</i> sp.
Hs1	<i>S. setaceus</i>
Hs2	<i>S. setaceus</i>
Hs3	<i>S. setaceus</i>
Hs4	<i>S. Setaceus</i>
Si2	<i>Selenicereus</i> sp.
HixEi1	<i>Selenicereus</i> sp. X <i>Epiphilium</i> sp.
HixEi2	<i>Selenicereus</i> sp. X <i>Epiphilium</i> sp.
HuxHp1	<i>S. undatus</i> X <i>S. polyrhizus</i>
HuxHp2	<i>S. polyrhizus</i> X <i>S. undatus</i>
HixHi1	<i>S. undatus</i> X <i>S. undatus</i>
HixHi2	<i>S. undatus</i> X <i>S. undatus</i>

Foram utilizados 9 descritores qualitativos e 20 quantitativos mais importantes para a diferenciação dos acessos da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ (Capítulo 1). Aos descritores qualitativos foram adotadas notas de 1 a n (sendo n o número de classes fenotípicas pertencentes a cada descritor). Os descritores utilizados foram: cerosidade do cladódio (1: débil, 2: média, 3: forte), cor do cladódio (1: verde claro, 2: verde médio, 3: verde escuro), borda da costilha (1:côncavo, 2: plana, 3: convexa), comprimento do cladódio (cm), diâmetro $\frac{1}{4}$ do cladódio (cm), distância entre aréolas (cm), diâmetro da aréola (mm), número de espinhos (un), comprimento do espinho (mm), altura da costilha (cm), cor da polpa (1: branca, 2: cinza claro, 3: rosa claro, 4: rosa médio, 5: rosa escuro, 6: vermelho claro, 7: vermelho médio, 8: vermelho escuro, 9: púrpura), cor do exocarpo (1: branco, 2: amarela, 3: verde, 4: rosa médio, 5: lilás, 6: vermelha, 7: púrpura), cavidade apical (1: ausente, 2: média, 3: profunda), número de brácteas

(un), diâmetro da base das brácteas (cm), sólidos solúveis (°Brix), massa de 100 sementes (g), espessura da exoderme (mm) e massa da polpa (g).

Foi feita a padronização dos dados originais em X_j ($j=1,2,\dots,p$) para Z_j (com média 0 e desvio padrão 1). A matriz de distância (dissimilaridade) genética foi obtida pelo algoritmo de Gower (1971) utilizando a métrica gower do comando daisy do pacote cluster (Mächler *et al.*, 2012) do programa R. O algoritmo possibilita a análise conjunta de dados qualitativos e quantitativos, segundo a expressão:

$$S_{ijk} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}}, \text{ onde:}$$

K = o número de variáveis ($k = 1, \dots, p$); i e j = acessos; W_{ijk} = massa dado à comparação ijk , atribuindo valor **1** para comparações válidas e valor **0** para comparações inválidas (quando o valor da variável está ausente em um ou ambos indivíduos); S_{ijk} = contribuição da variável k na similaridade entre os indivíduos i e j , com valores entre **0** e **1**. Para uma variável qualitativa, se o valor da variável k é o mesmo para ambos os indivíduos, i e j , então $S_{ijk} = 1$, caso contrário, é igual a 0; para uma variável quantitativa $S_{ijk} = 1 - |x_{ik} - x_{jk}| / R_k$ onde x_{ik} e x_{jk} são os valores da variável k para os indivíduos i e j , respectivamente, e R_k é o intervalo, da variável k na amostra. A divisão por R_k elimina as diferenças entre escalas das variáveis, produzindo valor dentro do intervalo [0, 1] e massas iguais. Se a variável é qualitativa, S_{ijk} assume valor 1, quando há concordância positiva ou negativa para a característica k entre os indivíduos i e j ; e em caso contrário quando a variável quantitativa tem-se:

$$S_{ij} = \frac{|Y_{ik} - Y_{jk}|}{R_k} \text{ onde,}$$

R_k = amplitude de variação da variável k , assumindo valores 0 e 1 ou inteiros entre estes. O valor de W_{ijk} é um peso usado para definir as contribuições dos S_{ijk} 's individuais. Nesse aspecto, quando o valor da variável k é ausente em um ou ambos os indivíduos, $W_{ijk} = 0$, em caso contrário, igual a 1.

Utilizou-se a análise de agrupamento hierárquico *Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages* (UPGMA) pelo método average no comando hclust do pacote stats do programa R. Utilizou-se também o método de agrupamento por otimização Tocher do comando tocher do pacote biotools (Silva; Malafaia; Menezes, 2017) do programa R. A validação dos agrupamentos foi determinada pela análise do coeficiente de correlação cofenético.

Para analisar a relação entre os descritores morfoagronômicos e os acessos foi organizado um mapa de calor (heatmap) com a correlação de person das variáveis, pelo comando pheatmap do pacote pheatmap (Kolde, 2018) no programa R.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dissimilaridade média observada entre acessos foi de 0,539. Moura *et al.* (2010) utilizaram o algoritmo de Gower para estimar a dissimilaridade de pimentas do banco de germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) e verificaram dissimilaridade média entre os acessos de 0,40 concluindo que existe ampla variabilidade na coleção.

O agrupamento hierárquico (UPGMA) dos 25 acessos de pitaieras da coleção de germoplasma de pitaieras da UFRRJ é apresentado na Figura 8. A correlação cofenética obtida entre a matriz de distâncias e o dendrograma foi de 0,86 indicando um bom ajuste (Tao *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2017).

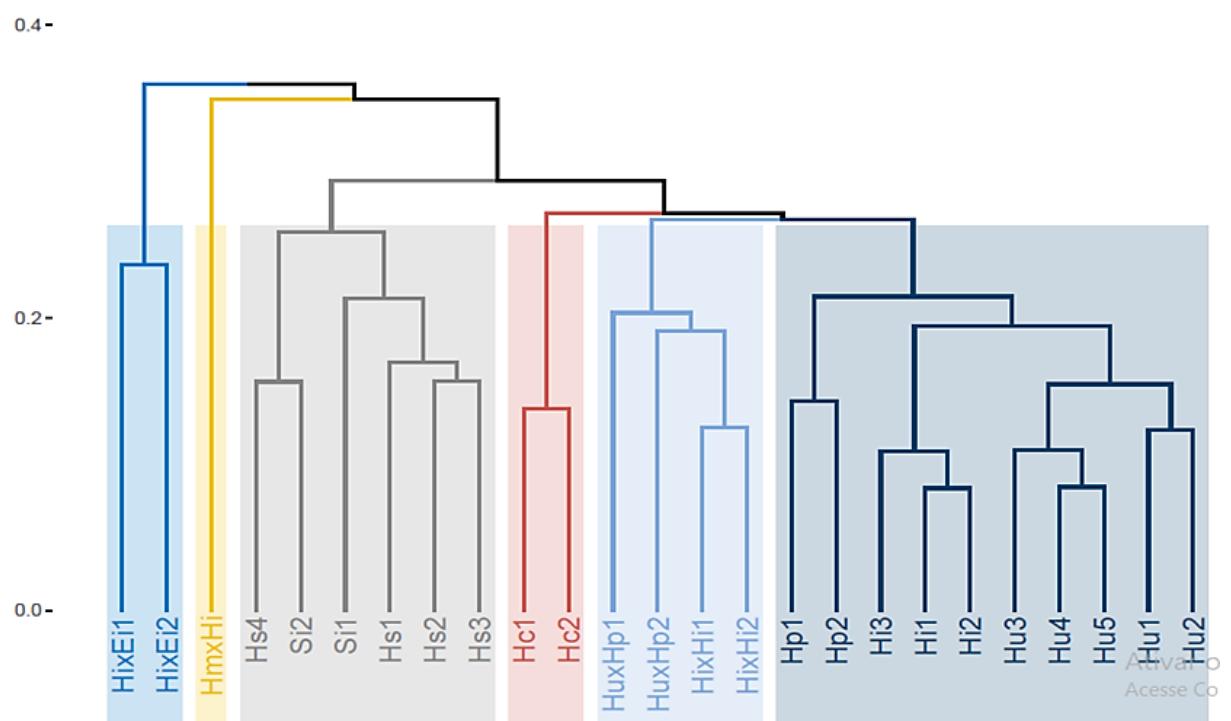


Figura 8. Dendrograma do agrupamento UPGMA baseado na dissimilaridade multicategórica de caracteres morfoagronômicos da coleção de germoplasma de pitaieras da UFRRJ. Cofenética UPGMA=0,86

As dissimilaridades altas entre HmxHi, HixEi1 e HixEi2 e os outros acessos (Figura 1) que foram encontradas no presente trabalho corroboram-se com as origens desses dois acessos. O primeiro é um híbrido interespecífico entre *Selenicereus* spp. e *Selenicereus megalanthus*, sendo que essa espécie é tetraplóide, possuindo evidências de sua origem uma hibridação natural entre *Selenicereus* spp. e *S. setaceus* (Tel-Zur, 2004). Já os acessos HixEi1 e HixEi2 são provenientes de cruzamentos entre os gêneros *Selenicereus* e *Epiphyllum*. As menores dissimilaridades (Figura 8) foram observadas entre acessos das mesmas espécies e as dissimilaridades intermediárias foram entre os híbridos interespecíficos.

Tomando como limiar o valor de 0,27 observa-se, no dendrograma, a formação de 6 grupos de similaridade. O maior grupo formado por 10 (40%) dos acessos estudados,

compreende as espécies *S. undatus*, *Selenicereus* spp. e *S. polyrhizus*. O segundo grupo é formado por 6 (24%) acessos englobando a espécie *S. setaceus* e *Selenicereus* spp. O terceiro maior grupo é composto de 4 (16%) acessos sendo estes híbridos. Dois grupos possuem 2 (8%) acessos, sendo um formado pelos acessos da espécie *S. costaricensis* e outro formado pelos híbridos dos gêneros *Selenicereus* e *Epiphyllum*. O acesso HmxHi isolado forma o menor grupo. Esses resultados indicam possibilidades de cruzamentos intergrupos, bem como, a necessidade de ampliar o número de acessos intragrupos para aumentar a base genética dessa coleção.

A Figura 9 é um mapa que relaciona os grupos formados pelo agrupamento UPGMA e correlação entre as características avaliadas. Nessa figura nota-se diferenças significativas ($p < 0,01$) no teor de sólidos solúveis (FQ5) entre os grupos. O grupo 1, formado por Hu2, Hu1, Hu5, Hu4, Hu3, Hi1, Hi3, Hi3, Hp1 e Hp2, possuindo cores de polpa de fruto branca (Hu2, Hu1, Hu5, Hu4, Hu3, Hi1, Hi3, Hi3) e vermelha (Hp1 e Hp2). Neste grupo encontram-se acessos com maiores frutos e massa de polpa, porém com menor média de sólido solúveis (15,3 Brix). Os cladódios possuem pouca cerosidade franca, costilha convexa, brácteas das flores com pigmentação vermelha ausente e estigma localizado acima do nível das anteras.

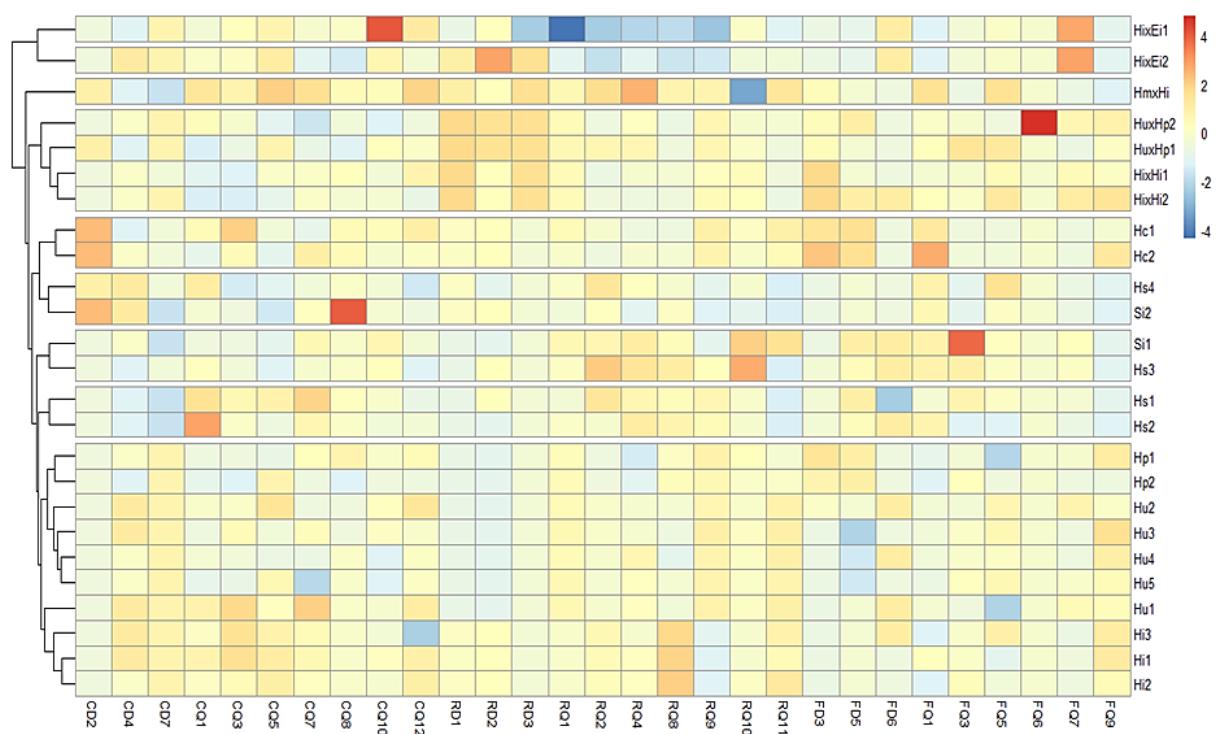


Figura 9. Mapa de calor demostrando os desvios de cada variável em cada genótipo em relação à média de todos os acessos. A barra indicativa de cores refere-se aos desvios padrão. Cerosidade do cladódio (CD2), cor do cladódio (CD4), borda da costela (CD7), comprimento do cladódio (CQ1), diâmetro $\frac{1}{4}$ do cladódio (CQ3), distância entre aréolas (CQ5), diâmetro da aréola (CQ7), número de espinhos (CQ8), comprimento do espinho (CQ10), altura da costilha (CQ12), intensidade de vermelho das brácteas (RD1), cor da pétala (RD2), cor principal da sépala (RD3), comprimento do perianto (RQ1), comprimento do estilete (RQ2), comprimento das pétalas (RQ4), comprimento dos filetes (RQ8), comprimento da antera (RQ9), diâmetro da antera (RQ10), distância da base do estigma à antera distal (RQ11), cor da polpa (FD3), cor do exocarpo (FD5), cavidade apical (FD6), número de brácteas (FO1), diâmetro da base das brácteas (FO3), sólidos solúveis (FQ5), massa de 100 sementes (FQ6), espessura da exoderme (FQ7) e massa da polpa (FQ9).

O grupo 2 é formado por 2 híbridos entre as espécies *S. undatus* e *S. polyrhizus* (HuxHp1, HuxHp2) e dois híbridos entre espécies não identificadas (HixHi1 e HixHi2) que apresentam cor da polpa rosácea a vermelha, flores com sépalas rajadas e brácteas com intenso vermelho, estigma 5 cm (média) acima do nível das anteras, frutos com teor médio de sólidos solúveis de 18,7 Brix. HuxHp2 apresenta as maiores sementes entre os todos os grupos.

O grupo 3 é formado por dois acessos (Hc1 e Hc2) ambos da espécie *S. costaricenses*. O cladódio desses acessos é marcado pela presença de grande cerosidade, estigmas localizados 8 cm acima do nível das anteras, polpa do fruto possui cor vermelho forte. Esse grupo possui média de sólidos solúveis da polpa do fruto de 17,35°Brix.

Lima, Faleiro e Junqueira (2013a) estudaram as características físico-química de frutos de *S. undatus* e *S. setaceus* e verificaram também que *S. undatus* possuía maiores frutos (comprimento e massa) e menores teores de sólidos solúveis que *S. setaceus*, resultados esses condizentes com os do presente estudo. Freitas e Mitcham (2013) analisaram qualidade de frutos de *S. undatus* e verificaram no momento da colheita teor de sólidos solúveis de 10 Brix e Sato *et al.* (2014) analisaram frutos de *S. costaricenses* em 3 municípios paraenses e verificaram teores de sólidos solúveis de 10,13 a 12,17° Brix.

O grupo 4 é formado pelas espécies *S. setaceus* e *Selenicereus* spp. que possuem menor distância entre as areolas, maiores números de espinhos, estigma localizado no mesmo nível das anteras, frutos menores com coloração do exocarpo vermelha e com polpa branca e translúcida, teor de sólidos solúveis de 18,08 Brix. Bauer (2003) e Korotkova, Borsch e Arias, (2017) realocaram a espécie *S. setaceus* antes pertencente ao gênero *Hylocereus*, pelas diversas características morfológicas e moleculares congruentes. Lima, Faleiro e Junqueira (2013a) estudaram a divergência genética de acessos dessas espécies, encontradas no cerrado brasileiro e verificaram o teor de sólidos solúveis de até 20, 93 Brix.

O grupo 5 é formado pelos híbridos dos gêneros *Selenicereus* e *Epyphilum* que possuem flores com pétalas vermelhas, os maiores espinhos dos cladódios de todos os acessos. Frutos com exocarpo alaranjado e polpa púrpura, com média de 19 Brix. Mizrahi (2014) relata que a hibridação entre esses dois gêneros sendo promissora na busca de frutos com melhores características voltadas ao mercado (tempo de prateleira, cores e sabores diferenciados), de fato, no presente estudo esses acessos foram que apresentam maior espessura de exocarpo.

O grupo 6 é formado pelo acesso HmxHi que é um híbrido entre as espécies *S. megalanthus* e *Selenicereus* sp., o qual apresentou maiores distâncias entre as areolas, altura da costilha e comprimento das pétalas, estigma 12 cm acima do nível das anteras, frutos com exocarpo amarelo e alto teor de sólido solúveis (19,8 Brix). Tel-Zur *et al.* (2004) e Cisneros e Tel-Zur (2013) mostraram em seus estudos evidências de hibridação natural entre as espécies *S. undatus* e *S. setaceus* poliploidia (4n ou 6n) enquanto as outras espécies desses são diploides (2n). Pelos dados morfoagronômicos desse acesso podemos evidenciar isso no presente trabalho pela maior dissimilaridade.

Na escolha de acessos promissores de pitaieiras deve ser prioritária a qualidade dos frutos (Junqueira *et al.*, 2010; Lima; Faleiro; Junqueira, 2013), neste sentido destacam-se o acesso Hi3 e Hu2 do primeiro grupo com teor de sólidos solúveis de 19,00 e 18,70 Brix, respectivamente; os híbridos HuxHp1 e HixHi2 do segundo grupo ambos com teor de sólido solúveis de 19,5 Brix; o acesso Hs4 do grupo 4 e o único acesso do grupo 6 com 19,8 Brix de teor de sólidos solúveis.

Deve ser dada atenção também a dificuldade de polinização natural da pitaieira por existir plantas auto incompatíveis seja por possuir heterostilia ou apresentar incompatibilidade gametofítica (Nerd; Mizrahi, 1996). No grupo 1 foi encontrada heterostilia com disposição do estigma 9 cm (média) acima das anteras. Os acessos dos grupos 2, 3, 5 e 6 apresentaram média de 5 cm, 8 cm, 2 cm e 12 cm, respectivamente. Os acessos do grupo 4 não apresentaram

heterotilia. Esses resultados indicam que devem ser feitas avaliações da polinização para averiguar se a heterostilia encontrada afeta o pegamento de frutos pela polinização natural.

O coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de dissimilaridade e o método de agrupamento por otimização Tocher (Spuhler, 1954) foi de 0,784 e possibilitou a obtenção de 5 grupos de similaridade (Tabela 7), o primeiro grupo com 14 acessosCo (Hi1, Hi2, Hi3, Hu3, Hu2, Hu1, Hu4, Hu5, Hp1, Hp2, HixHi1, HixHi2, HuxHp2 e HuxHp1), o segundo com 2 (Hc1 e Hc2), o terceiro com 6 (Hs4, Si2, Hs2, Hs3, Hs1 e Si1) o quarto com 2 (HixEi1 e HixEi2) e o quinto com 1 (HmxHi).

Tabela 7. Agrupamento Tocher dos 25 acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ.

Grupos	Genótipos
I	Hi1, Hi2, Hi3, Hu3, Hu2, Hu1, Hu4, Hu5, Hp1, Hp2, HixHi1, HixHi2, HuxHp2 e HuxHp1
II	Hc1 e Hc2
III	Hs4, Si2, Hs2, Hs3, Hs1 e Si1
IV	HixEi1 e HixEi2
V	HmxHi

Coeficiente de correlação cofenética Tocher=0,78.

A correlação entre o agrupamento hierárquico UPGMA e o agrupamento de otimização Tocher no presente trabalho foi de 0,92. Os dois métodos de agrupamentos foram convergentes em separar 4 grupos com os mesmos acessos, o que indica que esses grupos formados apresentaram diferenças genéticas consistentes. A diferença entre os dois agrupamentos foi que no Tocher os híbridos HixHi1, HixHi2, HuxHp2 e HuxHp1 foram incluídos no primeiro grupo e no agrupamento UPGMA formaram um grupo a parte. Esses híbridos possuem em comum com o agrupamento 1 no UPGMA: o exocarpo vermelho, cladódios com costilhas convexas, flores com pétalas brancas e heterostilia.

A inclusão dos híbridos com seus parentais no agrupamento Tocher levanta a necessidade de que seja explorada a hibridação entre indivíduos do complexo gênico secundário e terciário para obter-se frutos com características distintas das atuais ou maior concentração de componentes nutracêuticos que tornaram a pitaia tão atraente no mercado. Nesse sentido, Mizrahi (2004) relata o cruzamento do gênero *Selenicereus* com o gênero *Epiphilium* como promissor, além desses, os gêneros *Acanthocereus*, *Peniocereus*, *Aporocactus*, *Disocactus*, *Weberocereus*, *Pseudorhipsalis*, *Deamia* e *Kimnachia* possuem grande proximidade filogenética (Korotkova; Borsch; Arias, 2017) podendo ampliar as possibilidades de hibridação.

4.6 CONCLUSÕES

Há variabilidade genética na coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ evidenciada pelos descritores morfoagronômicos.

Os acessos HuxHp1, HixHi2, Hs4 e HmxHi mostram-se promissores na obtenção de frutos de pitaia de alta qualidade e para futuras hibridações.

4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUER, R. A synopsis of the tribe Hylocereeae F.Buxb. **Cactaceae Systematics Initiatives**, v. 17, p. 6–63, 2003.
- CISNEROS, A.; TEL-ZUR, N. Genomic analysis in three *Hylocereus* species and their progeny: evidence for introgressive hybridization and gene flow. **Euphytica**, v. 194, n. 1, p. 109–124, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0979-y>
- COUTO, T. R. **Diversidade morfológica e propagação in vitro de gérberas a partir de folha peciolada**. 2018. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018. Disponível em: <https://rima.ufrj.br/jspui/handle/20.500.14407/9958>. Acesso em: 23 fev. 2024.
- FREITAS, S. T.; MITCHAM, E. J. Quality of pitaya fruit (*Hylocereus undatus*) as influenced by storage temperature and packaging. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 257–262, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000400006>
- GOWER, J. C. A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties. **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857, 1971. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2528823>
- JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; LIMA, C. A.; SOUZA, L. S. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 819–824, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000104>
- KOLDE, R. **Pretty pheatmaps**. R package version, , 2018. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap/pheatmap.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2024.
- KOROTKOVA, N.; BORSCH, T.; ARIAS, S. A phylogenetic framework for the Hylocereeae (Cactaceae) and implications for the circumscription of the genera. **Phytotaxa**, v. 327, n. 1, p. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.327.1.1>
- LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Diversidade genética intra e interespecífica de pitaya com base nas características físico-químicas de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1066–1072, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400018>
- MÄCHLER, M.; ROUSSEEUW, P.; STRUYF, A.; HUBERT, M.; HORNIK, K. **Cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions**. R packagesR package, available on CRAN, , 2012.
- MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 124–138, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-2945-452/13>
- MIZRAHI, Y.; MOUYAL, J.; NERD, A.; SITRIT, Y. Metaxenia in the Vine Cacti *Hylocereus polyrhizus* and *Selenicereus* spp. **Annals of Botany**, v. 93, n. 4, p. 469–472, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mch055>

MOURA, M. C. C. L.; GONÇALVES, L. S. A.; SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, T. N. S. Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 155–161, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362010000200003>

NERD, A.; MIZRAHI, Y. Reproductive Biology of Cactus Fruit Crops. In: JANICK, J. (org.). **Horticultural Reviews**. 1. ed. New York: Wiley, 1996. p. 321–346. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470650608.ch7>. Acesso em: 23 fev. 2024.

SATO, S. T. A.; RIBEIRO, S. C. A.; SATO, M. K.; SOUZA, J. N. S. Caracterização física e físico-química de pitayas vermelhas (*Selenicereus costaricensis*) produzidas em três municípios paraenses. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 1, n. 2, p. 46–56, 2014.

SILVA, A. C. C.; SABIÃO, R. R.; CHIAMOLERA, F. M.; SEGANTINI, D. M.; MARTINS, A. B. G. Morphological traits as tool to verify genetic variability of interspecific dragon fruit hybrids. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017168>

SILVA, A. R.; MALAFAIA, G.; MENEZES, I. P. P. Biotools: an R function to predict spatial gene diversity via an individual-based approach. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, p. 6, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4238/gmr16029655>

SPUHLER, J. N. Advanced statistical methods in biometric research. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 12, n. 2, p. 390, 1954. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330120224>

TAO, J.; QIAO, G.; WEN, X.-P.; GAO, G.-L.; LIU, T.; PENG, Z.-J.; CAI, Y.-Q.; CHEN, N.; YAN, F.-X.; ZHANG, B.-X. Characterization of genetic relationship of dragon fruit accessions (*Hylocereus* spp.) by morphological traits and ISSR markers. **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 82–88, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.03.006>

TEL-ZUR, N. Genetic Relationships among *Hylocereus* and *Selenicereus* Vine Cacti (Cactaceae): Evidence from Hybridization and Cytological Studies. **Annals of Botany**, v. 94, n. 4, p. 527–534, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mch183>

5 CAPÍTULO III

ETANOL 70% OTIMIZA A EXTRAÇÃO DE DNA DE PITAIEIRAS

(Selenicereus spp.)

5.1 RESUMO

As pitaieiras possuem caules fotossintetizantes que produzem compostos secundários como fenóis, ácidos orgânicos, polissacarídeos e mucilagens que podem dificultar a extração do DNA e diminuir a qualidade das amostras. O etanol é utilizado na indústria alimentícia para a extração de alguns fenóis, e em tese poderia resolver essa dificuldade encontrada na extração de amostras de DNA dessa planta. Este estudo tem como objetivo verificar o efeito do etanol aplicado em etapa prévia ao método CTAB para a extração e purificação do DNA de pitaieiras (*Selenicereus* spp.). Foram analisadas 4 concentrações de etanol hidratado (0, 30%, 70% e 95%) em etapa prévia à extração de DNA pelo método CTAB e o produto da extração e sua absorbância 260/280 nm e 260/230 nm foi quantificado em espectrofotômetro, em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições. Com o tratamento prévio à extração de DNA das amostras vegetais com etanol a 70% foi possível obter 189,47 ng/ μL de DNA bruto e as absorbâncias obtidas foram características de DNA com grau de pureza satisfatória.

Palavras-chave: Cactaceae. Extração de DNA. Polissacarídeos. Mucilagem.

5.2 ABSTRACT

The dragon fruit trees have photosynthetic stems that produce secondary compounds such as phenols, organic acids, polysaccharides and mucilage that can hinder and mask the product of the DNA extraction of this cactus. Ethanol is used in the food industry to extract some phenols, and in theory it could solve this difficulty found in some DNA extraction procedures of this plant. This study aims to verify the effect of ethanol applied in previous stage to the CTAB method for the extraction and isolation of DNA from *Selenicereus spp.* Four concentrations of hydrated ethanol (0, 30%, 70% and 95%) were analyzed in the stage prior to DNA extraction by the CTAB method and the product of the extraction and its absorbance 260/280nm and 260/230 nm was quantified in a spectrophotometer, in completely randomized design with 6 repetitions. With the treatment prior to the extraction of DNA from plant samples with 70% ethanol, it was possible to obtain 189.47 ng/ μ L DNA and the absorbances obtained were characteristics of DNA with a satisfactory degree of purity.

Key-words: Cactaceae. DNA isolation. Polysaccharides. Mucilage.

5.3 INTRODUÇÃO

As pitaieiras não possuem folhas que são geralmente utilizadas como fonte de primária para extração de ácido desoxirribonucleico (DNA) e, seu caule, que é o órgão fotossintetizante, é um cladódio adaptado como órgão de reserva de água e possui ainda, polissacarídeos e compostos fenólicos ligados a adaptação à seca e outros estresses. Além disso, as pitaieiras possuem o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) com concentração alta de ácidos típicos desse metabolismo (oxalacético, málico, piruvato). Essas características e compostos dificultam a extração, isolamento e purificação do DNA (Tel-Zur *et al.*, 1999).

A extração e isolamento de DNA de pitaieiras utiliza o método com o detergente brometo de cetiltrimetilâmônio (CTAB) que se complexa com o DNA vegetal (Doyle, 1990). Tel-Zur *et al.* (1999) utilizaram as raízes aéreas como fonte de DNA, por conter menos polissacarídeos que os cladódios e fizeram o descarte do primeiro sobrenadante complexado com o CTAB, com a finalidade de eliminar o excesso de polissacarídeos e mucilagem.

Faleiro *et al.* (2003) propuseram adaptações para a extração e purificação do DNA de plantas com presença de polissacarídeos, que foi utilizado por Junqueira *et al.* (2010) e para extração de DNA de pitaieiras oriundas do cerrado brasileiro. Essas adaptações incluem redução da quantidade do material usado como fonte de DNA, aumento da concentração do detergente CTAB e aumento do tempo de extração de proteínas.

Loo e Chandran (2012) propuseram o uso de plântulas para extração de DNA de pitaieiras, por essas plantas jovens possuírem menor quantidade de substâncias que mascaram o DNA. Wong, Silvaraj e Quen (2014) utilizaram cladódios de pitaieiras como fonte vegetal do DNA e enzimas (proteinase-k) para a eliminação dos polissacarídeos e outros componentes que atrapalham a extração do DNA dessa cactácea.

Na indústria alimentícia, usa-se etanol hidratado para retirar e isolar compostos fenólicos, flavonoides, proteínas e açúcares do caule da pitaieira (Tsai *et al.*, 2019) e estudos indicam que o etanol hidratado retira a mucilagem de cactáceas (Sepúlveda *et al.*, 2007). Como o DNA é insolúvel em álcool, o etanol 95% gelado é utilizado no método de extração CTAB para precipitá-lo (Doyle, 1990), porém para pitaieiras não há relatos da utilização de etanol em etapa prévia para facilitar a extração de DNA ao retirar substâncias que dificultam esse procedimento importante para estudos moleculares dessa planta.

Posto isso, este estudo teve o objetivo de verificar o efeito do etanol aplicado em etapa prévia ao CTAB para a extração e isolamento do DNA de pitaieiras (*Selenicereus* spp.).

5.4 MATERIAIS E MÉTODOS

5.4.1 Material vegetal

Foram selecionados cladódios de pitaieiras provenientes da coleção de germoplasma da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) da espécie *Selenicereus undatus*.

5.4.2 Local do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular de Plantas (LCBMP) do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, localizado em Seropédica-RJ.

5.4.3 Experimento

O experimento consistiu em aplicar ao macerado dos cladódios 4 concentrações de etanol (0, 30%, 70% e 95%) antes da adição do CTAB, com 6 repetições para cada concentração, com a finalidade de separar a mucilagem e outros constituintes do vegetal que dificultam a extração do DNA.

5.4.4 Protocolo

- 1) 300 mg do cladódio foi macerado com um pistilo em um almofariz de porcelana contendo nitrogênio líquido. Transferido o macerado obtido para microtubos *eppendorf* (2,0 mL) congelados.
- 2) Foi adicionado 500 μ L de etanol nas 4 concentrações (tratamentos) em cada tubo contendo o material vegetal macerado, por meio de sorteio ao acaso.
- 3) Foi adicionado 850 μ L de tampão de extração CTAB previamente aquecido a 65°C e incubado os tubos em banho-maria a 65°C por 60 minutos. Durante a incubação, agitou-se suavemente os tubos a cada 10 minutos. Ao tampão de extração foi adicionado 20 μ L de β -mercaptoetanol para cada 1 mL de tampão de extração CTAB utilizado. O β mercaptoetanol foi adicionado ao tampão de extração CTAB somente no momento do uso.
- 4) Retirou-se os tubos do banho-maria e foram esfriados à temperatura ambiente. Centrifugou-se os tubos por 10 minutos a 14000 rpm e o sobrenadante foi transferido para novos tubos *eppendorf* (2,0 mL), marcados.
- 5) Adicionou-se ao sobrenadante 800 μ L de clorofórmio-álcool isoamílico CIA (24:1), agitou-se o tubo por suaves inversões por 10 minutos até ficar turvo. E foram centrifugados por 10 minutos a 14000 rpm.
- 6) Transferiu-se a fase superior aquosa para novo tubo *eppendorf* (2,0 mL) devidamente identificado, tendo cuidado de não transferir a interfase e a fase inferior. Utilizou-se, para isso, micropipeta de 200 μ L ou de 100 μ L.
- 7) Adicionou-se 650 μ L de clorofórmio-álcool isoamílico CIA (24:1) ao sobrenadante, que foi agitado por 10 minutos a 14000 rpm.
- 8) Transferiu-se a fase superior aquosa para um novo tubo *eppendorf* (1,5 mL) e adicionou-se 450 μ L de isopropanol gelado. Os tubos invertidos suavemente por 2 minutos e foram incubados a -20 °C (freezer) por 2,5 horas.
- 9) Foi feita centrifugação por 10 minutos a 14000 rpm. Notou-se precipitado

branco/transparente no fundo dos tubos. Foi feito o descarte do sobrenadante. Lavou-se esse precipitado 2 vezes com etanol 70% para retirar o sal presente, e uma vez com etanol 95%. Centrifugou-se os tubos com álcool etílico 95% por 5 minutos a 14000 rpm. Secou-se o precipitado à temperatura ambiente por 15-20 minutos.

- 10) Foi feita a suspensão do precipitado em 200 μ L de Tampão Tris Cl-EDTA (TE) 1x contendo RNase na concentração final de 4 μ L/mL.
- 11) Incubou-se em banho-maria a 37 °C por 30 minutos.
- 12) Adicionou-se 20 μ L de cloreto de sódio 5M à solução. Logo após, foi adicionado 150 μ L de isopropanol gelado.
- 12) Os tubos foram mantidos em freezer por 8 horas.
- 13) Repetiu-se o item 9 e o precipitado final foi misturado a 200 μ L de TE 1x.

5.4.5 Avaliações

No espectrofotômetro marca Nanodrop foram mensurados a concentração de DNA, a absorbância 260 e 280 η m e as a relações entre absorbâncias 260/280 e 260/230 η m.

5.4.6 Análises estatísticas

Foi feita a análise da normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, homogeneidade (teste de Cochran) e homocedasticidade (teste de Levene) das variâncias pressupostos para a aplicação da análise das variâncias (ANAVA). Como o estudo é quantitativo, a independência dos resíduos foi verificada por análise gráfica e pelo teste de Durbin-Watson e feito o estudo da regressão (linear e quadrática) e apresentado o gráfico da regressão com maior ajuste. O ponto de máximo foi obtido pelo cálculo da derivada da equação da regressão.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os pressupostos para realização da ANAVA foram atendidos ($p>0,05$). Como mostrado na Figura 10, os resíduos provenientes do ajuste à regressão apresentaram-se independentes, o que foi confirmado pelo teste de Durbin-Watson ($p<0,05$).

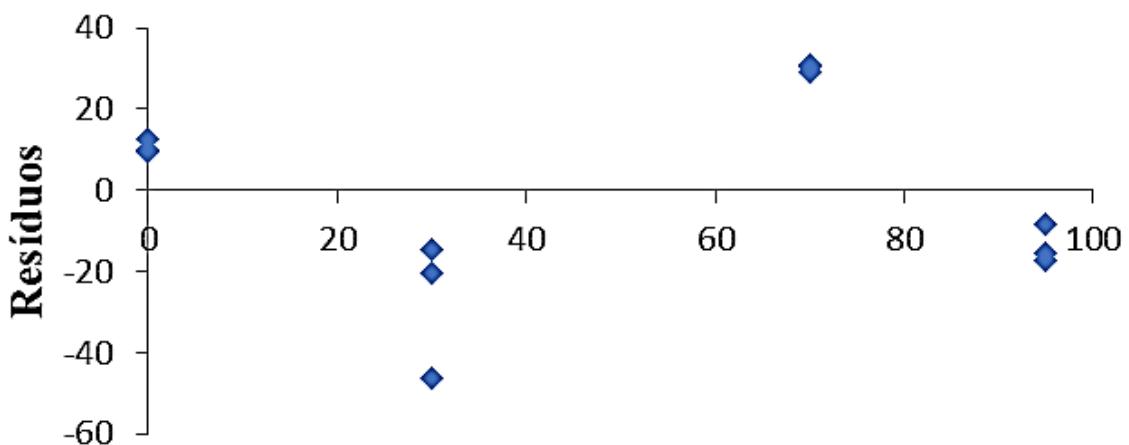


Figura 10. Distribuição do ajuste dos resíduos em relação à regressão.

A ANAVA mostrou-se significativa, indicando que existe diferença entre o rendimento de DNA extraído de pitaieiras nas diferentes concentrações de etanol aplicadas (Tabela 8). O estudo da regressão (Tabela 8) mostrou que a regressão quadrática é significativa e tem o melhor ajuste entre o modelo matemático e os dados ($R^2=0,8757$) do que a regressão linear ($R^2=0,6211$).

Tabela 8. Análise da variância de 4 concentrações de etanol aplicado previamente ao uso do método CTAB para a extração de DNA de pitaieiras.

Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	valor-P	R ²
Concentração de Etanol	103188	3	34396,1	545,779	2,40998e ⁻¹⁹	
Estudo da Regressão						
(Linear)	64864,9	(1)	64864,9	36,0507	4,82549e ⁻⁰⁶	0,6211
(Quadrática)	90362	(1)	90362	1433,82	4,30464e ⁻²⁰	0,8757
Erro	1260,44	20	63,022			
Total	104449	23				

O tratamento com etanol na concentração de 70% foi próximo ao ponto de máximo (67,26%) da equação da regressão quadrática e obteve o maior rendimento na extração de DNA de pitaieiras 189,47 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de DNA bruto (Figura 11), valor equivalente ao obtido por Tel-Zur *et al.* (1999), Loo e Chandran (2012) e Wong, Silvaraj e Quen (2014).

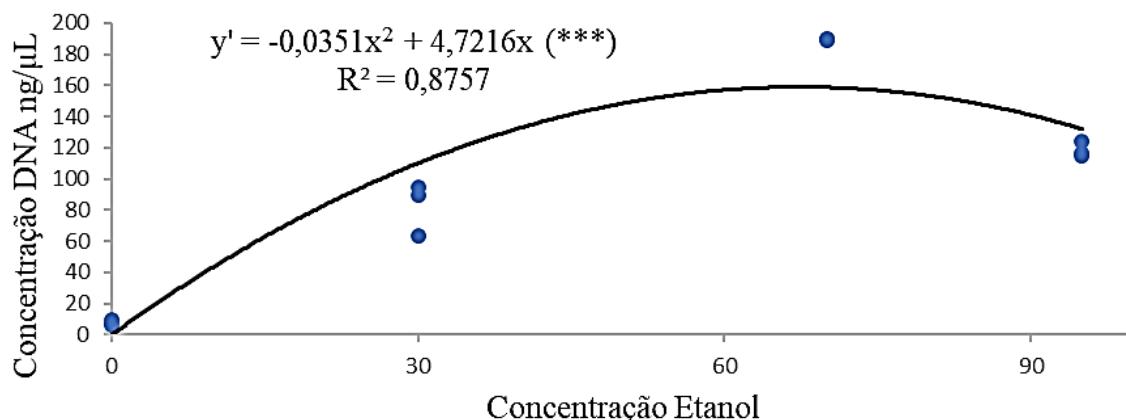


Figura 11. Gráfico e equação da regressão quadrática de DNA bruto de pitaieiras, obtido pelo método de extração CTAB com tratamento prévio com etanol em 4 concentrações.

As diferenças entre o protocolo deste trabalho e o de Tel-Zur *et al.* (1999) residem em que o primeiro utiliza o cladódio como fonte de DNA e o segundo, raízes adventícias provenientes de estaquia dos cladódios. Tel-Zur *et al.* (1999) relatam que a escolha pelas raízes adventícias foi porque esse órgão contém menos mucilagem e substâncias que dificultam o isolamento do DNA. Todavia, Barroso *et al.* (2017) relatam que o surgimento de tecidos adventícios em pitaieiras acontece em até 92 dias, o que poderia ser um entrave para o uso da técnica que utiliza esse tipo de tecido como fonte de DNA.

O mesmo entrave temporal pode surgir na utilização de plântulas de pitaieiras como fonte primária para a extração de DNA como proposto por Loo e Chandran (2012), uma vez que para uso de tal estratégia será necessário lançar mão de sementes viáveis de pitaieiras, esperar o tempo para germinação e crescimento inicial das plântulas. Esse protocolo mostra viabilidade para extração de DNA de híbridos de pitaieiras onde se tem o controle de polinização, porém torna-se inviável para situações onde esse controle não é possível como por exemplo a exploração de pitaieiras nativas ou acessos com autoesterilidade polínica (Tel-Zur *et al.*, 2012).

Wong, Silvaraj e Quen (2014) extraíram DNA de cladódios de pitaieiras com a utilização de enzimas para eliminar a mucilagem e outros compostos, essas enzimas conferiram pureza ao produto molecular obtido, porém aumentam o custo e tempo do processo de extração.

A extração com etanol hidratado de mucilagem, compostos fenólicos, flavonoides, polissacarídeos e proteínas de pitaieiras para uso na indústria alimentícia é previamente retratada (Sepúlveda *et al.*, 2007; Tsai *et al.*, 2019). Além de agir como solvente para essas substâncias, OLIVEIRA *et al.* (2007) relatam que o etanol induz a agregação de moléculas de ácidos, precipitando-as e por isso é utilizado o etanol absoluto em etapa de purificação do DNA no método CTAB (Doyle, 1990). Na Tabela 9 foram relacionados os valores de absorbância mensuradas no espectrofotômetro.

Tabela 9. Absorbância de amostras de DNA extraídas de pitaieiras pelo método CTAB com tratamento prévio com etanol em 4 concentrações.

Tratamentos	A260	A280	A260/280	A260/230
Etanol 0%	0,07	0,45	1,75	0,40
Etanol 30%	1,65	0,675	1,88	1,58
Etanol 70%	3,79	2,01	1,89	1,87
Etanol 95%	2,36	1,30	1,81	1,58

Ácidos nucléicos possuem absorbância característica em 260 nm e contaminantes (proteínas, fenóis e outros) em 280 nm (Nelson; Cox, 2017). Pode-se verificar na Tabela 2 que o tratamento com etanol 70% obteve absorbância 260 nm de 3,79 indicando conteúdo rico em ácidos nucleicos, e relação de absorbância 260/280 e 260/230 nm de 1,89 e 1,87, respectivamente, que indicam amostras DNA consideradas puras (Nelson; Cox, 2017).

A adaptação no método de extração de DNA com etanol a 70% foi utilizada para a extração de DNA de 29 acessos de pitaieiras das espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. monacanthus*, *S. costaricensis*, *S. setaceus* e híbridos entre essas espécies, oriundas da coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ, e obteve-se DNA em quantidade e qualidade satisfatórias (dados não publicados).

4.6 CONCLUSÕES

É possível o isolamento e purificação e obtenção de maior quantidade de DNA de pitaieiras (*Selenicereus* spp.) com aplicação de etanol 67,26% antes da extração com detergente CTAB.

5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROSO, M. M. A.; ALMEIDA, E. I. B.; CAJAZEIRA, J. P.; QUEIROZ, R. F.; OLIVEIRA, I. M. S.; CORRÊA, M. C. M. Morfologia de propágulos e auxina exógena na estação de pitaia vermelha. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 60, n. 4, p. 350–357, 2017.
- DOYLE, J. J. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13–15, 1990.
- 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 Visando a Análises Moleculares**.: Comunicado Técnico 92. Planaltina, DF: Embrapa, 2003. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2009/24559/1/comtec_92.pdf.
- JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; LIMA, C. A.; SOUZA, L. S. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 819–824, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000104>
- LOO, Z. X.; CHANDRAN, S. Extraction of Genomic DNA from roots and leaves of *Hylocereus undatus*. **Israel Journal of Plant Sciences**, v. 60, n. 3, p. 345–348, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1560/IJPS.60.1.345>
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 7. ed. New York: W. H. Freeman, 2017.
- OLIVEIRA, M. C. S.; REGITANO, L. C. A.; ROESE, A. D.; ANTHONISEN, D. G.; PATROCÍNIO, E.; PARMA, M. M.; SCAGLIUSI, S. M. M.; TIMÓTEO, W. H. B.; JARDIM, S. N. **Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e amplificação de DNA por meio de reação em cadeia da polimerase**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007. *E-book*. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/48295/1/LivroProtMolecular.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2024.
- SEPÚLVEDA, E.; SÁENZ, C.; ALIAGA, E.; ACEITUNO, C. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. **Journal of Arid Environments**, v. 68, n. 4, p. 534–545, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.08.001>
- TEL-ZUR, N.; ABBO, S.; MYSLABODSKI, D.; MIZRAHI, Y. Modified CTAB Procedure for DNA Isolation from Epiphytic Cacti of the Genera *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 17, n. 3, p. 249–254, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1007656315275>
- TEL-ZUR, N.; DUDAI, M.; RAVEH, E.; MIZRAHI, Y. Selection of interspecific vine cacti hybrids (*Hylocereus* spp.) for self-compatibility. **Plant Breeding**, v. 131, n. 5, p. 681–685, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01992.x>
- TSAI, Y.; LIN, C.-G.; CHEN, W. L.; HUANG, Y.-C.; CHEN, C.-Y.; HUANG, K.-F.; YANG, C.-H. Evaluation of the Antioxidant and Wound-Healing Properties of Extracts from

Different Parts of *Hylocereus polyrhizus*. **Agronomy**, v. 9, n. 1, p. 27, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy9010027>

WONG, M.; SILVARAJ, S.; QUEN, P. An Optimised High-Salt CTAB Protocol for Both DNA and RNA Isolation from Succulent Stems of *Hylocereus* sp. **Journal of Medical and Bioengineering**, p. 236–240, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.12720/jomb.3.4.236-240>

6 CAPÍTULO IV

HETEROSTILIA E REQUERIMENTOS DE POLINIZAÇÃO EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PITAYAS

6.1 RESUMO

O cultivo da pitaieira é recente e algumas espécies apresentam barreiras reprodutivas que podem limitar a sua produtividade. Neste trabalho, objetivou-se caracterizar acessos de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ quanto a exigências de polinização e os efeitos na frutificação. Foram avaliados os efeitos da polinização natural (aberta), polinização restrita e polinização cruzada em 30 botões florais de cada tratamento em plantas de quatro espécies de pitaias: *Selenicereus polyrhizus* e *S. undatus*, *S. costaricenses* e *S. setaceus* e mensurada a heterostilia (distância entre os lóbulos do estigma e antera distal) em 30 flores de cada espécie citada e verificado a porcentagem de pegamento de frutos, em delineamento inteiramente casualizado. As espécies *S. polyrhizus*, *S. undatus* e *S. costaricenses* apresentaram heterostilia que influenciou em menor pegamento de frutos. A espécie *S. setaceus* não apresentou heterostilia. Não foi obtido frutos na polinização restrita na espécie *S. costaricenses*. A polinização cruzada aumenta o pegamento de frutos em pitaieiras. *S. setaceus* apresenta evidências de cleistogamia e pode ser utilizada como doadora de pólen em plantios de pitaieiras.

Palavras-Chave: *Selenicereus* spp.. Hercogamia. Autocompatibilidade polínica.

6.2 ABSTRACT

The cultivation of dragon fruit is recent, and some species have reproductive barriers that can limit their productivity. This work aimed to characterize accessions of pitaieiras from the germplasm collection of UFRRJ regarding pollination requirements and the effects on fruiting. The effects of natural (open) pollination, restricted pollination and cross-pollination in 30 flower buds from each treatment were evaluated on plants of four species of pitayas: *Selenicereus polyrhizus* and *S. undatus*, *S. costaricensis* and *S. setaceus* and heterostilia (distance between the lobes of the stigma and the distal anther) in 30 flowers of each species mentioned and the fruit setting was verified, in a completely randomized design. The species *S. polyrhizus*, *S. undatus* and *S. costaricensis* presented heterostilia that influenced less fruit set. The *S. setaceus* species did not show heterostilia, it has evidence of cleistogamic plant and can be a pollen donor in commercial plantations. No fruit was obtained from restricted pollination in *S. costaricensis* species. Cross-pollination increases fruit set in dragon fruit trees.

Key Words: *Selenicereus spp.*. Hercogamy. Pollen self-compatibility.

6.3 INTRODUÇÃO

No Brasil, os plantios comerciais de pitaieiras são incipientes, com início na década de 1990. Seu fruto possui exocarpo e polpa com variedade de cores, além de propriedades nutricionais e digestivas que o faz atrativo mercadologicamente. Suas flores são grandes (cerca de 30 cm), actinomorfas, com antese noturna, com centenas de anteras, brácteas em torno do pericarpo, perianto com sépalas verdes, rajadas ou avermelhadas e pétalas brancas ou creme. Possuem intensa exsudação de néctar e produção de pólen, atraindo dessa forma morcegos, mariposas no período noturno e abelhas e outros visitantes florais durante as primeiras horas da manhã (Donadio, 2009; Mizrahi, 2014; Muniz *et al.*, 2019).

A caracterização do sistema reprodutivo e requerimentos de polinização são necessários para programas de melhoramento e para o cultivo comercial, pois permite estabelecer as estratégias polinização (natural ou artificial) e de hibridização e exploração da variabilidade encontrada, bem como aumento de produção e de frutos com qualidade superior (Weiss; Nerd; Mizrahi, 1994).

Por ser recente a domesticação da pitaieira, o cultivo dessa frutífera é feito com genótipos que apresentam autoincompatibilidade (autoestéreis) e autocompatíveis. Weiss, Nerd e Mizrahi *et al.* (1994), em trabalho conduzido em Israel, concluíram que o genótipo de *S. undatus* estudado apresentou autocompatibilidade polínica (autopolinização e geitonogamia). Por sua vez, Castillo *et al.* (2003) verificaram, em trabalho feito no México, que o genótipo da mesma espécie apresentou autoincompatibilidade. Silva, Martins e Cavallari (2011) estudaram a autopolinização da pitaieira (*S. undatus*) em Jaboticabal-SP e verificaram que não houve frutificação, entretanto Menezes *et al.* (2015) em trabalho conduzido em Lavras-MG verificaram que o genótipo estudado de *S. undatus* apresentou frutificação de 7% quando autopolinizadas. Já para a espécie *S. polyrhizus*, Weiss, Nerd e Mizrahi *et al.* (1994) descreveram a espécie *S. polyrhizus* como totalmente autoincompatível, no entanto, Muniz *et al.* (2019) verificaram autocompatibilidade no genótipo da mesma espécie estudada.

Além da autoesterilidade, a pitaieira pode apresentar estames e estigma em níveis diferentes (heterostilia) o que pode ocasionar baixas taxas de fecundação e produtividade o que torna necessário o uso de plantas doadoras de pólen e de polinização manual (Luz; Bortolini, 2017; Muniz *et al.*, 2019).

Essas barreiras reprodutivas e morfológicas demandam caracterização, avaliação do sistema reprodutivo e requerimentos de polinização dessa frutífera sejam feitos para o ambiente e acessos específicos. Tendo isso em vista, neste trabalho, objetivou-se caracterizar 4 espécies de pitaia da coleção de germoplasma da UFRRJ quanto a heterostilia e exigências de polinização.

6.4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Campus Campos dos Goytacazes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado na cidade de Campos dos Goytacazes, RJ (21°45'14"S e 41°19'26"W, a 14 m de altitude). O clima da região é do tipo Aw, conforme a classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e a temperatura média anual é de 22,7 °C.

A coleção de germoplasma de pitaieiras da UFRRJ foi instalada em 2016 conduzidas no espaçamento de 1,5 m entre plantas e 3,0 m entre linhas. As plantas foram tutoradas com mourões de eucalipto tratado e conduzidas até o seu ápice 1,60 m acima do solo. Foram analisadas 4 espécies: *S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. costaricensis* e *S. setaceus*.

Para analisar a heterostilia foram marcados, em dezembro de 2019, 30 botões florais de cada espécie, escolhidos aleatoriamente. No momento da antese foi mensurado com paquímetro digital a distância entre a posição das anteras e os lóbulos do estigma como representado na Figura 12.

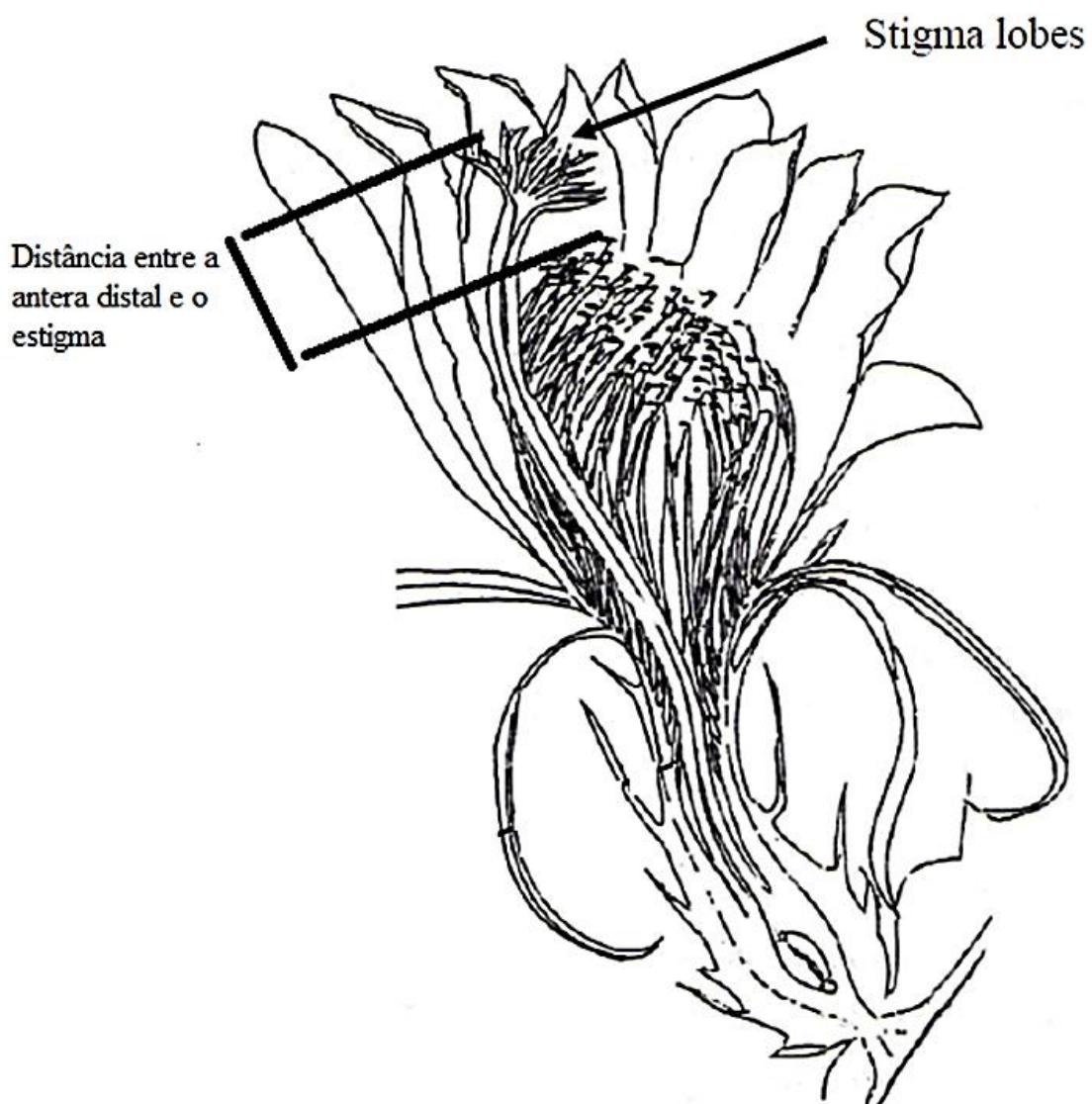


Figura 12. Método de mensuração da heterostilia: Distância entre a antera distal e os lóbulos do estigma.

Foram selecionados aleatoriamente e marcados, 90 outros botões florais de cada espécie para avaliação dos requerimentos de polinização. Em 30 botões florais de cada espécie foi aplicado o tratamento de polinização restrita, conforme descrito por Muniz *et al.* (2019), que consiste na cobertura da flor antes da antese com sacos de TNT (tecido não tecido) e manutenção deste até o final da antese, para avaliar a ocorrência de cleistogamia (autopolinização). Em outras 30 flores foi aplicado o tratamento de polinização aberta conforme descrito pelos mesmos autores, que consiste em deixar a flor sem impedimentos para que visitantes florais possam ter acesso às peças reprodutivas. Em outras 30 flores de cada espécie foi aplicado o tratamento de polinização manual cruzada (Weiss; Nerd; Mizrahi, 1994) utilizando como doador de pólen um acesso de *S. setaceus*. Perfazendo em delineamento fatorial inteiramente casualizado 4x3 (4 espécies por 3 tratamentos e 30 botões florais por tratamento) para análise da porcentagem de frutros produzidos após 28 dias da antese no seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = m + a_i + b_j + a b_{ij} + e_{ij}$$

Onde: Y_{ij} = é o valor observado na unidade experimental; m = é a média geral; a_i = é o efeito da i -ésima ($i=1$ a 4) espécie de pitaieira; b_j = é o efeito do j -ésimo ($j=1$ a 3) tratamento (polinização restrita, polinização aberta e polinização cruzada); $(ab)_{ij}$ = é o efeito da interação entre o i -ésima espécie de pitaieira e j -ésimo tratamento; e_{ij} = é o efeito aleatório.

Foi realizada a análise da variância (ANOVA) e para validação dos pré-requisitos da ANOVA foram realizados o teste de Levene para verificar a homocedasticidade das variâncias e o teste Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Para comparação das médias as porcentagens foram transformadas em $\text{arc sen } \sqrt{x}/100$ e quando pertinente foi feito o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa R para realização dos testes estatísticos, utilizando o pacote stats.

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variâncias para todos os parâmetros apresentaram homocedasticidade ($p>0,05$) e normalidade ($p>0,05$) pelo teste de Levene e Shapiro-Wilk respectivamente, requisitos para o uso da ANAVA. Houve diferença significativa ($p<0,01$) para o parâmetro heterostilia, a espécie *S. setaceus* teve a menor distância (0,36 cm) entre a antera distal e os lóbulos do estigma (Tabela 10), enquanto as espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus* e *S. costaricenses* tiveram distâncias de 9,03 cm, 12,78 cm e 8,04 cm, respectivamente. Le Bellec (2004) verificou morfologia semelhante para as espécies *S. undatus* e *S. costaricenses* e Muniz *et al.* (2019) também relatou o estigma acima do nível das anteras nas espécies *S. undatus* e *S. polyrhizus* (*sin. H. polyrhizus*).

Tabela 10. Heterostilia floral de 4 espécies de pitaieiras da coleção de germoplasma da UFRRJ.

Espécies	Heterostilia
<i>S. undatus</i>	9,03±1,02 a
<i>S. polyrhizus</i>	12,78±0,81 a
<i>S. costaricenses</i>	8,04±1,92 a
<i>S. setaceus</i>	0,36±0,05 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A heterostilia é uma condição que favorece a alogamia (Cortinóz *et al.*, 2008), uma estratégia reprodutiva para aumentar a variabilidade e consequentemente o sucesso evolutivo (Vieira; Fonseca, 2014). Entretanto, para cultivos frutícolas comerciais a heterostilia pode acarretar diminuição na produtividade e aumento de custos por ser necessário a manutenção do polinizador natural ou polinização artificial (manual) para sobrepujar tal barreira, quando o material não for autocompatível (Silva; Martins; Cavallari, 2011).

Muniz *et al.* (2019) verificaram que as flores de pitaieiras (*S. undatus* e *S. polyrhizus*) tem como principais visitantes noturnos a mariposa *Agrius cingulata* e diurnos a abelha *Apis mellifera*. Le Bellec (2004) verificou que na maioria das visitas, as abelhas não tocam o estigma. De fato, Aliente-Banuet *et al.* (2007) verificaram que os visitantes noturnos maiores como as mariposas e morcegos (*Leptonycteris curasaoe*) são mais eficientes na polinização.

As flores brevistilas, com anteras mais curtas que o estigma, como as encontradas neste estudo, podem ter deposição diferencial de pólen (Cortinóz *et al.*, 2008) que pode acarretar perdas de produtividade, uma vez que as pitaieiras sofrem efeito de xênia ou metaxenia (Mizrahi *et al.*, 2004; Silva; Martins; Cavallari, 2011), ou seja, o fruto pode manifestar morfologias distintas de acordo com a fonte doadora de pólen. Por isso em plantios comerciais e em programas de melhoramento devem ser dadas prioridades para plantas autocompatíveis e sem heterostilia para facilitar a polinização natural (Silva; Martins; Cavallari, 2011) e a adoção dessas plantas nos plantios comerciais ou a polinização manual (Menezes *et al.*, 2015).

A ANAVA mostrou diferença significativa ($p<0,01$) entre as variâncias para a porcentagem de frutos produzidos e a Tabela 2 contém os resultados submetidos ao teste Tukey (5%) dos tratamentos de polinização restrita, aberta e cruzada aplicado às 4 espécies de pitaieiras estudadas. A porcentagem de frutos obtidos no tratamento de polinização restrita foi de 10%, 16,7%, 0% e 96,7% para as espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus*, *S. costaricenses* e *S. setaceus*, respectivamente, indicando que a ocorrência de cleistogamia depende da espécie ou variedade. No presente estudo a espécie *S. setaceus* demonstrou alta cleistogamia enquanto as

outras espécies demonstraram menores taxas dessa característica, possivelmente devido a heterostilia que foi observada na Tabela 11.

Weiss, Nerd e Mizrahi *et al.* (1994) fizeram o teste de polinização restrita para as espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus* e *S. costaricenses* e não obtiveram pegamento de frutos, condizente com os resultados observados por Silva, Martins e Cavallari (2011) que estudou a espécie a autopolinização de *S. undatus*. Por sua vez, Dinh Há e Chung (2014) observaram pegamento de frutos na *S. undatus* em torno de 50% e não obtiveram frutos no tratamento de autopolinização da espécie *S. polyrhizus* e Muniz *et al.* (2019) relataram que nas espécies *S. undatus* e *S. polyrhizus* o pegamento de frutos foi de 100% e 47%.

Tabela 11. Porcentagem de frutos produzidos por 4 espécies de pitaieiras submetidas a tratamentos de polinização.

Espécies	Tratamentos (tipos de polinização)		
	Restrita	Aberta	Cruzada (manual)
<i>S. undatus</i>	10% bB	70% aB	90% aA
<i>S. polyrhizus</i>	16,7% cB	50% bC	96,7% aA
<i>S. costaricenses</i>	0% cB	46,7% bC	96,7% aA
<i>S. setaceus</i>	96,7% aA	96,7% aA	100% aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

As discrepâncias verificadas nestes trabalhos indicam que não há um comportamento intraespecífico uniforme quanto a polinização nas espécies *S. undatus* e *S. polyrhizus* e que trabalhos de avaliação dos requerimentos de polinização são necessários para a manutenção de uma coleção de germoplasma de pitaieiras e indicação aos produtores. Já para a espécie *S. costaricenses*, os resultados encontrados neste trabalho são condizentes com o relato de autoincompatibilidade gametofítica caracterizada para essa espécie (Lichtenzveig *et al.*, 2000).

O menor pegamento de frutos no tratamento de polinização aberta para as espécies *S. polyrhizus* e *S. costaricenses* (Tabela 11) pode estar relacionado a heterostilia (Tabela 10) verificada. Como observado por Le Bellec, Vaillant e Imbert (2006), a diferença de espacial entre as anteras e o estigma dificulta o contato das abelhas que são os principais visitantes florais diurnos das pitaieiras (Muniz *et al.*, 2019). De fato, Valiente-Banuet *et al.* (2007) observou que o pegamento de frutos de visitantes diurnos foi em torno de 50% enquanto dos visitantes noturnos foi de 76%. Como as pitaieiras são plantadas fora de seu habitat natural (bosques) os visitantes noturnos maiores, como morcegos e mariposas, que poderiam entrar em contato em sua visitação com as anteras e lóbulos do estigma podem ser mais escassos em plantios comerciais do que nas condições de sub-bosque que é o habitat natural das pitaieiras e seus polinizadores noturnos.

O comportamento das 4 espécies estudas foi semelhante para o tratamento de polinização cruzada obtendo pegamento de frutos próximo de 100% (Tabela 11), mostrando que *S. setaceus* pode ser usado como fornecedor de pólen em plantios de pitaieiras das espécies estudadas.

Todas as espécies tiveram interação e pegamento de frutos no tratamento de polinização aberta, evidenciando interação com os polinizadores. As espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus* e *S. costaricenses* tiveram queda no pegamento de frutos no tratamento de polinização aberta (em torno de 50%) queda semelhante observada por Weiss, Nerd e Mizrahi *et al.* (1994), e a espécie *S. setaceus* manteve a maior produção de frutos em todos os tratamentos (em torno de 100%), o que pode ser correlacionado o menor grau de heterostilia.

Sem dúvida, as diferenças entre as taxas de pegamento de frutos do presente estudo e os demais citados podem ser explicadas por outras variáveis como por exemplo as diferenças do fotoperíodo, intensidade luminosa, precipitação, características edáficas e diferenças de clones utilizados, entretanto, esses resultados evidenciam que o sistema reprodutivo da pitaieira depende do clone utilizado, que a caracterização e avaliação deve ser feita *in loco* na coleção de germoplasma de pitaieiras, que a heterostilia pode diminuir a produtividade e essas informações devem ser explicitados no passaporte e repassadas aos produtores para os procedimentos tecnológicos adequados (como necessidade de polinização manual ou plantio de variedade fornecedora de pólen). Estudos adicionais sobre a viabilidade e germinação do pólen, receptividade do estigma e uso de polinizadores diurnos maiores (como abelhas do gênero *Bombus*) devem ser realizados para elucidação do sistema reprodutivo de cada acesso de pitaieira da coleção ora estudada.

6.6 CONCLUSÕES

A espécie *S. setaceus* possui características cleistogâmicas e pode ser usada como fornecedora de pólen em plantios de pitaieiras.

A heterostilia causa diminuição na porcentagem de pegamento de frutos de pitaieiras nas espécies *S. undatus*, *S. polyrhizus* e *S. costaricenses*.

O acesso da espécie *S. costaricenses* possui evidência de autoincompatibilidade.

6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASTILLO, R. M.; LIVERA, M. M.; BRECHÚ, A. E. F.; MÁRQUEZ-GUZMÁN, J. Compatibilidad sexual entre dos tipos de *Hylocerus* (Cactaceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 51, n. 3–4, p. 699–705, 2003.
- CORTINÓZ, J.; ILHA, P.; RODRIGUES, P.; DINIZ, S. Heterostilia e deposição diferencial de pólen sobre o polinizador em *Psychotria nuda* (Rubiaceae). **Projetos orientados**, v. 4, p. 1–3, 2008.
- DINH HA, T.; CHUNG, R. Y. DINH Morphological Characteristics and Pollination Requirement in Red Pitaya (*Selenicereus* spp.) - Pesquisa Google. **International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering**, v. 8, n. 3, p. 5, 2014.
- DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 1, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000300001>
- LE BELLEC, F. Pollinisation et fécondation de *Hylocereusundatus* et de *H. costaricensis* à l'île de la Réunion. **Fruits**, v. 59, n. 6, p. 411–422, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/fruits:2005003>
- LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, n. 4, p. 237–250, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/fruits:2006021>
- LICHTENZVEIG, J.; ABBO, S.; NERD, A.; TEL-ZUR, N.; MIZRAHI, Y. Cytology and mating systems in the climbing cacti *Hylocereus* and *Selenicereus*. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 7, p. 1058–1065, 2000.
- LUZ, A. R.; BORTOLINI, A. J. A importância da polinização para produção de frutos em diferentes espécies frutíferas. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 1, p. 1–4, 2017.
- MENEZES, T. P.; RAMOS, J. D.; BRUZ, A. T.; COSTA, A. C.; RAMOS, P. S. Autopolinização e qualidade de fruto em pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*). v. 27, n. 3/4, p. 387–394, 2015.
- MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 124–138, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-2945-452/13>
- MIZRAHI, Y.; MOUYAL, J.; NERD, A.; SITRIT, Y. Metaxenia in the Vine Cacti *Hylocereus polyrhizus* and *Selenicereus* spp. **Annals of Botany**, v. 93, n. 4, p. 469–472, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aob/mch055>
- MUNIZ, J. P.; BOMFIM, I. G.; CORRÊA, M. C.; FREITAS, B. Floral biology, pollination requirements and behavior of floral visitors in two species of pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 4, p. 10, 2019.
- SILVA, A. D. C. C. D.; MARTINS, A. B. G.; CAVALLARI, L. D. L. Qualidade de frutos de pitaya em função da época de polinização, da fonte de pólen e da coloração da cobertura.

Revista Brasileira de Fruticultura, v. 33, n. 4, p. 1162–1168, 2011. Disponível em:
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000400014>

VALIENTE-BANUET, A.; SANTOS GALLY, R.; ARIZMENDI, M. C.; CASAS, A. Pollination biology of the hemiepiphytic cactus *Hylocereus undatus* in the Tehuacán Valley, Mexico. **Journal of Arid Environments**, v. 68, n. 1, p. 1–8, 2007. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.04.001>

VIEIRA, M. F.; FONSECA, R. **Biologia reprodutiva em angiospermas: síndromes florais, polinização e sistemas reprodutivos sexuados**. Viçosa, MG: UFV, 2014.

WEISS, J.; NERD, A.; MIZRAHI, Y. Flowering Behavior and Pollination Requirements in Climbing Cacti with Fruit Crop Potential. **HortScience**, v. 29, n. 12, p. 1487–1492, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.12.1487>

ANEXOS

Anexo A. Documento de aprovação da tese



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA



ATA N° 3529/2020 - DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)

Nº do Protocolo: 23083.063130/2020-38

Seropédica-RJ, 30 de novembro de 2020.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

ATA N° 141

Aos vinte dias do mês de novembro do ano de dois mil e vinte, às 09:00 h, por meio da webconferencia RNP, instalou-se a banca examinadora de tese de doutorado do(a) aluno(a) FÁBIO FERREIRA CRUVINEL sob a orientação do(s) professor(es) MARCO ANTONIO DA SILVA VASCONCELLOS (UFRRJ). A banca examinadora foi composta pelos professores/pesquisadores: JORGE JACOB NETO (UFRRJ), ALMY JUNIOR CORDEIRO DE CARVALHO (UENF), FABIO GELAPE FALEIRO (EMBRAPA) e NOBUYOSHI NARITA (APTA/SP). A tese intitulada: "Caracterização morfoagronômica, diversidade genética e requerimentos de polinização de pitáceas", foi iniciada as 09:15 h e teve a duração de 39 minutos de apresentação. O (a) Candidato (a), após avaliado pela banca examinadora obteve o resultado:

(X) APROVADO (a), devendo o (a) Candidato (a) entregar a versão final em até 60 dias à sua coordenação de curso (de acordo com a Deliberação N° 84 de 22 de agosto de 2017).

() APROVADO (a) COM RESSALVA, devendo o (a) Candidato (a) satisfazer, no prazo estipulado pela banca, as exigências constantes da Folha de Modificações de Tese de Doutorado anexa à presente ata. Após, entregar a versão final em até 60 dias à sua coordenação de curso (de acordo com a Deliberação N° 84 de 22 de agosto de 2017).

() REPROVADO (a).

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 14:23)
JORGE JACOB NETO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)
Matricula: 387256

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 17:36)
MARCO ANTONIO DA SILVA VASCONCELLOS

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)
Matricula: 988442

(Assinado digitalmente em 02/12/2020 06:34)
NOBUYOSHI NARITA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 042.500.728-60

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 17:32)
ALMY JUNIOR CORDEIRO DE CARVALHO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 879.805.847-91

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 12:57)
FÁBIO GELAPE FALEIRO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 739.634.706-82

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 11:46)
FÁBIO FERREIRA CRUVINEL
DISCENTE
Matricula: 2017150804