



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

RICARDO ALEXANDRE MORAES DA SILVA

**DIVERSIDADE DE ACESSOS DE MAXIXE (*Cucumis anguria* L.) DO NORTE-
NORDESTE BRASILEIRO**

MOSSORÓ/RN

2017

RICARDO ALEXANDRE MORAES DA SILVA

**DIVERSIDADE DE ACESSOS DE MAXIXE (*Cucumis anguria* L.) DO NORTE-
NORDESTE BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Doutorado em Fitotecnia
do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
da Universidade Federal Rural do Semiárido
como requisito para obtenção do título de
Doutor em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Melhoramento Genético e
Tecnologia Pós-colheita

Orientador: Prof. Dr. Glauber Henrique de
Sousa Nunes

MOSSORÓ/RN

2017

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S586d Silva, Ricardo Alexandre Moraes da.

Diversidade de acessos de maxixe (*Cucumis anguria* L.) do Norte-Nordeste brasileiro / Ricardo Alexandre Moraes da Silva. - 2017.
105 f. : il.

Orientador: Glauber Henrique de Sousa Nunes.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2017.

1. *Cucumis anguria*. 2. germoplasma. 3. qualidade de frutos. 4. compostos bioativos. 5. marcadores ISSR. I. Nunes, Glauber Henrique de Sousa, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semiárido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

RICARDO ALEXANDRE MORAES DA SILVA

**DIVERSIDADE DE ACESSOS DE MAXIXE (*Cucumis anguria* L.) DO NORTE-
NORDESTE BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Doutorado em Agronomia
do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
da Universidade Federal Rural do Semiárido
como requisito para obtenção do título de
Doutor em Fitotecnia.

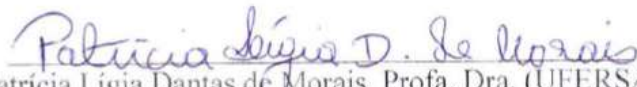
Linha de Pesquisa: Melhoramento Genético e
Tecnologia Pós-colheita

Defendida em: 31/03/2017.

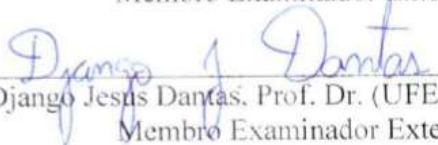
BANCA EXAMINADORA


Prof. D. Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes
Presidente


Ioná Santos Araújo Holanda, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador


Patrícia Lígia Dantas de Moraes, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador


Elaine Welk Lopes Pereira Nunes, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador Externo


Django Jesus Dantas, Prof. Dr. (UFERSA/CAPES)
Membro Examinador Externo

*À minha avó Antônia Silva Matos de Moraes (in memoriam);
Aos meus pais, Izan Nascimento da Silva e Mary Moraes da Silva;
Aos meus irmãos, Jeferson, Arthur e Felipe.*

Dedico

*À minha esposa, Ana Carolina Freitas Cruz, por seu
amor, apoio e compreensão em todos os momentos.*

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Glauber Henrique de Sousa Nunes, pelo ensinamento e orientação necessária para realização desse trabalho.

À prof^a. Dr^a. Patrícia Ligia Dantas de Moraes, por sua paciência e pela valorosa orientação sobre as análises físico-químicas do laboratório de pós-colheita.

À prof^a. Dr^a. Ioná Araújo, pelas sugestões e conselhos sobre as análises moleculares realizadas no laboratório de biotecnologia.

A todos os docentes do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, pelos ensinamentos.

À Coordenação do Doutorado Interinstitucional (DINTER) do Instituto Federal de Educação do Pará (IFPA), por promover a qualificação como docente da instituição.

À Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) e ao Departamento de Fitotecnia, por me concederem a oportunidade de realizar este curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro durante os seis meses de afastamento de minhas atividades institucionais.

Às técnicas de laboratório Naama Jessica e Juliana Maria pelo apoio, convívio e paciência na condução das análises em laboratório.

Aos alunos da Pós-graduação Darcio Abrantes, Felipe Pontes e Suzana Marjorie, pela ajuda prestada no desenvolvimento das atividades de pesquisa.

Aos colegas do grupo GERMEV, Anankia Ricarte, Cheyla Linhares, Elaíne Welk, Izabel Guimarães, Izabela Rayanne e José Maria (Dedé), pelo auxílio na instalação da unidade experimental, coleta e avaliação de frutos.

Aos meus amigos Marcos Leite, Rodrigo Antônio, Rui Chaves, Laucieny Santana, Lúber Katia, Lúcio Gemaque, Gilberta Carneiro, que enviaram as sementes de suas respectivas regiões e localidades, o meu muito obrigado.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

“O educador não deve ser necessariamente um sábio, mas sim uma pessoa diferenciada pela sua educação, costumes, valores e pelos seus modos, acessível, franco, construtivo e inspirador, enfim, o educador é aquele em que encontramos muito que imitar e pouco que corrigir”.

(Simón Bolívar).

RESUMO

SILVA, Ricardo Alexandre Moraes da. **Diversidade de acessos de maxixe (*Cucumis anguria* L.) do Norte-Nordeste brasileiro**, 2017. 105f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia/Melhoramento Genético e Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró, 2017.

O objetivo do presente trabalho foi estudar a diversidade genética de acessos de maxixe por caracteres morfoagronômicos, caracteres físico-químicos e marcadores ISSR. Foram avaliados 38 acessos e as cultivares Maxixe do Norte e Calcutá em delineamento em blocos casualizados com três repetições em Mossoró. Dezenove acessos foram provenientes da Região Norte e dezenove da Região Nordeste. A caracterização morfológica foi feita com quinze caracteres morfoagronômicos, seis caracteres físico-químicos e quatro caracteres relacionados com compostos bioativos e antioxidantes, ao passo que na molecular foram utilizados nove marcadores ISSR. O agrupamento dos acessos foi feito pela técnica hierárquica UPGMA utilizando a distância de Mahalanobis como medida de dissimilaridade para dados quantitativos (morfoagronômicos, físico-químicos e compostos ativos) e o complemento do Índice de Jaccard para dados moleculares. Utilizou-se a técnica de componentes principais para a análise morfoagronômica e físico-química. No estudo da diversidade molecular, foram estimados a porcentagem de locos polimórficos, o índice de diversidade de Shannon, a heterozigosidade e o coeficiente G_{ST} . Foi possível separar os acessos em função de sua origem quando foram utilizados conjuntamente os caracteres morfoagronômicos e físico-químicos, bem como quando foram avaliados somente os relacionados com compostos bioativos e antioxidantes. O ácido ascórbico, com 75,88%, e o peso médio do fruto, com 18,63%, foram as características que mais contribuíram para a divergência genética. Não foi possível separar os acessos quanto à sua origem na análise molecular com marcadores ISSR. A maior diferenciação molecular foi encontrada dentro das populações. Não há associação entre a diversidade dos acessos com base em marcadores ISSR e dados fenotípicos de caracteres morfoagronômicos e bioquímicos. Existe variabilidade nos acessos de maxixe das Regiões Norte e Nordeste do Brasil para caracteres morfoagronômicos, bioquímicos e marcadores ISSR. Esta variação deve ser conservada, pois apresenta potencial para uso em trabalhos de melhoramento genético.

Palavras-chave: *Cucumis anguria*; germoplasma; qualidade de frutos; compostos bioativos; marcadores ISSR.

ABSTRACT

SILVA, Ricardo Alexandre Moraes da. **Diversity of gherkin (*Cucumis anguria* L.) from North and Northeastern of Brazil**, 2017. 105p. Thesis (Doctorate in Agronomy: Plant Science/Breeding and Technology Post Harvest) – Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró, 2017.

The objective of the present work was to study the genetic diversity of gherkin accessions by morpho-agronomic characters, physical-chemical characters and ISSR markers. Thirty-eight accessions and two cultivars (Maxixe do Norte and Calcutá) were evaluated in a randomized block design with three replicates in Mossoró. Nineteen accessions came from the North Region and nineteen came from the Northeast Region of Brazil. The morphological characterization was done with fifteen morpho-agronomic characters, six physicochemical characters and four characters related to bioactive compounds and antioxidants, while nine ISSR markers were used in the molecular analysis. The clustering of the accessions was done by the UPGMA hierarchical technique using the Mahalanobis distance as a measure of dissimilarity for quantitative data (morpho-agronomics, physicochemical and active compounds) and the complement of the Jaccard Index for molecular data. The main components technique was used for morpho-agronomic and physicochemical analysis. In the study of molecular diversity, we estimated the percentage of polymorphic loci, the diversity index of Shannon, the heterozygosity, and GST coefficient. It was possible to separate the accessions according to their origin when the morpho-agronomic and physical-chemical characters were used together, as well as when only those related to bioactive compounds and antioxidants were evaluated. The ascorbic acid, with 75.88%, and the average fruit weight with 18.63% were the characteristics that contributed most to the genetic divergence. It was not possible to separate the accessions for their origin in the molecular analysis with ISSR markers. The greatest molecular differentiation was found within the populations. There is no association between the diversity in accessions based on ISSR markers and phenotypic data of morpho-agronomic and biochemical characters. There is variability in the gherkin accesses of the North and Northeast Regions of Brazil for morpho-agronomic, biochemical and ISSR markers. This variation must be conserved because it presents potential for use in genetic improvement work.

Keywords: *Cucumis anguria*; germplasm; fruit quality; cluster; bioactive compounds; IRRS markers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Localização geográfica do número de acessos coletados de maxixe em municípios da região Norte brasileira (Fonte: IBGE website. <http://www.cidades.ibge.gov.br/v3/cidades/home-cidades>, 2017)..... 40
- Figura 2** – Localização geográfica do número de acessos coletados de maxixe em municípios da região Nordeste brasileira (Fonte: IBGE website. <http://www.cidades.ibge.gov.br/v3/cidades/home-cidades>, 2017)..... 41
- Figura 3** – Área experimental com 40 acessos de maxixe provenientes das regiões Norte e Nordeste brasileira, Mossoró-RN, 2017..... 43
- Figura 4** – Descritores morfológicos quantitativos para o comprimento da folha; diâmetro da folha; comprimento do pecíolo; comprimento da haste principal; número de hastes secundárias; número de ramificações. Mossoró-RN, 2017..... 45
- Figura 5** – Descritores morfológicos quantitativos para o comprimento longitudinal do fruto; comprimento transversal do fruto e espessura da casca do fruto. Mossoró-RN, 2017..... 47
- Figura 6** – Descritores morfológicos qualitativos para cor do fruto; forma do fruto; presença e ausência de espículos; presença e ausência de listras e presença e ausência de quilhas. Mossoró-RN, 2015..... 49
- Figura 7** – Perfil eletroforético de acessos de maxixe da região Norte e Nordeste (representados pelos números de 1 a 40) usando os *primers* ISSR-03, ISSR-5, ISSR-9, ISSR-10, ISSR-12, ISSR-14, ISSR-16, ISSR-24 e ISSR-25. Mossoró-RN, 2017..... 55
- Figura 8** – Análise de agrupamento de acessos de maxixe por meio de descritores morfoagronômicos e físico-químicos, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis (com correlação cofenética = 0,95** e distorção = 0,23 %). Mossoró-RN, 2017..... 69
- Figura 9** – Distribuição de acessos de maxixe provenientes do Norte e Nordeste em função dos dois componentes principais obtidos a partir de 15 descritores morfoagronômicos e sete físico-químicos. Mossoró-RN, 2017..... 71
- Figura 10** – Análise de agrupamento de acessos de maxixe por meio de descritores de compostos bioativos, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis (com correlação cofenética = 0,92** e distorção = 0,25 %). Mossoró-RN, 2017..... 72

- Figura 11** – Distribuição de acessos de maxixe provenientes do Norte e Nordeste em função dos dois componentes principais obtidos a partir de quatro descritores (compostos bioativos). Mossoró-RN, 2017..... 73
- Figura 12** – Análise de agrupamento de acessos de maxixe por meio de marcador ISSR, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando como distância o complemento de Jaccard (com correlação cofenética = 0,77** e distorção = 0,64%). Mossoró-RN, 2017..... 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação dos 40 acessos de maxixe coletados na região Norte e Nordeste brasileira. Mossoró-RN, 2015.....	39
Tabela 2 – Análise química do solo da área experimental. Mossoró-RN, 2015.....	42
Tabela 3 – Dados climatológicos registrados no período de condução do estudo nos meses de jul. a set. 2015. Mossoró/RN (INMET, 2017).....	42
Tabela 4 – Fertilizantes minerais aplicados durante o ciclo de cultivo do maxixe e suas respectivas doses de nutrientes. Mossoró-RN, 2015.....	43
Tabela 5 – Valores de <i>deviance</i> , componentes de variância e estimativas de parâmetros genéticos para 15 caracteres morfoagronômicos de acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.....	63
Tabela 6 – Valores de <i>deviance</i> , componentes de variância e estimativas de parâmetros genéticos para sete caracteres físico-químicos (qualidade dos frutos) de acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.....	64
Tabela 7 – Valores de <i>deviance</i> , componentes de variância e estimativas de parâmetros genéticos para quatro caracteres dos compostos bioativos e atividades antioxidantes de acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.....	65
Tabela 8 – Descrição dos caracteres morfológicos de cor dos frutos (COF), formato dos frutos (FFR), presença e ausência de espículos (PAE), presença e ausência de listras (PAL), presença e ausência de quilhas (PAQ) dos 40 acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.....	67
Tabela 9 – Contribuição relativa (S_j) de 15 caracteres morfoagronômicos e sete físico-químicos para a divergência genética entre acessos de maxixe, com base na partição do total de D^2 . Mossoró-RN, 2017.....	70
Tabela 10 – Contribuição relativa (S_j) dos compostos bioativos e atividades antioxidantes para a divergência genética entre acessos de maxixe, com base na partição do total de D^2 . Mossoró-RN, 2017.....	71
Tabela 11 – Número de alelos observados (n_a), diversidade genética (h) (NEI, 1987) e índice de diversidade de Shannon (I) em <i>loci</i> ISSR utilizados em acessos de maxixe oriundos do Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.....	74
Tabela 12 – Estrutura hierárquica, diferenciação genética e fluxo gênico em locos ISSR utilizados em acessos de maxixe oriundos do Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.....	75

Tabela 13 – Resultado da AMOVA para as duas populações (regiões) de maxixe com base em marcadores ISSR. Mossoró-RN, 2017.....	76
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido Ascórbico
ABTS	2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico
ANADEV	Análise de <i>deviance</i>
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemistry</i>
AST	Açúcar Solúvel Total
ATC	Compensação automática de temperatura
ATT	Acidez Titulável Total
BAG	Banco Ativo de Germoplasma
BGH	Banco de Germoplasma de Hortaliças
CENARGEN	Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia
ECOCROP/FAO	ECOCROP/ <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
EMPASC	Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária
EPAGRI	Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
GRIN	<i>Germplasm Resources Information Network</i>
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
IPGRI	<i>International Plant Genetic Resources Institute</i>
ISRR	<i>Inter Simple Sequence Repeat</i>
NRCS	<i>The Natural Resources Conservation Service</i>
NPGS	<i>National Plant Germplasm System</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PFAF	<i>Plant for a Future</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
REML	<i>Restricted Maximun Likelihood</i>
RL	Radicais Livres
SBPC	Sociedade Brasileira para Progresso da Ciência
SELEGEN	Sistema Estatístico e Seleção Genética Computadorizada
SEPASAL	<i>Survey of Economic Plants for Arid and Semi-Arid Lands</i>
SS	Sólidos Solúveis
SSD	<i>Single Seed Descent</i>

UCB	Universidade Castelo Branco
UNEB	Universidade Estadual da Bahia
UFV	Universidade Federal de Viçosa
UPGMA	<i>Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages</i>
USDA	<i>United State Department of Agriculture</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Aspectos gerais.....	17
2.1.1 Importância socioeconômica e medicinal	17
2.1.2 Botânica e sistemática	18
2.1.3 Biologia reprodutiva e citogenética	19
2.2 Recursos genéticos	20
2.2.1 Origem, distribuição geográfica e ecologia	20
2.2.2 Coleta e intercâmbio de germoplasma	21
2.2.3 Caracterização de descritores e avaliação	23
2.2.4 Conservação de germoplasma	25
2.3 Qualidade dos frutos	27
2.3.1 Atributos de qualidade	27
2.3.2 Compostos bioativos	29
2.3.3 Radicais livres e ação antioxidante	32
2.4 Diversidade genética molecular	33
2.5.1 Detecção de polimorfismo por marcador ISSR	33
2.5.2 Medidas de dissimilaridade	35
2.5.3 Análise de agrupamento	36
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 Germoplasma	39
3.2 Caracterização da área de estudo	42
3.3 Condução do delineamento experimental	42
3.4 Descritores morfológicos	44
3.4.1 Caracterização morfológica em plantas (quantitativa)	44
3.4.2 Caracterização morfológica em frutos (quantitativo)	46
3.4.3 Caracterização morfológica em frutos (qualitativo)	48
3.5 Descritores físico-químicos	49
3.5.1 Caracterização físico-química em frutos (quantitativo)	49
3.6 Análise molecular	53

3.6.1 Obtenção de material vegetal	53
3.6.2 Extração de DNA genômica	53
3.6.3 Seleção de <i>primers</i> , reações de amplificação e eletroforese	54
3.7 Análises estatísticas	55
3.7.1 Análise para caracteres quantitativos	55
3.7.2 Análise para dados moleculares	59
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1 Análise de <i>Deviance</i> e estimativas de parâmetros genotípicos e fenotípicos	61
4.2 Diversidade para caracteres morfoagronômicos e físico-químicos	68
4.3 Diversidade para compostos bioativos	71
4.4 Diversidade molecular	73
5. CONCLUSÕES	80
6. REFERÊNCIAS	81
7. APÊNDICES	103

1. INTRODUÇÃO

Originário da África Tropical, o maxixe (*Cucumis anguria* L.) é cultivado esporadicamente em áreas concentradas nas regiões de clima tropicais e subtropicais, principalmente no Brasil e Caribe. A maior área de produção no Brasil ocorre nas regiões de forte influência da cultura africana (Norte, Nordeste e Sudeste), onde há plantas em estado semi-selvagem, subespontâneas e em cultivos consorciados com cereais (RESENDE, 1999).

Trata-se de uma planta rústica, cujos frutos são utilizados na alimentação humana, sendo consumidos crus em saladas, cozidos ou na forma de pickles (TINDALL, 1983; BAIRD; THIERET, 1988). É alimento basicamente energético, sendo uma fonte valiosa de vitaminas e sais minerais e, quando consumida *in natura*, na forma de saladas, substitui com vantagem o pepino, por ser menos indigesto (MARTINS, 1986).

Embora existam no mercado as cultivares de maxixe “Norte” e “Calcutá”, há necessidade ainda de disponibilizar genótipos de alto valor agregado para que a cultura possa ser incrementada em outras regiões ou para maximizar a produção daquelas consideradas tradicionais.

Grande parte da variabilidade genética de maxixe encontra-se nas mãos de populações tradicionais da agricultura familiar e outra em bancos de germoplasma, esta última tem como principal finalidade a manutenção e preservação da diversidade genética, constituindo importante fonte de genes de interesse nos programas de melhoramento. Portanto, para que o germoplasma seja utilizado de forma efetiva nos programas de melhoramento, atividades de caracterização e avaliação são essenciais (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2010).

Os estudos sobre a diversidade genética nas coleções de germoplasma podem ser realizados a partir de caracteres morfológicos e agrônômicos de natureza qualitativa ou quantitativa (MOREIRA et al., 1994). No estudo, podem ser utilizados vários métodos, cuja escolha baseia-se na precisão desejada pelo pesquisador, na facilidade da análise e na forma como os dados foram obtidos (CRUZ, 2005; CARVALHO et al., 2003).

Independentemente dos descritores usados na caracterização, os resultados devem possibilitar distinção dos acessos, identificar duplicatas e acessos com características relevantes e de interesse aos diversos programas de melhoramento (COSTA et al., 2009), como resistência às doenças, arquitetura ereta das plantas, potencial de produção, dentre outras.

A caracterização física e química de frutos e a quantificação de componentes bioativos são importantes para o conhecimento do valor nutricional e, do ponto de vista comercial, para agregar valor e qualidade ao produto final. Dentre os compostos com propriedades funcionais

em alimentos, substâncias com atividade antioxidante têm recebido grande atenção, pois auxiliam a proteger o organismo humano contra o estresse oxidativo, evitando e prevenindo uma série de distúrbios crônicos degenerativos (YAHIA, 2010).

Diversos fatores podem influenciar as características físicas e físico-químicas dos frutos, dentre os quais se destacam condições edafoclimáticas, tratos culturais, época de colheita, constituição genética, o estágio de maturação e do tratamento pós-colheita, dentre outros (FAGUNDES; YAMANISHI, 2001). Tais características são fatores de qualidade de fundamental importância à utilização e comercialização da polpa dos frutos e para elaboração de produtos industrializados (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Por outro lado, a caracterização física dos frutos tem grande importância quando se refere à determinação da variabilidade genética de uma espécie que pode subsidiar programas de melhoramento genético, bem como sua relação com os fatores ambientais (CARVALHO et al., 2003).

Os marcadores moleculares são outra forma de caracterização de bancos de germoplasma, podendo contribuir para a prevenção de perdas genéticas, que podem acontecer durante a multiplicação dos acessos, bem para o planejamento de novas coletas, ao identificar áreas geográficas com maior variabilidade genética ao estudar os dados dos acessos (HOSHINO et al., 2002).

A aplicação de marcadores na avaliação da diversidade genética por si só é a finalidade primordial, mas a partir dela podem ser inferidos os relacionamentos filogenéticos entre acessos, o que pode facilitar, por exemplo, a introgressão de alelos de interesse em acessos de espécies silvestres. Em termos práticos, a caracterização da diversidade genética de bancos de germoplasma faz parte das atividades de pré-melhoramento.

Além disso, a caracterização com marcadores moleculares pode auxiliar os melhoristas na determinação das relações genéticas e na exploração das diferenças genéticas entre acessos, facilitando, dessa forma, a definição da direção de cruzamentos, a seleção de progenitores com característica de interesse e até o acompanhamento da introgressão de genes durante o programa de melhoramento (PEREIRA et al., 2009).

Diante do exposto, o estudo teve como objetivo caracterizar os aspectos morfoagronômicos, físico-químicos e os compostos bioativos dos frutos, bem como determinar a divergência genética de acessos de maxixe coletados nas regiões Norte e Nordeste brasileiras, com a finalidade de auxiliar futuros trabalhos de seleção de alelos de interesse e preservar a variabilidade da espécie.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais

2.1.1 Importância socioeconômica e medicinal

No Brasil, o maxixe (*Cucumis anguria* L.) – assim como o maxixe-do-reino (*Cyclanthera pedata*), abóbora d'água (*Benincasa hispida*), cubiu (*Solanum sessiliflorum*), mangarito (*Xanthosoma* sp.), vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*), feijão-deasa (*Psophocarpus tetragonolobus*), serralha (*Sonchus oleraceus*) – faz parte de um grupo de hortaliças chamado de “não-convencionais”, pelo fato de que elas são pouco conhecidas pelo público consumidor ou porque essas espécies são vinculadas às questões culturais, sociais e econômicas. Atualmente, elas são cultivadas por populações tradicionais como os agricultores familiares e comercializados principalmente em feiras livres (SOUZA et al., 2012).

A maior área de produção de maxixe situa-se nas regiões Norte e Nordeste, com forte influência da cultura africana, em virtude do tráfico de escravos ocorrido há 300 anos, com a introdução da hortaliça. A espécie na Amazônia é chamada simplesmente de maxixe ou pepino-de-índio. Em outras regiões do país, é conhecida como maxixe-bravo, maxixe-do-norte, maxixeiro, maxixe-do-mato, maxixo, pepino-castanha, pepino-de-burro, pepino espinhoso, cornichão e cornichão das Antilhas (MORETONI, 2008).

A produtividade varia de acordo com a região do país e época de plantio, alcançando 16 ton.ha⁻¹ na região Norte, e cerca de 10 ton.ha⁻¹ em São Paulo, nos meses de setembro a fevereiro. Por outro lado, é na região Nordeste que se concentra a maior parte das áreas produtoras dessa hortaliça, sendo plantada para fins de subsistência, em solo arenoso, e sem maiores cuidados no cultivo (MICHEREFF FILHO et al., 2010).

No Nordeste, o consumo ocorre na forma de "maxixada", que consiste no uso de frutos parcialmente imaturos cozidos com outros ingredientes. Embora não seja habitual, esta hortaliça também pode ser consumida na forma *in natura* (em saladas) ou cozida junto com outras hortaliças em pratos à base de carnes. Para fins agroindustriais, apresenta destacado potencial para uso em conserva, na forma de pickles (MODOLO; COSTA, 2003).

Seus frutos são pouco calóricos e fonte de sais minerais. A presença do zinco lhe confere propriedades medicinais na prevenção de problemas na próstata, no controle do colesterol no sangue e na cicatrização de ferimentos (SILVA et al., 2009).

2.5.3 Botânica e sistemática

Quanto à classificação, o maxixe pertence à família das *Cucurbitaceae*, na qual há cerca de 120 gêneros e 825 espécies (SCHAEFE; RENNERT, 2011), predominantemente de ervas

rastejantes ou lianas com gavinhas, possuindo folhas alternas, simples, palmatinérveas normalmente lobados e sem estípulas (AJMAL; PANDEY, 2005-2006). As flores são monóicas, actinomorfas e unissexuais de cor amarelo brilhante, grandes e vistosas, ocorrendo de forma isolada nas axilas das folhas (BAILEY, 1989). O androceu é composto de 5 estames, às vezes unidos pelas anteras, filetes e algumas vezes com tecas retorcidas. O gineceu consiste de ovário ínfero, geralmente tricarpelar, unilocular e composto por muitos óvulos. Fruto baga (peponídio) ou rara cápsula carnosa ou seca e opercular (UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO, 2010).

Dentre os gêneros mais comuns, destacam-se: *Trichosanthes* (100 espécies), *Cayaponia* (60 espécies), *Momordica* (47 espécies), *Gurania* (40 espécies), *Sicyos* (40 espécies), *Cucumis* (34 espécies), *Curcubita* (27 espécies) e *Coccinia* (30 espécies), muitos das quais são utilizados como alimentos (SCHAEFER; RENNER, 2011).

Atualmente, apenas três espécies do gênero *Cucumis* são cultivadas em grande escala. O pepino (*Cucumis sativus*) e o melão (*Cucumis melo*) apresentam grande valor comercial, sendo ambos cosmopolitas. Por sua vez, o maxixe (*Cucumis anguria*) é utilizado como alimento em menor escala em algumas regiões do Brasil, no oeste da Índia e no Caribe (MODOLO; COSTA, 2003).

O maxixe taxonomicamente divide-se em: reino, *Plantae* (planta); subreino, *Tracheobionta*; superdivisão, *Spermatophyta* (planta com semente); divisão, *Magnoliophyta* (plantas com flores); classe, *Magnoliopsida* (dicotiledôneas); subclasse, *Dilleniidea*; ordem, *Violales*; família, *Cucurbitaceae*; gênero, *Cucumis*; e espécie, *Cucumis anguria* L. (NRCS/USDA, 2012).

Morfologicamente, *C. anguria* é uma planta trepadeira herbácea de haste fina, cujos ramos podem chegar até 3 m de comprimento, pertencendo ao grupo de plantas anuais e bienais. As hastes são rastejantes ou escandentes, apresentando gavinhas solitárias, simples e com cerdas, podendo alcançar de 3 a 6 cm de comprimento, além disso, as hastes são sulcadas e pilosas (MAHAJAN et al., 2014).

Os frutos (4 a 5 cm × 3 a 4 cm em dimensões) são bagas com formato ovoide a oblongos para subglobosos. A superfície dos frutos pode ter verrugas ou espinhos flexíveis ou pele lisa e com mesocarpo de cor pálido a verde (ECOCROP/FAO, 1993-2007). As plantas produzem grande número de frutas durante todo o período vegetativo. As sementes são de formato elíptico, achatado, liso, com margens arredondadas e 5 a 6 mm de comprimento.

As folhas de *C. anguria* apresentam hábito decíduo, são simples, alternas, sem estípulas e com pecíolos variando de 6 a 13 cm de comprimento. As lâminas, em linhas gerais, são

amplamente ovaladas, com 3 a 12 cm × 2 a 12 cm de dimensão, palmatinérveas, lobadas (3 a 5 lóbulos) e pilosas em ambas as faces da superfície (BAIRD; THIERET, 1998; MAHAJAN et al., 2014).

As flores do maxixe são unissexuais, regulares, pentâmeras, actinomorfas, com sépalas e pétalas soldadas entre si do tipo gamossépalas e gamopétalas, respectivamente. As flores masculinas são em fascículo de 2 a 10 flores, com pedicelos de 0,5 a 3 cm de comprimento e 3 estames. Por sua vez, as flores femininas são solitárias, com pedúnculo de 2 a 10 cm de comprimento, apresentam ovário ínfero, elipsoide, alcançando de 7 a 9 mm de comprimento, suavemente espinhosos e estigma com 3 lóbulos (MAHAJAN et al., 2014).

2.1.3 Biologia reprodutiva e citogenética

A maioria das espécies de cucurbitáceas é monoica (ambos os sexos na mesma planta) ou dioicas (todas as flores de um único sexo na mesma planta), com uma espécie androdioica conhecida (AKIMOTO et al., 1999) e várias espécies andromonoicas (BOUALEM et al., 2008). A maioria das cultivares de melão (*C. melo*) é andromonoicas, ao passo que pepinos (*C. sativus*) e maxixes (*C. anguria*) são normalmente monoicas (MCGREGOR, 1976).

Em *C. anguria*, os sistemas de reprodução sexual podem ser de autopolinização, mas predominantemente são de polinização cruzada (alógamas) realizada por abelhas e com fertilização ocorrendo em 24 h. As flores masculinas aparecem em primeiro lugar, seguidas por aqueles do sexo feminino, com abertura ao nascer do sol e permanecendo funcionais até por volta do meio-dia (SEPASAL, 2016).

Em todo o mundo, está crescendo o interesse no estudo da polinização das culturas agrícolas, devido à sua essencialidade para as necessidades humanas e nas relações ecológicas. Um grupo de plantas muito estudado quanto à polinização são as cucurbitáceas, que, em sua maioria, dependem de agentes polinizadores (SERRA; CAMPOS, 2010).

A deficiência ou ineficiência de polinizadores pode resultar em baixa produção de frutos, além de causar tamanho reduzido e/ou defeituoso em cucurbitáceas (WALTERS; TAYLOR, 2006).

As flores femininas de *C. anguria* são visitadas principalmente pelos polinizadores da espécie *Trigona guianae* (família Apidae), *Augochlora sp.* (família Halictidae) e *Apis mellífera* (família Apidae). Os indivíduos mais frequentes e atraídos pelas flores femininas são as abelhas *Trigona guianae*, em seguida vêm as *Augochlora sp.* Os horários de visitação dos

polinizadores iniciam-se às 06h00, podendo ser observado até 12h00, com maior frequência no período das 8h00 às 9h00 (SOUSA et al., 2013).

Investigações citológicas do gênero *Cucumis* identificaram 17 espécies na África do Sul Ocidental (MEEUSE, 1962) e 13 espécies na África Tropical Oriental (JEFFREY, 1967), como diploides, contendo $2n = 24$ cromossomos de células somáticas. Também foram recolhidas espécies tetraplóides ($2n = 48$ cromossomos) na África do Sul e Oriental (SHIMOTSUMA, 1965) e hexaploides ($2n = 72$ cromossomos) na Nigéria (JEFFREY, 1967). Embora a maioria das espécies de *Cucumis* seja encontrada em condições diploides, os poliplóides deste gênero não são tão raros quanto se pensava inicialmente (KOZUCHOV, 1930; SHIMOTSUMA, 1965).

Espécies classificadas como *C. anguria* e *C. longipes* ($2n = 24$ cromossomos), são consideradas da mesma espécie e são descritas como uma variedade (*longipes*) de *C. anguria* (MEEUSE, 1958; 1962). Estudos de análise de isoenzimas em *C. anguria* recolhidos na Etiópia e do Brasil contribuíram na classificação de ambas as variedades (DANE; TSUCHIYA, 1976; CARVALHEIRA et al., 1991).

Estudos sobre o número de cromossomos e configurações meióticas podem, em conjunto com bioquímica, hibridação e estudos morfológicos, fornecer uma ferramenta útil e importante na identificação de espécies e em estudos de rastreamento das relações filogenéticas e evolução de espécies de plantas (DANE; TSUCHIYA, 1976).

2.2 Recursos genéticos

2.2.1 Origem, distribuição geográfica e ecologia

C. anguria é uma espécie de origem africana e ocorre de forma selvagem na África Oriental e Austral. Apresenta frutos amargos, mas ocasionalmente ocorrem os tipos não amargos (MEEUSE, 1958; SEPASAL, 2016).

As sementes foram levadas para as Américas com o tráfico de escravos, onde o maxixe cultivado foi desenvolvido. Este tipo comestível, não amargo, se espalhou através do Caribe, em partes da América Latina e do sul dos Estados Unidos. Verifica-se agora que pode ser encontrado em um estado semi-selvagem como uma fuga de cultivo e, em alguns casos, parece ser um elemento da flora indígena (REHM et al., 1957; BATES et al., 1990; SCHIPPERS, 2000).

É uma erva invasora em partes da América do Norte e na Austrália, e uma erva daninha séria em campos de amendoim do sul dos Estados Unidos. A forma comestível não amarga foi reintroduzida na África (por exemplo, Cabo Verde, Senegal, Serra Leoa, República

Democrática do Congo, Reunião, Madagascar, África do Sul), onde é cultivada por seus frutos (MEEUSE, 1962; BURKILL, 1985; VAN WYK; GERICKE, 2000). Em Madagascar, *C. anguria* provavelmente não é originalmente selvagem, porém naturalizada, pois localiza-se em torno de habitações humanas (KERAUDREN, 1966).

No Brasil, a espécie é encontrada nas regiões Norte, Nordeste e Centro-oeste, cultivada em pequenas áreas por agricultores familiares ou crescendo de forma subespontânea no meio de outras plantações. O mesmo já não ocorre na região Sul e parte da região Sudeste, onde sua comercialização é intermitente e, em geral, regionalizada (MELO; MOREIRA, 2007).

As espécies selvagens de *C. anguria* são habitantes comuns de florestas semidecíduas e decíduas, árvore, arbusto de savana, pastagens e semideserto, encontrados até 1500 m de altitude. Formas selvagens e semidomesticadas podem ser encontradas crescendo perto de compostos, nas florestas e pastagens, muitas vezes em terras cultivadas abandonadas, curral de gado ou, ocasionalmente, como uma erva daninha no cultivo (JEFFREY, 1978; PFAF, 2016).

2.2.2 Coleta e intercâmbio de germoplasma

Uma das formas de obtenção de germoplasma é por meio de coleta, em que o conceito remete a algum tipo de unidade física viva, contendo a composição genética de um organismo ou amostra de uma população de determinada espécie, com a habilidade de ser reproduzida (WALTER; CAVALCANTI, 2005). O germoplasma coletado pode ser manejado e conservado na forma de sementes, mudas, estacas, grãos de pólen ou, ainda, por meio de cultura de tecidos (BALICK, 1989).

A escolha do local apropriado para realizar a coleta de germoplasma está totalmente relacionada ao sucesso da coleta, e estes locais são conhecidos como “sítios de coleta” ou “sítios de amostragem”, encontrados em centros de diversidade primária e secundária das espécies de interesse (HAWKES, 1976, 1980). São os locais onde ocorre a maior diversidade das espécies de interesse, e estes sítios variam muito quanto às espécies cultivadas e nativas e podem ser resumidos de forma geral em áreas de cultivo e *habitat* silvestre (WALTER; CAVALCANTI, 2005; WALTER et al., 2007).

A informação sobre a área de distribuição, os tipos de ambientes de ocorrência e a definição de subpopulações, mesmo sem a informação genética, mas com base em aspectos ecogeográficos, são fundamentais como medidas a definir antes do início de uma ação de coleta de germoplasma (CAVALCANTI, 2015).

Por sua vez, a informação genética fornecida por marcadores moleculares para auxiliar na coleta de germoplasma permite a obtenção das melhores amostras possíveis por meio do esclarecimento do modo de reprodução, do nível de autogamia, do nível de divergência genética entre os locais de coleta ou subpopulações, da área de dispersão de pólen e sementes, do grau de relacionamento genético ou coancestralidade das plantas adultas em condições naturais e dos sítios (CROSSA; VENCOSKY, 2011).

O uso e aplicação dessas medidas tornam-se importantes porque a conservação de germoplasma requer que a coleta seja capaz de capturar a máxima variação genética possível e, além disso, exige ainda que, durante os processos de conservação propriamente ditos e de regeneração, a perda de variabilidade seja mínima (ASTLEY, 1992).

Um dos locais de fontes de coleta de germoplasma de *C. anguria* pode ser aquele onde a espécie se encontra em seu estado indígena (centro de origem), em alguns países da África, como: Angola; Botswana; República Democrática do Congo; Malawi; Moçambique; Namíbia; África do Sul; Suazilândia; Tanzânia; Zâmbia e Zimbabwe (GRIN/NPGS, 2008).

Outros “sítios de coleta” do maxixe são os centros de diversidade nas Américas, onde a espécie se tornou naturalizada, com ocorrência em países como: Anguilla, Antígua e Barbuda; Barbados; Brasil; Ilhas Cayman; Costa Rica; Cuba; República Dominicana; Equador; Guiana Francesa; Grenada; Guadalupe; Guatemala; Haiti; Honduras; Jamaica; Martinica; México; Antilhas Holandesas; Nicarágua; Panamá; Peru; Porto Rico; Santa Lúcia; São Vicente e Granadinas; Suriname; Estados Unidos; Venezuela e Ilhas Virgens Americanas (NPGS/GRIN, 2008; NRCS/USDA, 2012).

O intercâmbio de germoplasma é outra forma de obtenção de acessos, realizado por meio de exportação, importação e trânsito interno. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) é a responsável por toda a atividade de intercâmbio e quarentena de germoplasma vegetal para suprir a necessidade do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (FERREIRA; CARLOS, 2009; BRUCKNER, 2011).

Os acessos de germoplasma do gênero *Cucumis* importados para o Brasil foram procedentes dos Estados Unidos com destino à Embrapa Hortaliças (9 acessos) e à Embrapa Agroindústria Tropical (18 acessos), e do Japão para a Embrapa Hortaliças (4 acessos). Há registro de intercâmbio de trânsito interno procedente da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária (EMPASC), enviando, respectivamente, um e dois acessos à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (GONZAGA et al., 1999).

No caso do intercâmbio de recursos genéticos de *C. anguria*, esse tem ocorrido principalmente pelo trânsito interno, por meio de coletas em lavouras familiares, hortas, pomares caseiros, mercados, feiras e *habitats* silvestres (QUEROL, 1993).

Em trabalho de Moura et al. (2005), os 19 acessos de maxixe utilizados foram de trânsito interno procedentes dos municípios de Itapecuru/MA, Turiaçu/MA, Fortaleza dos Nogueiras/MA, Guimarães/MA, Arari/MA, Fortuna/MA, S. L. Gonzaga/MA, Brumado/BA, Mirindiba/BA, Queimado/BA, Ribeirão do Pombal/PE e Teresina/PI.

2.2.3 Caracterização de descritores e avaliação

Caracterização é uma atividade essencial no manejo das coleções de germoplasma e consiste em obter dados para descrever, identificar e diferenciar acessos de uma mesma espécie, fornecendo informações para a conservação e uso de recursos genéticos (BURLE; OLIVEIRA, 2010). Existem diferentes formas complementares de caracterização: morfológica, citogenética, química, bioquímica e molecular (SALOMÃO, 2010).

O compartilhamento de informações sobre a caracterização morfológica de recursos genéticos entre diferentes grupos de pesquisa, em diferentes lugares do mundo, só é eficiente se todos usarem os mesmos critérios de avaliação, ou seja, os mesmos descritores (GOTOR et al., 2008).

Um descritor pode ser definido como atributo ou característica mensurável, que é observado em um acesso de um banco de germoplasma (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). O desenvolvimento de descritores, os quais são adotados como padrões na documentação do germoplasma, é uma atividade primordial para o compartilhamento das informações sobre recursos genéticos e promover o intercâmbio e uso desses recursos (BARBIERI; CASTRO, 2015).

Os descritores podem ser quantitativos (como número de sementes por fruto, número de dias da emergência à floração e comprimento do fruto) ou qualitativos (como cor da folha, presença de antocianina no caule e textura da casca do fruto), os quais, por sua vez, auxiliam na descrição das características das plantas, permitindo verificar a diferenciação entre acessos distintos, tendo grande utilidade para a gestão de banco de germoplasma, caracterização, avaliação, conservação e uso dos acessos (BARBIERI; CASTRO, 2015).

As características mais adequadas para servirem como descritores são aquelas altamente herdáveis, normalmente controlada por pouco genes, que se expressam igualmente em todos os ambientes, ou seja, apresentam baixa interação genótipo x ambiente (BURLE; OLIVEIRA, 2010).

Para as coleções de germoplasma de *Cucumis anguria* da Embrapa Meio-Norte e a Embrapa Semiárido, os descritores qualitativos estudados foram: textura da casca (presença ou ausência de espículos e sua densidade), formato e listra dos frutos, cor dos frutos e da polpa, ao passo que os descritores quantitativos caracterizados foram o comprimento de rama principal, número de ramos principais, número de sementes, número de frutos, diâmetro e comprimento médio, teor de sólidos solúveis (SS) e peso médio (DUARTE; QUEIROZ, 2002; SOUZA et al., 2008).

Avaliações morfológicas e agronômicas de acessos tornam-se importantes porque agregam valor ao recurso genético depositado para conservação e estimulam seu uso pelos clientes do banco. A avaliação permite também identificar e separar geneticamente os acessos que compõem a coleção de germoplasma, fornecendo ao catálogo de descritores dos acessos informações essenciais ao manejo e gestão de coleção, além de estimular a utilização destes acessos no melhoramento de genético de plantas ou diretamente na agricultura (RANGEL et al., 2015).

A avaliação morfológica para caracterização de acessos para a mais óbvia distinção e, conseqüentemente, a primeira avaliação utilizada é a observação da aparência da planta (em campo, casa de vegetação e ripados), em que as características morfológicas são facilmente diferenciáveis a “olho nu”, como os caracteres organográficos (estruturas externas): hábito de crescimento, porte, formato da copa, das folhas, flores, frutos, sementes, cores em geral e outros; seguido daqueles com caracteres anatômicos (estruturas internas), minuciosamente detalhados normalmente em laboratório (BERNACCI et al., 2015).

Comumente na avaliação agronômica, os descritores são fortemente influenciados pelo ambiente e, portanto, necessitam de ensaios e técnicas especiais para serem adequadamente avaliados. Neste tipo de descritores, estão incluídos caracteres como: tolerância a estresses biótico e abióticos, produtividade, ciclos, altura e arquitetura da planta, etc. (RANGEL et al., 2015).

Paiva (1984), trabalhando com 64 progênies de maxixe, observou variância genética superior à ambiental, exceto para o peso médio dos frutos. Por sua vez, os resultados de herdabilidade e o ganho esperado com a seleção de 15% das melhores progênies em relação à população original foram altos para número, peso e produção de frutos/planta.

Outro trabalho de Paiva (1994), com 19 progênies de meios-irmãos de maxixe com epiderme sem espículo, apresentou altos valores de herdabilidade e ganhos de seleção a 20% ao nível de médias para número de frutos e produção.

Em trabalho de Azevedo Filho; Melo (2003), foi confirmada variabilidade entre os genótipos para acessos de maxixe por meio da média geral, desvio padrão e coeficiente de variação na avaliação agronômica de descritores para o peso médio do fruto, número total de frutos e produção/planta. Na avaliação morfológica, não foram observadas diferenças entre os acessos para os descritores de coloração e formato do fruto, exceto para presença/ausência de espinhos.

Em outro estudo, foram envolvidos cinco descritores agronômicos do fruto (peso, número de frutos/planta, comprimento, diâmetro e comprimento do pedúnculo) em que o desempenho do acesso foi avaliado pela análise univariada (teste Scott-Knott) e o método de Tocher (técnica de agrupamento), resultando na diferença entre as médias para todos os descritores analisados, comprovando a variabilidade entre os acessos estudados (MOURA et al., 2005).

Resultados semelhantes também foram constatados por Souza (2008), quando analisou caracteres morfológicos e agronômicos e identificou variabilidade genética no maxixe para os seguintes descritores: haste principal, número de ramos, presença/ausência de espículos, formato e peso médio dos frutos, sólidos solúveis e presença/ausência de listras nos frutos.

Dantas (2014) avaliou famílias de meio-irmãos de duas populações (frutos com e sem espículos) para seis caracteres agronômicos, concluindo que ambas têm potencial para o envolvimento em programas de melhoramento visando à obtenção de plantas com frutos grandes e produtivos. Por sua vez, a seleção indireta com base na seleção de plantas com maior número de frutos por plantas mostrou-se eficiente para a seleção de famílias com frutos grandes, compridos e plantas produtivas.

2.2.4 Conservação de germoplasma

A conservação *ex situ* é definida com aquela em que o germoplasma é mantido fora de seu ambiente natural, para fins de domesticação, e por estar sofrendo pressões que podem levá-lo à extinção ou para estar mais facilmente disponível. Na medida do possível, esta conservação é feita sob condições que propiciem o período de sobrevivência e garantam a estabilidade genética do material conservado (VALOIS et al., 2001).

As modalidades de conservação *ex situ* complementam a preservação da variabilidade genética de muitas espécies. Basicamente existem três formas de manutenção *ex situ*, que dependem de características reprodutivas do germoplasma a ser conservado, como: conservação de sementes; conservação *in vitro* e conservação no campo (DANTAS; LUZ, 2015).

A conservação de sementes é uma das formas mais eficazes e de menor custo para a preservação dos recursos genéticos. Porém, muitos fatores afetam a manutenção das sementes, uma vez que influenciam a sua qualidade fisiológica ainda quando estas se encontram associadas à planta-mãe, durante a colheita, manuseio e transporte, condições fitossanitárias, condições de umidade e temperatura de armazenamento e tipo de embalagem (JUSTICE; BASS, 1978).

Roberts (1973) definiu uma classificação, de acordo com a tolerância das sementes à dessecação e baixa temperatura, categorizando as sementes em ortodoxas, aquelas que podem ser dessecadas a baixo conteúdos de água (limitada a 2-5%); recalcitrantes, as que não sobrevivem com conteúdo de água menor que 12-13%; intermediárias, que toleram a desidratação (5-10%).

Sendo assim, a conservação de sementes em câmara fria só pode ser realizada para as espécies que apresentam sementes ortodoxas (longo prazo) ou intermediárias (curto prazo), a depender do tempo necessário (PÁDUA; JOSÉ, 2015).

Segundo Sousa; Souza (2001), o método de manutenção a campo é indicado para espécies com sementes recalcitrantes ou intermediárias, por não toleram desidratação e armazenamento a baixas temperaturas.

A conservação *ex situ* a campo é indicado para espécies que não produzem sementes, espécies que produzem sementes recalcitrantes e intermediárias e espécies que produzem sementes ortodoxas, mas são altamente heterozigotas e, normalmente, são de propagação vegetativa (VALOIS et al., 2001). Enquanto o germoplasma de semente é armazenado em câmaras frias, as plantas são mantidas a campo para multiplicação/regeneração e caracterização dos acessos armazenados (SILVA et al., 2007).

Segundo a FAO (2010), metade dos acessos conservados em todo o mundo encontra-se armazenada sob a forma de sementes, todavia, não há estimativa quanto ao percentual de acessos conservados a campo.

A conservação da variabilidade genética de espécies agrícolas, hortícolas e outras, em curto e médio prazos, é feita em Banco Ativos de Germoplasma (BAG) e esse acervo é denominado Coleção Ativa (DANTAS; LUZ, 2015). Essa coleção tem caráter dinâmico e visa a atender imediatamente os programas de melhoramento e de intercâmbio de germoplasma.

Queiróz (2011), em seu levantamento sobre o germoplasma de cucurbitáceas no Brasil, constatou cerca de 6.500 acessos, identificando aproximadamente 1000 no Banco de Germoplasma de Hortaliças/BGH da Universidade Federal de Viçosa/UFV; 500 acessos na Embrapa Clima Temperado; 3082 acessos na Embrapa Hortaliças; 1500 na Embrapa

Semiárido; 1800 acessos do Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais da Universidade do Estado da Bahia/UNEB e, por fim, alguns acessos no Instituto Agrônomo de Campinas/IAC.

Para a espécie *C. anguria*, o acervo registrado apresenta 29 acessos preservados no BAG do Instituto Agrônomo de Campinas/IAC (MELO; MOREIRA, 2007); 35 acessos no Banco de Germoplasma de Hortaliças/BGH da Universidade Federal de Viçosa/UFV (SILVA et al., 2001); 108 acessos no BAG da Embrapa Semiárido (QUEIRÓZ, 2001) e 3 acessos no BAG da Embrapa Meio-Norte (DUARTE; QUEIRÓZ, 2002).

2.3 Qualidade dos frutos

2.3.1 Atributos de qualidade

As características físico-químicas avaliadas nas frutas, em geral, compreendem o teor de sólidos solúveis totais, acidez total titulável, açúcares redutores, açúcares totais, pH, teor de ácido ascórbico, carotenoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Ressalta-se que concentração destes compostos presentes nas frutas pode variar em decorrência de diversos fatores, como condições climáticas, localização geográfica, aplicações de agrotóxicos, estágio de maturação, processamento, armazenamento, dentre outros (DE SOUZA et al., 2012).

A determinação do pH, por meio eletrométrico, também é importante e avalia a concentração de íons hidrogênio em uma amostra. O valor do pH determina o tratamento térmico ao qual o alimento deverá ser submetido e também interfere na textura de alimentos e ponto de gelificação de frutas (PARK; ANTÔNIO, 2006).

Nascimento et al. (2011), em estudo sobre maxixe em conserva, observaram que o pH em salmoura teve seu valor reduzido se comparado com os 5,37 de pH de frutos *in natura*.

Resultados semelhantes também foram confirmados em trabalho envolvendo a qualidade pós-colheita em maxixe, com pH variando de 5,36 a 5,99 (SILVEIRA et al., 2015).

Os sólidos solúveis (SS) são compostos solúveis em água e seu teor é considerado importante parâmetro de qualidade do fruto, determinado por refratometria e expresso em °Brix, havendo tendência ao aumento com a maturação. O teor de SS fornece um indicativo da quantidade de açúcares existentes no fruto, considerando que os outros compostos, embora em reduzidas porções, também fazem parte, como, por exemplo, ácidos, vitaminas, aminoácidos e algumas pectinas. O teor de SS sugere a doçura do fruto, como importante variável na determinação de seu sabor (KAWAMATA, 1997; NUNES 2001).

Em trabalho de Souza et al. (2008), avaliando 18 acessos de maxixe da Embrapa Semiárido, verificou-se, 40 dias após a polinização manual e controlada (PMC), uma variação de sólidos solúveis de 2,4 a 3,6 °Brix em frutos imaturos.

Dantas (2014), analisando 100 famílias de meios-irmãos de maxixe das populações MCE-20 (frutos com espículos) e MSE-03 (frutos sem espículos) para o caráter sólidos solúveis, observou estimativas de médias de 3,83 e 3,93 para as populações MCE-20 e MSE-03, respectivamente.

Os açúcares ou açúcares solúveis totais (AST) são os principais produtos da fotossíntese, encontrados em todas as frutas e vegetais. Os açúcares são sintetizados pelas plantas para armazenar energia essencial ao seu crescimento, desenvolvimento e formação de complexos responsáveis pelos componentes estruturais da planta. Nas frutas, a decomposição do açúcar acontece durante o processo de maturação, onde parte do amido se converte em moléculas mais simples, conferindo a elas o gosto doce que lhes é peculiar (DUCKWORTH, 1966; RODRIGUES, 2009).

Silva (2012), trabalhando com frutos de maxixe tratados com diferentes doses de permanganato de potássio (KMnO_4) por 10 dias em condições de armazenamento a 10 °C, observou redução dos teores de açúcares solúveis de 1,44%, 1,39%, 1,44%, 1,36% e 1,48%, respectivamente, para as doses de 0, 1, 2, 3 e 4 g de KMnO_4 .

Silva (2016), em estudo com cultivares comerciais de maxixe Norte e Liso Calcutá, percebeu ao longo do desenvolvimento dos frutos aumento de 1,6 vezes no teor de açúcares até 11,5 e 11,8 dias após a antese, quando apresentou valor máximo de 1,9% e 1,8%, respectivamente.

A acidez titulável total (ATT) de uma fruta é o somatório dos ácidos orgânicos que se encontram dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre quanto combinada com seus sais e ésteres. São compostos com um a três grupos carboxílicos (COOH) responsáveis pelas propriedades ácidas e que liberam H_3O^+ . Estes compostos são sintetizados a partir de açúcares, por meio de oxidações ou carboxilações de outros ácidos orgânicos na via respiratória do Ciclo de Krebs (KAYS, 1991).

A acidez é uma importante característica de qualidade e é bastante variável em função tanto de fatores ambientais quanto de fatores da própria planta (cultivar, estágio de maturação, etc.) (CHITARRA, 1997).

De acordo com Morais et al. (2009), na maioria dos frutos a acidez representa um dos principais componentes do *flavor*, pois sua aceitação depende do balanço entre ácidos e açúcares, sendo que a preferência incide sobre altos teores desses constituintes.

Segundo Nascimento et al. (2011), avaliando maxixes em conserva ao fim de 90 dias, o grau de acidez apresentou valor de 2,16 (g/100 g de ácido cítrico).

Resultados próximos foram observados por Silveira et al. (2015), com valores médios entre 3,23 e 3,34 (g/100 g de ácido cítrico), em estudo da qualidade pós-colheita de maxixe revestido com amido de milho.

Quanto à relação SS/ATT, de acordo com Chitarra; Chitarra (2005), essa variável indica o grau de doçura de um fruto ou de seu produto, evidenciando o sabor predominante (doce ou ácido ou, ainda, se há equilíbrio entre eles). Essa relação é uma das formas mais utilizadas para a avaliação do sabor, sendo mais representativo do que a medição isolada de açúcares ou da acidez.

Com dados de Silveira et al. (2015) sobre sólidos solúveis totais e acidez titulável totais, chegou-se a valores médios entre 1,57 a 1,80 para a relação de SS/ATT, ao avaliar a qualidade pós-colheita de frutos de maxixe.

2.3.2 Compostos bioativos

Os alimentos de origem vegetal apresentam compostos com atividades biológicas ditas promotoras de saúde, tais como: antioxidantes, anti-inflamatórias e hipocolesterolêmica. A possibilidade de reduzir o risco de doenças por meio da dieta tem atraído a atenção tanto da comunidade científica quanto das indústrias alimentícias, com o objetivo comum de desenvolver os atualmente conhecidos “alimentos funcionais”, ricos em um ou mais compostos bioativos que apresentam efeitos positivos na saúde (PINTO, 2008).

A vitamina C, ou ácido ascórbico (AA), é uma substância hidrossolúvel e termolábil, encontrada principalmente em alimentos de origem vegetal, como as frutas. O teor desta vitamina nas frutas pode variar significativamente conforme as espécies, condições de plantio, tipo e frequência de irrigação, utilização de defensivos agrícolas, estágio de maturação, manuseio pós-colheita e condições de estocagem e processamento (CARDOSO et al., 2011; CELLI et al., 2011). Assim, o conteúdo e a estabilidade do ácido ascórbico nas frutas podem ser utilizados como indicativo da qualidade nutricional e do estado de conservação desses alimentos (VALENTE et al., 2011).

Embora essas substâncias orgânicas estejam presentes em pequenas quantidades nos alimentos, sobretudo nas frutas e hortaliças, são indispensáveis ao funcionamento do organismo, pois atuam na forma de cofatores de enzimas. Sua ausência sistemática na dieta quase sempre resulta em crescimento e desenvolvimento deficientes e noutras perturbações

orgânicas, configurando-se um quadro sintomatológico característico de deficiência (NELSON; COX, 2011).

O ácido ascórbico age como sequestrante de espécies reativas do oxigênio, formadas, em geral, durante o metabolismo normal das células. Os produtos da oxidação do ácido ascórbico (radical ascorbila e dehidroascórbico) são pouco reativos, quando comparados a outros radicais livres. Esta propriedade torna o ácido ascórbico um eficiente antioxidante, capaz de eliminar espécies altamente reativas e formar um radical de reatividade baixa (UNITED STATE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 2000).

Estudos de Silva (2012) apontaram estimativas dos teores de ácido ascórbico de frutos de maxixe para diferentes doses de permanganato de potássio (KMnO_4) mantidos a 10 °C, em função do número de dias armazenados, apresentando para o tratamento com 4 g de KMnO_4 a menor redução máxima de ácido ascórbico, de 12,85 para 3,81 mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de massa fresca em 6,69 dias.

Em análises de Ellong et al. (2015), a composição de vitamina C por meio de extrato de frutos de maxixe teve valores de média e desvio-padrão de $73,2 \pm 1,2$ mg.100 g⁻¹ de material comestível fresco.

Silva (2016) observou redução linear do teor de vitamina C em frutos de maxixe das cultivares Norte e Calcutá para o tratamento com 1000 µl/l de etileno, após 48 horas em armazenamento. Os resultados apresentaram valores reduzidos de 17,43 para 13,96 e 12,82 para 6,79 (mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de massa fresca) das cultivares “Norte” e “Calcutá”, respectivamente.

Os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos que diferem entre si pela sua estrutura química e características particulares, apresentando mais de 4000 compostos identificados. De acordo com sua estrutura, podem ser divididos em subgrupos incluindo as flavonas, flavanois, flavonois, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas (FERREIRA; ABREU, 2007). Nas plantas, esses compostos podem encontrar-se livres ou em formas polimerizadas com outros flavonoides (taninos condensados), com açúcares (glicosídeos de flavonoides) ou com outras substâncias (JACKSON, 2000).

Os flavonoides são conhecidos como os principais responsáveis pela capacidade antioxidante em frutas, por causa do elevado potencial de oxidação e redução de sua estrutura química, que lhes permite atuar como agentes redutores e como quelante de metais (IGNAT et al., 2011).

Algumas funções atribuídas aos flavonoides, nas plantas, são: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e do visível, proteção contra insetos, fungos, vírus e

bactérias; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Barreto (2011) observou teores de flavonoides amarelos superiores nos melões de cor laranja em comparação aos melões de polpa mais clara, apresentando menor e maior valor médio de 0,52 a 5,77 mg.100 g⁻¹ para os híbridos Veredinha e Sédna, respectivamente.

Os compostos fenólicos constituem amplo grupo de substâncias químicas, considerados metabólicos secundários das plantas, com diferentes estruturas químicas e atividades, englobando mais de 8000 compostos distintos (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2000). Eles são derivados das vias do ácido chiquímico e fenilpropanoídico e podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas (SHAHIDI; NACZK, 2004).

Neste grupo de fitoquímicos, estão os compostos considerados mais importantes para morfologia e fisiologia dos vegetais, uma vez que estão envolvidos em várias funções: propriedades sensoriais (aroma, cor, sabor e adstringência), crescimento, processo germinativo da semente, defesa contra pragas, dentre outras (BRAVO, 1998; RANDHIR et al., 2004; BALASUNDRAM et al., 2006; LIU, 2007).

Em virtude de seus radicais intermediários estáveis, os compostos fenólicos impedem a oxidação de vários constituintes do alimento, particularmente os lipídios. Além disso, por estarem presentes em frutas, são importantes constituintes da dieta, em virtude de agirem como terminais para os radicais livres (doando hidrogênio ou elétrons), atuando benéficamente sobre o estresse oxidativo, relacionado a diversas patologias crônico-degenerativas (KAUR; KAPOOR, 2001; BURTON-FREEMAN, 2010; SILVA et al., 2010; LIU, 2013; COSTA et al., 2013).

As frutas, principais fontes dietéticas de polifenóis, apresentam variações quantitativas e qualitativas na composição desses constituintes em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas). Por sua vez, a eficácia da ação antioxidante depende da concentração destes fitoquímicos no alimento (REYNERSTON et al., 2008; MELO et al., 2008).

Pereira et al. (2010), trabalhando com extratos aquoso e etanólico de maxixe, observaram valores de médias e desvio-padrão para teores de fenólicos totais de $1,42 \pm 0,21$ e $4,42 \pm 0,95$ (mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de hortaliça), respectivamente.

Por sua vez, Capela et al. (2014) obtiveram dos extratos hidroetanólicos de maxixe valores de médias e desvio-padrão para compostos fenólicos totais de $136,21 \pm 3,69$ (mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de hortaliça).

Ellong et al. (2015), quantificando compostos polifenóis totais para amostras de maxixe, encontraram valores de médias e desvio-padrão de $49,4 \pm 7,7$ mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de material fresco.

Os carotenoides são pigmentos naturais lipossolúveis, amarelos, laranjas e vermelhos presentes em muitas frutas e hortaliças, com papel importante na fisiologia dos vegetais. Seu teor nas frutas depende da variedade genética, estágio de maturação, armazenamento pós-colheita, processamento e preparo (CAPECKA et al., 2005).

Atualmente, são conhecidos 600 tipos de carotenoides, sendo β -caroteno, licopeno, luteína e a zeaxantina os mais atuantes; muitos desses apresentam grande quantidade de pró-vitamina A e forte atividade antioxidante (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os carotenoides têm recebido atenção considerável na medida em que estudos relatam que estes compostos, além do valor nutricional, contêm potenciais benéficos que extrapolam a síntese de vitamina A, como o fato de atuarem como agentes profiláticos contra diversas doenças, sobretudo o câncer (TIAN et al., 2007; BHAGAVATHY; SUMATHI, 2012).

Os pigmentos carotenoides exercem importante função na fotossíntese e fotoproteção nos tecidos das plantas. A função de fotoproteção se origina de sua habilidade de inativar espécies reativas de oxigênio, tais como oxigênio singlete, formado da exposição ao ar e luz. Esta função de fotoproteção está também associada à sua atividade antioxidante na saúde humana (LIU, 2006).

Ellong et al. (2015), em estudo envolvendo frutos e hortaliças tropicais, constataram valor de média e desvio-padrão para a composição de carotenoides de $16,7 \pm 3,2$ (μg.100 g⁻¹) em frutos de maxixe.

Silva (2016), avaliando duas cultivares de maxixe Norte e Calcutá, verificou diminuição no teor de carotenoides em função dos dias de desenvolvimento dos frutos após a antese, resultando em valores com redução de 0,06 a 0,02 e 0,05 a 0,03 mg/g massa fresca, respectivamente.

2.3.3 Radicais livres e ação antioxidante

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária às atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas

também leva à produção de radicais livres (ROESLER et al., 2007). Essas reações desencadeiam a oxidação da membrana lipoprotéica e afetam a integridade estrutural e funcional da membrana celular (SOARES, 2002; SUN et al., 2010).

Segundo Silva (2011), existem duas classes de compostos responsáveis pela situação de *stress* oxidativo: a primeira é a dos radicais livres – RL (espécies que possuem ao menos um elétron desemparelhado, sendo bastante instável e promovendo transferências eletrônicas rápidas) e a segunda, as espécies reativas de oxigênio – ERO (intermediários instáveis que derivam do oxigênio molecular).

Os antioxidantes são compostos que funcionam como bloqueadores dos processos óxido-redutivos, desencadeados pelos radicais livres e espécies reativas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Apesar de quase todos os organismos possuírem defesas antioxidantes e sistemas de reparo para proteção contra danos oxidativos, estes sistemas são insuficientes para prevenir significativamente os danos (ISABELLE et al., 2010).

Pereira et al. (2010), observando a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico de maxixe pelo método de captura de radicais ABTS⁺ [2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico] após 2, 5, 10, 20 e 30 min de reação, chegaram aos valores de 3,1; 3,6; 4,5; 5,5; 6,1 e 8,0; 12,0; 15,0; 16,0; 18,0 mM de Trolox.100 g⁻¹ de amostra para extratos aquoso e etanólico, respectivamente.

Henan et al. (2016) observaram que os resultados para atividade antioxidante variaram significativamente entre as diferentes variedades de melão frente ao radical livre ABTS⁺, obtendo valores médios variando de 22 a 160,92 µM Trolox.g⁻¹, tendo a variedade Galaoui o melhor desempenho, sete vezes superior à variedade Maazoun.

2.4 Diversidade genética molecular

2.4.1 Detecção de polimorfismo por marcador ISSR

Os marcadores moleculares são uma ferramenta rápida e eficaz, com capacidade de analisar de forma ampla genomas de interesse, sem influência do ambiente e, dessa forma, gerar informações precisas sobre a diversidade genética e a frequência gênica populacional (HARTL; CLARK, 1989; OUBORG et al., 1999; SOUZA, 2001).

As informações de diversidade genética e a frequência gênica obtidas com o uso de marcadores moleculares geram grande quantidade de características adicionais que podem ser combinadas a dados de *pedigree* do local de coleta e com características morfológicas, fisiológicas e agronômicas, fornecendo análise mais completa da coleção e de cada acesso

(LIVINI et al., 1992; ABDELNOOR et al., 1995; VASCONCELOS et al., 1996; CARVALHO et al., 2000; HUANG et al., 2002; FALEIRO et al., 2004).

Os marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) apresentam um método baseado nos microssatélites, não necessitando, no entanto, do conhecimento prévio do genoma. São marcadores moleculares dominantes, ou seja, não diferenciam os indivíduos heterozigotos dos homozigotos, porém com a vantagem de analisar *loci* múltiplos em uma única reação (PRECZENHAK, 2013).

No ISSR, um único *primer* é construído flanqueando a sequência de microssatélites ancorados na extremidade 3' ou 5' por 1 ou 4 nucleotídeos arbitrários, muitas vezes degenerado, amplificando pela técnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*) fragmentos de DNA repetidos em todos os genótipos. Os alelos polimórficos ocorrem sempre que em um genoma ocorra deleção ou inserção em uma sequência, que modifica a distância entre as repetições. Também ocorre devido a diferenças no comprimento do microssatélite, principalmente nos *primers* ancorados na posição 5' (GOULÃO; OLIVEIRA, 2001).

As principais vantagens dos ISSR são a geração de grande número de bandas informativas por reação e o fato de não haver necessidade de conhecimento prévio de dados de sequência de DNA para a construção do *primer* utilizado (ZIETKIEWICZ et al., 1994; GODWIN et al., 1997) e haver procedimentos laboratoriais com boa taxa de transferibilidade (BARTH et al., 2002).

Marcadores ISSR são recomendados para análises de espécies relacionadas evolutivamente, obtendo-se resultados confiáveis, devido à sua abundância e dispersão no genoma, sendo marcadores de alta reprodutibilidade, *loci* polimórficos em quantidades satisfatórias e por apresentarem rapidez em seus resultados, com custos razoavelmente menores do que os outros marcadores (RODRIGUES, 2010).

Silva (2010) envolveu em seu trabalho de variabilidade genética 281 genótipos (entre acessos e linhagens) de melancia e dois de melão, utilizando para análise 11 *primers* ISSR, em que foram obtidas 130 bandas, com 76,92% de polimorfismo, interpretados a partir da matriz de dados de presença (1) e ausência (0) de bandas.

Carvalho et al. (2015) analisaram em seus estudos 58 linhagens de melão do tipo pele de sapo obtidas por meio do método de seleção SSD (*Single Seed Descent*), a partir da população F₂, em que foram utilizados 13 *primers* polimórficos para os marcadores ISSR por meio de reações de PCR, caracterizando-os por meio de análise da presença ou ausência de banda.

2.4.2 Medidas de dissimilaridade

A maioria dos estudos de diversidade genética baseia-se em informações de *loci* amostrados aleatoriamente em populações não estruturadas hierarquicamente. Dessa maneira, diversas medidas de dissimilaridade (distância) têm sido propostas para verificar o grau de similaridade e a variação genética em amostras de populações, com aplicações variando em nível individual, intrapopulacional e interpopulacional (CRUZ et al., 2011).

As medidas de similaridade podem ser consideradas estatísticas multivariadas de redução de dados ou informações ou apenas uma maneira de comprar pares de populações, ou ainda a base para a construção do histórico evolucionário das populações (WEIR, 1996). As estimativas de distância obtidas par a par entre populações geram uma matriz capaz de proporcionar uma classificação objetiva e estável, tanto quanto possível, das populações estudadas (DIAS, 1998).

Algumas dessas medidas compilam as informações de forma binária, cujos dados são codificados em uns e zeros, representando, respectivamente, presença e ausência de um determinado alelo ou marca. Essas medidas têm sido mais utilizadas para informações oriundas de marcadores dominantes, uma vez que não é possível distinguir o genótipo homozigoto dominante do heterozigoto e o cálculo das frequências alélicas para esse tipo de marcador somente é possível sobre condições especiais, ou seja, quando as populações estiverem em equilíbrio em relação ao sistema reprodutivo e for conhecida a taxa natural de fertilização cruzada (ROBINSON, 1998). Algumas medidas de dissimilaridade comumente utilizadas são a distância euclidiana e Mahalanobis.

Segundo Manly (1994), a distância euclidiana, quando for estimada a partir das variáveis originais, apresenta a inconveniência de ser influenciada pela escala, de medida pelo número de variáveis e pela correlação existente entre elas. Para contornar as escalas, faz-se a padronização das variáveis em estudo, para que possuam a variância igual à unidade.

Embora a distância euclidiana seja uma medida de dissimilaridade, às vezes ela é referida como uma medida de semelhança, pois quanto maior for seu valor, menos parecidos serão os indivíduos ou unidades amostrais (REGAZZI, 2001).

Conforme Cruz (1990), a distância de Mahalanobis considera a variabilidade de cada unidade amostral, sendo recomendada para dados provenientes de delineamento experimentais e, principalmente, quando as variáveis são correlacionadas. Quando as correlações entre as variáveis forem nulas, são consideradas as variáveis padronizadas, sendo a distância de Mahalanobis é equivalente à distância euclidiana.

As distâncias euclidiana e generalizada de Mahalanobis são amplamente utilizadas como medidas de dissimilaridade. A segunda oferece a vantagem de levar em consideração a existência de correlações entre os caracteres analisados por meio da matriz de variâncias e covariâncias residuais, porém necessita de experimentos com repetições (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

Nunes et al. (2011), estimando a diversidade genética entre dez linhagens de melão Pele de Sapo e dez linhagens de melão Honey Dew pela distância de Mahalanobis, verificaram que as características que mais contribuíram para a divergência entre as linhagens foram firmeza de polpa e sólidos solúveis, com 56,63% e 17,20%, respectivamente. Para as linhagens Honey Dew, as características divergentes foram número total de frutos e produtividade, com 41,49% e 16,75%, respectivamente.

Trindade et al. (2015), em estudo sobre diversidade genética em três acessos de maxixe, avaliaram seis variáveis morfológicas (massa média; diâmetro longitudinal; diâmetro transversal; índice formato; diâmetro longitudinal da cavidade interna; diâmetro transversal da cavidade interna e espessura de polpa de frutos) por meio da técnica de análise multivariada pela obtenção das distâncias de Mahalanobis, método de Tocher e UPGMA, verificando que o caráter diâmetro longitudinal se destacou como o de melhor aporte para formação de dois grupos distintos, com valor de 42,52% de contribuição relativa.

2.4.3 Análise de agrupamento

As estimativas de dissimilaridade para caracterização da diversidade genética visam a quantificar e informar sobre grupos genotípicos similares, de maneira que as maiores diferenças ocorram entre os grupos formados. Por vezes, esse tipo de estudo é de grande importância, quando se procura identificar genitores adequados a cruzamentos, tendo em vista a obtenção de híbridos de maiores efeitos heteróticos, que proporcionem maior segregação em recombinantes e possibilitem o aparecimento de transgressivos (CRUZ et al., 2011).

Uma das técnicas multivariadas aplicadas nesse tipo de estudo pode ser a análise de agrupamento, que tem por objetivo agrupar indivíduos em classes. Portanto, dado um conjunto de “n” indivíduos, todos avaliados para “p” variáveis, tais indivíduos devem ser agrupados em classe, de forma que os mais semelhantes permanecem na mesma classe. De forma geral, o número de classes não é conhecido inicialmente. Porém, quando essas técnicas geram grupos não esperados, isso pode sugerir que as relações entre os objetos precisam ser mais bem estudadas (MANLY, 1994).

O processo inicia-se definindo os indivíduos e os objetivos desejados para a aplicação da análise, além dos critérios que definirão as semelhanças entre eles. Obtidos esses dados, eles são dispostos na forma de uma matriz, em que as colunas representam os indivíduos de interesse e as linhas representam as variáveis (MEYER, 2002).

Vários são os tipos de técnicas de agrupamento encontrados na literatura. Manly (1994) destacou duas abordagens particulares, destacando a primeira delas: i) técnicas que produzem dendrogramas, em que o primeiro passo é calcular as medidas de dissimilaridade (ou similaridade) entre todos os pares possíveis de indivíduos e, assim, formar os grupos por processos aglomerativos ou divisivos; ii) técnicas que envolvem partições, em que os indivíduos podem se mover fora e dentro dos grupos em diferentes estágios de análise; iii) técnicas baseadas em dispersão gráfica, em que se consideram as posições relativas de acessos em gráficos bi ou tridimensionais.

Segundo Cruz; Carneiro (2003), há inúmeros métodos de agrupamento que se distinguem pelo tipo de resultado a ser fornecido e pelas diferentes formas de definir a proximidade entre um indivíduo e um grupo já formado ou entre dois grupos quaisquer. Em todos os casos, não se conhece *a priori* o número de grupos a ser estabelecidos, e diferentes métodos proporcionam diferentes resultados.

Vale ressaltar que a escolha de um método de agrupamento depende do material e dos objetivos em questão, pois métodos de agrupamentos diferentes podem conduzir a resultados distintos. Não há método considerado melhor, porém alguns são indicados para determinadas situações do que outras (KAUFMAN; ROSSEEUW, 1990). Além do algoritmo usado e do material avaliado, os resultados do agrupamento podem ser influenciados pelo coeficiente de dissimilaridade escolhido (JACKSON et al., 1989).

Nos métodos hierárquicos, os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, até que seja estabelecido o dendrograma ou o diagrama de árvore. Nesse caso, não a preocupação com o número ótimo de grupos, uma vez que o interesse maior está na “árvore” e nas ramificações obtidas. As delimitações podem ser estabelecidas por um exame visual do dendrograma, em que se avaliam pontos de alta mudança de nível, tornando-os delimitadores do número de genótipos para determinado grupo (CRUZ et al., 2011).

Um dos principais métodos hierárquicos utilizados pelos pesquisadores é o método da ligação média não ponderada entre grupos, mais conhecido como UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*), o qual tem sido utilizado com maior frequência em ecologia e sistemática (JAMES; MCCULLOCH, 1990) e em taxonomia numérica (SNEATH; SOKAL, 1973). Trata-se de uma técnica de agrupamento que utiliza as médias

aritméticas (não ponderadas) das medidas de dissimilaridade, evitando caracterizar a dissimilaridade por valores extremos (máximo e mínimo) entre os genótipos considerados (CRUZ et al., 2011).

Silva (2010) identificou, em sua análise de agrupamento pelo método UPGMA, a formação de cinco grupos distintos para a estimativa da divergência genética de acessos de melancia (*Citrullus lanatus*), com variação de 76,7% dentro dos quatro conjuntos de germoplasma da coleção (agricultura tradicional, espécies do centro de origem, variedades comerciais e linhagens melhoradas) e variação de 87,4% dentro dos três grupos de linhagens.

Carvalho et al. (2015) verificaram que os resultados gerados para marcadores ISSR, visando à caracterização de linhagens de melão (*C. melo*) tipo pele de sapo por meio da frequência alélica, apresentaram similaridade genética variando de 0,38 a 0,98 e o dendrograma resultante agrupou (método UPGMA) os genótipos em dois principais grupos, com 38% de similaridade entre eles.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Germoplasma

O material para o estudo da caracterização morfológico e físico-químico foram sementes de frutos de maxixe realizados nos municípios da região Norte e Nordeste brasileira, envolvendo 40 acessos (Vide Apêndice), sendo duas oriundas de cultivares melhoradas e adquiridas comercialmente, conhecidas como “Liso Calcutá” e “Norte”, e os acessos restantes foram coletados em 25 municípios, 19 pertencentes à região Norte e 19 ao Nordeste (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação dos 40 acessos de maxixe coletados na região Norte e Nordeste brasileira. Mossoró-RN, 2015.

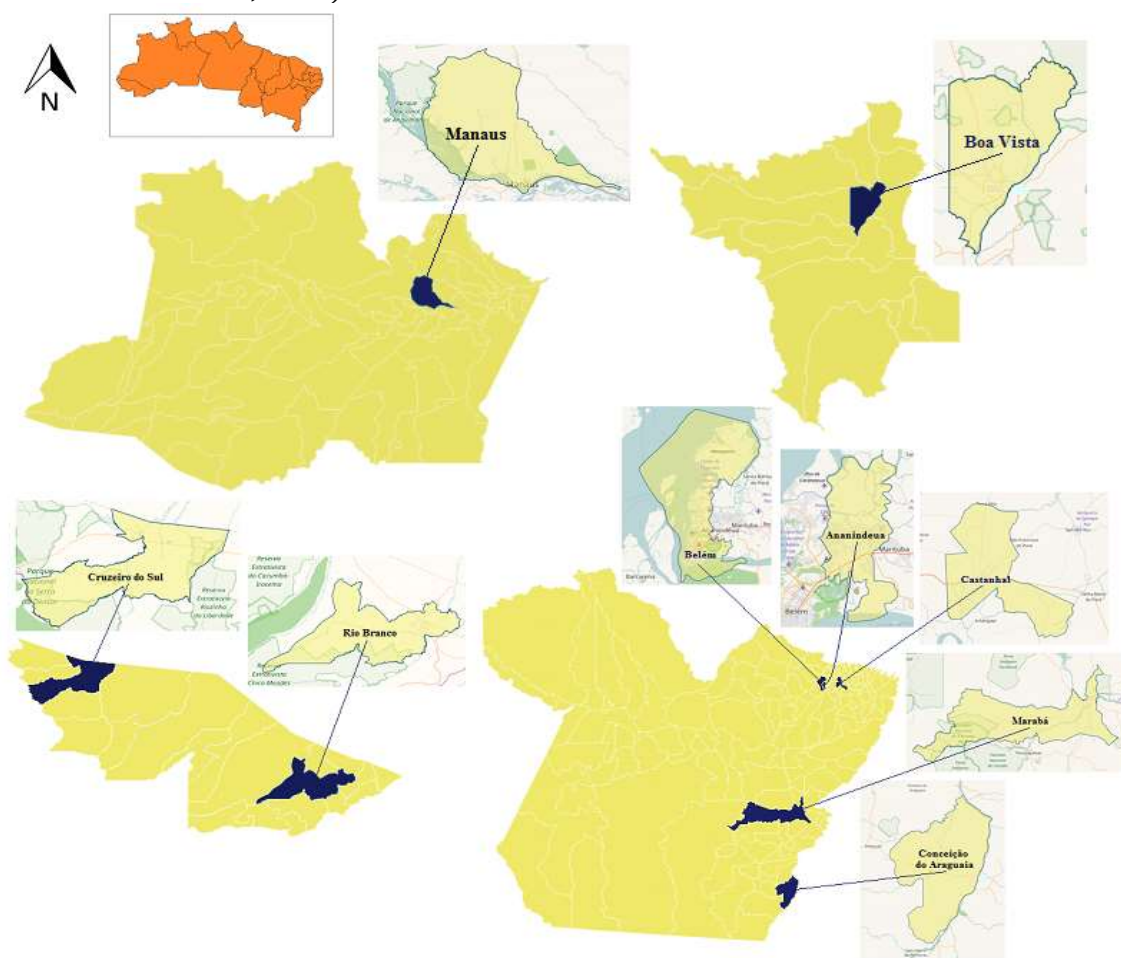
Acessos	Procedência	Acessos	Procedência
Calcutá	Comercial/Calcutá	NE-4	Mossoró/RN
M. Norte	Comercial/Norte	NE-5	Mossoró/RN
NO-1	Ananindeua/PA	NE-6	Areia Branca/RN
NO-2	Belém/PA	NE-7	Portalegre/RN
NO-3	Castanhal/PA	NE-8	Teresina/PI
NO-4	Conceição do Araguaia/PA	NE-9	Areia/PB
NO-5	Conceição do Araguaia/PA	NE-10	Codó/MA
NO-6	Conceição do Araguaia/PA	NE-11	Codó/MA
NO-7	Conceição do Araguaia/PA	NE-12	Vera Cruz/RN
NO-8	Conceição do Araguaia/PA	NE-13	Petrolina/PE
NO-9	Conceição do Araguaia/PA	NE-14	Petrolina/PE
NO-10	Conceição do Araguaia/PA	NE-15	Garanhuns/PE
NO-11	Marabá/PA	NE-16	Juazeiro/BA
NO-12	Marabá/PA	NE-17	Fortaleza/CE
NO-13	Marabá/PA	NE-18	Aracati/CE
NO-14	Marabá/PA	NO-16	Boa Vista/RR
NO-15	Cruzeiro do Sul/AC	NE-19	Maceió/AL
NE-1	Catolé do Rocha/PB	NO-17	Manaus/AM
NE-2	Alto do Rodrigues/RN	NO-18	Manaus/AM
NE-3	Assu/RN	NO-19	Rio Branco/AC

A coleta de acessos ocorreu em feiras livres e propriedades de pequenos produtores rurais, distribuídas geograficamente em 12 estados: Acre, Pará, Amazonas, Roraima, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Bahia.

Na região Norte do país, as coletas ocorreram no Estado do Acre, e a capital Rio Branco (localizado a 9° 59' 30" S e 67° 48' 36" W) contou com um acesso, ocorrendo o mesmo no município de Cruzeiro do Sul (7° 37' 51" S e 72° 40' 12" W). Por sua vez, no Estado do Amazonas, a capital Manaus (localizado 3° 6' 0" S e 60° 1' 0" W) contabilizou dois acessos.

No Estado de Roraima, na capital Boa Vista ($2^{\circ} 49' 12''$ N e $60^{\circ} 40' 19''$ W) coletou-se apenas um acesso. No Estado do Pará, a capital Belém ($1^{\circ} 27' 21''$ S e $48^{\circ} 30' 14''$ W) contribuiu com um acesso; o município de Ananindeua ($1^{\circ} 21' 57''$ S e $48^{\circ} 22' 19''$ W), vizinho próximo, forneceu um acesso e Castanhal ($1^{\circ} 17' 49''$ S e $47^{\circ} 55' 19''$ W), outro acesso; Marabá ($5^{\circ} 22' 8''$ S e $49^{\circ} 7' 4''$ W) forneceu quatro acessos e Conceição do Araguaia ($8^{\circ} 15' 28''$ S e $49^{\circ} 15' 54''$ W), sete acessos, como mostra a Figura 1.

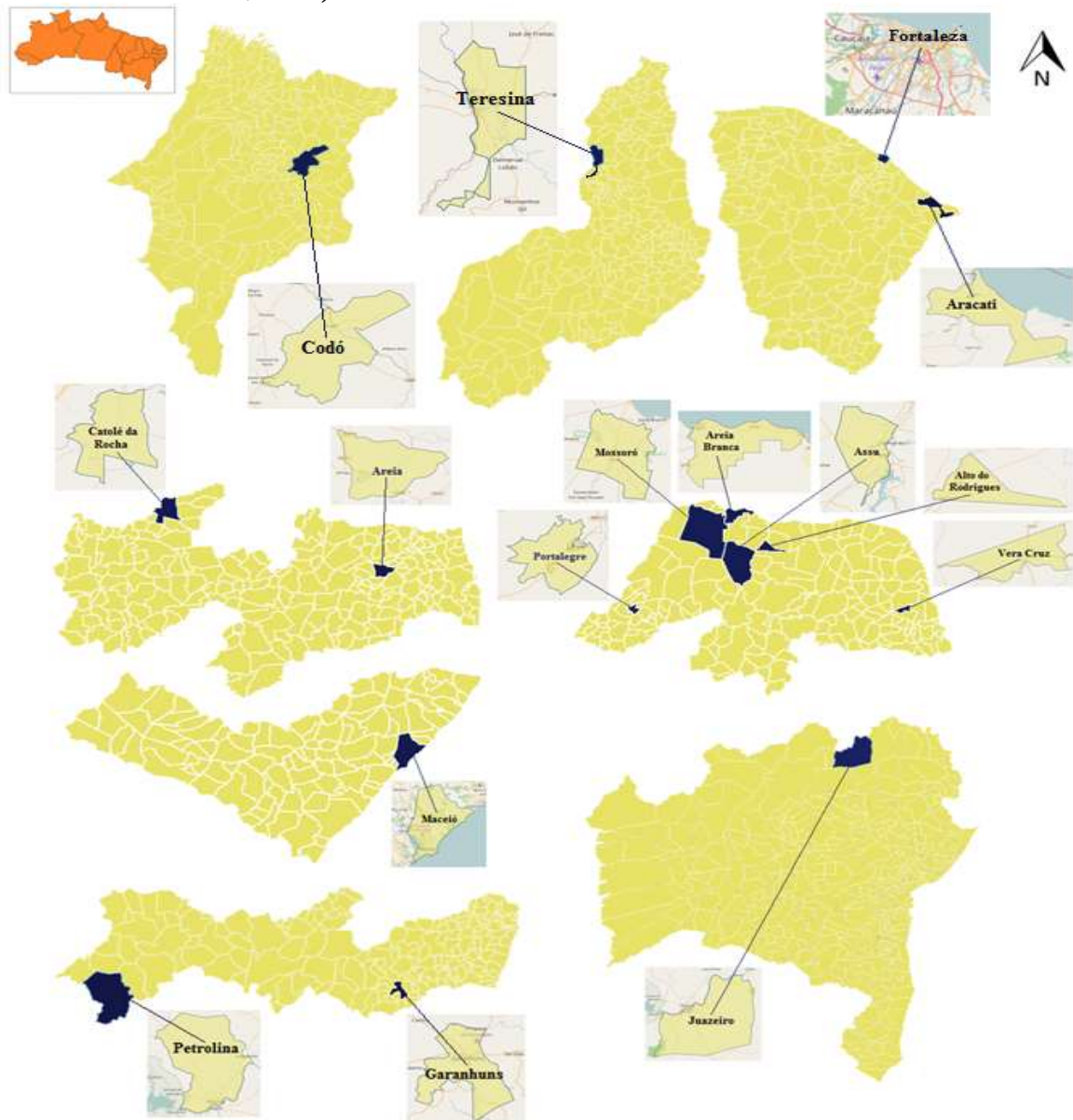
Figura 1. Localização geográfica do número de acessos coletados de maxixe em municípios da região Norte brasileira (Fonte: IBGE website. <http://www.cidades.ibge.gov.br/v3/cidades/home-cidades>, 2017).



Na região nordeste do país, as coletas ocorreram no Estado do Maranhão, e o município de Codó (localizado $4^{\circ} 27' 18''$ S e $43^{\circ} 53' 9''$ W) contabilizou dois acessos. No estado do Piauí, a capital Teresina ($5^{\circ} 5' 20''$ S e $42^{\circ} 48' 7''$ W) contou com um acesso. No estado do Ceará, na capital Fortaleza ($3^{\circ} 43' 6''$ S e $38^{\circ} 32' 34''$ W), coletou-se um acesso, e outro no município de Aracati ($4^{\circ} 33' 43''$ S e $37^{\circ} 46' 12''$ W). No estado do Rio Grande do Norte, o município de Mossoró ($5^{\circ} 11' 16''$ S e $37^{\circ} 20' 38''$ W) contou com dois acessos; Alto do Rodrigues (localizado $5^{\circ} 17' 16''$ S e $36^{\circ} 45' 43''$ W); Portalegre ($6^{\circ} 1' 26''$ S e $37^{\circ} 59' 16''$ W);

Vera Cruz ($6^{\circ} 2' 38''$ S e $35^{\circ} 25' 40''$ W); Assu ($5^{\circ} 34' 37''$ S e $36^{\circ} 54' 32''$ W) e Areia Branca ($4^{\circ} 57' 21''$ S, $37^{\circ} 8' 13''$ W) contribuíram com um acesso cada. Já no estado da Paraíba, os municípios de Catolé do Rocha ($6^{\circ} 20' 38''$ S e $37^{\circ} 44' 49''$ W) e Areia ($6^{\circ} 57' 46''$ S e $35^{\circ} 41' 31''$ W) também contaram com um acesso cada. No estado de Pernambuco, o município de Petrolina ($9^{\circ} 23' 34''$ S e $40^{\circ} 30' 28''$ W) participou com dois acessos e Garanhuns ($8^{\circ} 53' 25''$ S e $36^{\circ} 29' 34''$ W), com um acesso. No estado de Alagoas, a capital Maceió ($9^{\circ} 39' 57''$ S e $35^{\circ} 44' 6''$ W) contou com um acesso. No Estado da Bahia, o município de Juazeiro ($9^{\circ} 24' 50''$ S, e $40^{\circ} 30' 10''$ W) teve um acesso coletado, como mostra a Figura 2.

Figura 2. Localização geográfica do número de acessos coletados de maxixe em municípios da região Nordeste brasileira (Fonte: IBGE website. <http://www.cidades.ibge.gov.br/v3/cidades/home-cidades>, 2017).



3.2 Caracterização da área de estudo

O delineamento experimental foi instalado no período de julho a setembro de 2015, na horta didática do Centro de Pesquisa Vegetal do Semiárido Nordestino (CPVSA) da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), no município de Mossoró/RN.

O tipo de solo predominante no local é o latossolo vermelho amarelo eutrófico, com nível de fertilidade entre médio a alto, textura média, ocorrendo em ambientes bem drenados e muito profundos (EMBRAPA, 2014). Para análise química do solo, foram retiradas amostras simples na profundidade de 0 a 20 centímetros em zigue-zague sob a área experimental. Misturadas as amostras simples, retirou-se 300 g para compor a amostra composta, enviada ao laboratório de solo para análise, conforme mostra o resultado na tabela 2.

Tabela 2. Análise química do solo da área experimental. Mossoró-RN, 2015.

pH (água)	Ca	Mg	Al	H+Al	K	P	Na	M.O
	-----	(cmol _c .dm ⁻¹)	-----		-----	(mg.dm ⁻¹)	-----	g.kg ⁻¹
6,40	8,50	2,90	0,10	1,20	0,79	13,60	19,00	1,20

O clima da região, segundo Köppen-Geiger (1928), é o do tipo *BSh*, classificado como semiárido quente, com temperatura média anual de 28 °C e índice pluviométrico de 788 mm/ano, concentrados entre os meses de fevereiro e maio. O tempo médio de insolação é de aproximadamente 2.830 horas/ano, com umidade relativa do ar em torno de 68%, podendo ficar abaixo dos 30%, especialmente no período seco.

Dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), referentes ao período de julho a setembro de 2015, relativos aos índices de temperatura (°C); umidade relativa (UR); precipitação pluviométrica (mm) e insolação (h) estão mostrados na tabela 2.

Tabela 3. Dados climatológicos registrados no período de condução do estudo nos meses de jul. a set. 2015. Mossoró/RN (INMET, 2017).

Mês	2015			
	T (°C)	UR (%)	PP (mm)	INS. (h)
Julho	27,3	65,8	39,9	228,3
Agosto	26,4	58,5	11,1	269,1
Setembro	27,6	62,3	5,9	271,7

3.3 Condução do delineamento experimental

Em uma área de 900 m², o arranjo experimental utilizado foi o delineamento em blocos ao acaso, com três repetições/tratamento e parcelas com cinco plantas, envolvendo 15 plantas/acesso (Figura 3).

O preparo da implantação do delineamento experimental ocorreu primeiramente com a germinação das sementes em placas de petri (tratadas com hipoclorito de sódio e colocadas em estufa a uma temperatura de 37 °C por 48 h), seguida de repicagem para bandejas de polipropileno para produção de mudas entre o 6º e o 10º dias, completando esse estágio no 16º dia com o transplante das mudas para a área de plantio definitivo.

Figura 3. Área experimental com 40 acessos de maxixe provenientes das regiões Norte e Nordeste brasileira. Mossoró-RN, 2015 (Fonte: Autores).



As mudas foram plantadas em canteiros sob “mulching”, uma em cada cova e a 2 cm de profundidade, com espaçamento de 3,0 m entre fileiras e 0,5 m entre plantas, irrigados em sistema por gotejamento, duas vezes ao dia, em cada turno de regas por aproximadamente 50 minutos.

As adubações ocorreram via fertirrigação a cada 4 ou 5 dias, resultando em 6 aplicações ao longo do ciclo, com Ureia, Fosfato Monoamônico (MAP), Cloreto de Potássio (KCl), Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$) e Sulfato de Potássio (K_2SO_4), como mostra Tabela 3.

Tabela 4. Fertilizantes minerais aplicados durante o ciclo de cultivo do maxixe e suas respectivas doses de nutrientes. Mossoró-RN, 2015.

Nº de aplicações	Doses de fertilizantes				
	Ureia (g)	MAP (g)	KCl (g)	$MgSO_4$ (g)	K_2SO_4 (g)
1	140	100	120	40	-
2	240	300	300	40	-
3	140	320	-	40	420
4	140	320	-	40	500
5	500	320	-	40	500
6	500	420	420	160	500

Houve a necessidade de aplicação de defensivos para o controle da mosca-minadora (*Liriomyza trifolii* L.) a partir do início da infestação, aplicando três pulverizações em intervalos de sete dias, iniciando a primeira com uma dose de 30 ml do inseticida Connect®, a segunda com dose de 10 ml de Decis® 25 CE e a terceira novamente com 30 ml de Connect®, todos adicionados a cada 10 l de água/calda.

Outro trato cultural realizado se constituiu das frequentes capinas manuais nas entrelinhas de cultivo, com uso de enxadas; e nas linhas, com a monda próximo às plantas, mantendo, assim, a área de plantio livre da concorrência de plantas daninhas.

A colheita de frutos de maxixe ocorreu manualmente, em seu estado estágio de maturação fisiológico, conhecido como “de vez”, no período entre 52 a 65 dias após o plantio, cortando-os com auxílio de tesouras de poda a partir do pedúnculo na extremidade oposta aos frutos. No auxílio à colheita, foram usadas sacolas plásticas para armazenar e identificar os frutos/acesso, seguindo-se o transporte ao laboratório de pós-colheita para a caracterização morfológica e físico-química.

3.4 Descritores morfológicos

Os acessos foram caracterizados a partir dos seguintes descritores morfológicos quantitativos e qualitativos, consultados no *website* do *Biodiversity International* (2007), anteriormente denominado *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI), empregados por Duarte; Queiroz (2002).

3.4.1 Caracterização morfológica em plantas (quantitativa)

Ocorrido no estágio de desenvolvimento vegetativo, durante a fase em que as plantas se encontram com 5 a 7 folhas simples completamente abertas na haste principal, com a formação de hastes secundárias, e encerrando com lançamento das ramificações que seccionam as hastes secundárias, o que leva em média 35 dias após o sementeio.

a. Comprimento da folha – CFO (cm)

Obtido com auxílio de régua, a partir da base da folha (próximo ao pecíolo) em direção à sua margem apical. Tomou-se a média de seis folhas da haste principal/tratamento completamente desenvolvidas, coletando-se duas por parcela aleatoriamente (Figura 4a).

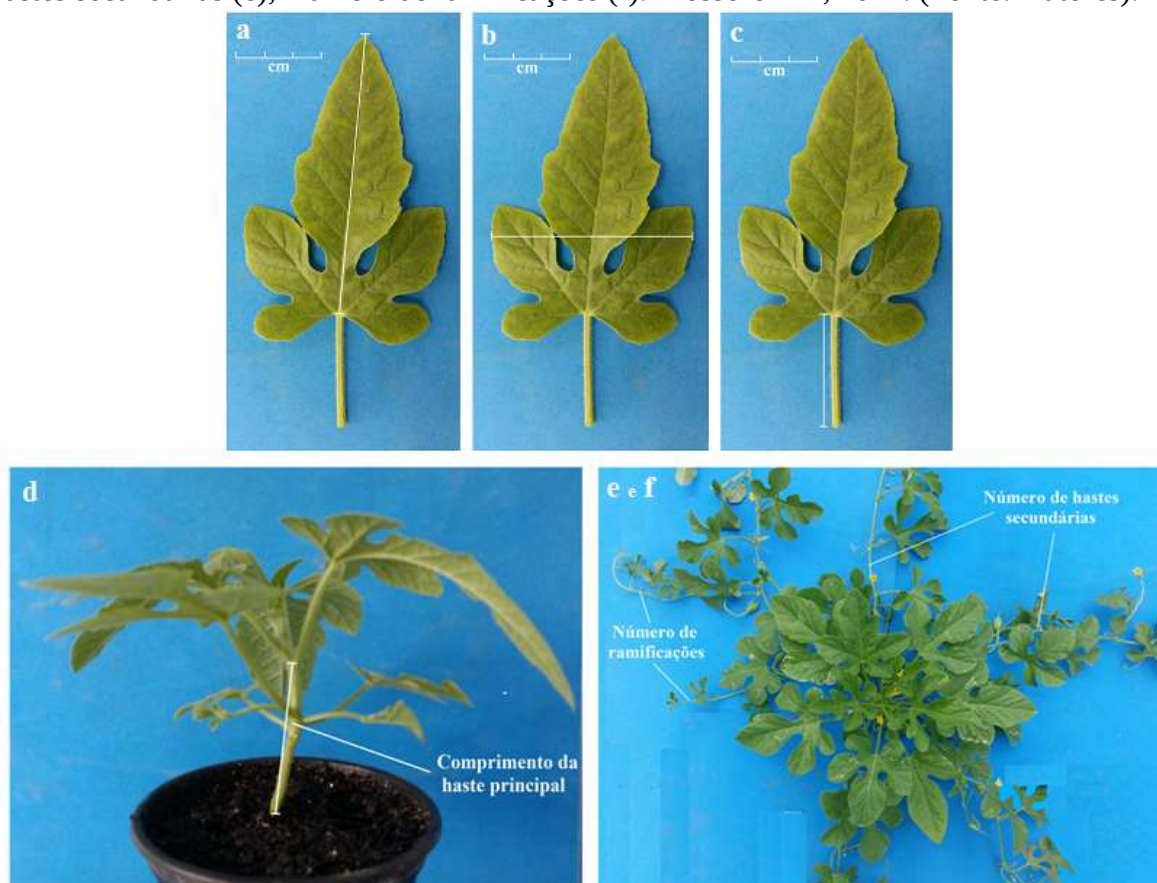
b. Diâmetro da folha – DFO (cm)

Registrado com auxílio de régua, a partir de uma das margens dos lóbulos mais distantes uma da outra. Tomou-se a média de seis folhas da haste principal/tratamento completamente desenvolvidas, coletadas duas por parcela aleatoriamente (Figura 4b).

c. Comprimento do pecíolo – CPE (cm)

Mensurado com o auxílio de régua, da secção do pecíolo à haste principal da planta em direção à extremidade oposta em que se fixa a folha. Tomou-se a média de seis pecíolos da haste principal/tratamento completamente desenvolvidos, coletados dois por parcela aleatoriamente (Figura 4c).

Figura 4. Descritores morfológicos quantitativos para o comprimento da folha (a); diâmetro da folha (b); comprimento do pecíolo (c); comprimento da haste principal (d); número de hastes secundárias (e); Número de ramificações (f). Mossoró-RN, 2017. (Fonte: Autores).



d. Comprimento da haste principal – CHP (cm)

Medido com auxílio de régua, do colo da planta (próximo ao solo) em direção à gema apical do caule. Tomou-se a média de seis hastes principal/tratamento completamente desenvolvidas, coletadas duas por parcela aleatoriamente (Figura 4d).

e. Número de hastes secundárias – NHS (un.)

Obtido com a contagem das hastes secundárias que seccionam a haste principal. Quantidade total de hastes completamente desenvolvidas, coletadas em duas plantas/parcela aleatoriamente (Figura 4e).

f. Número de ramificações – NRA (un.)

Registrado na maturidade da planta, obtido com a contagem das ramas que seccionam as hastes secundárias. Quantidade total de ramas completamente desenvolvidas, coletadas em duas plantas/parcela aleatoriamente (Figura 4f).

3.4.2 Caracterização morfológica em frutos (quantitativo)

Ocorrida no estágio de desenvolvimento reprodutivo da planta, durante a fase em que maturação fisiológica dos frutos inicia a descoloração (amarelecimento) de cor verde-escura a cor verde-oliva (“de vez”), o que leva cerca de 52 a 65 dias após o semeio.

a. Comprimento longitudinal dos frutos – CLF (mm)

Mensurado com paquímetro digital, pela secção longitudinal no sentido da inserção floral ao pedúnculo. Tomou-se a média de 10 fruto/parcelas completamente desenvolvidos e coletados aleatoriamente (Figura 5a).

b. Comprimento transversal dos frutos – CTF (mm)

Registrado com paquímetro digital, pela secção transversal do fruto na região equatorial. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos e coletados aleatoriamente (Figura 5b).

c. Relação do comprimento longitudinal/transversal dos frutos – RLT (mm)

Medida a partir relação da seção longitudinal com a transversal. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos e coletados aleatoriamente.

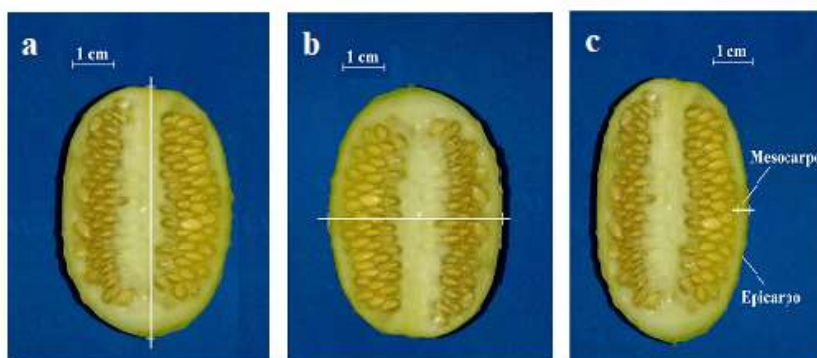
d. Espessura da casca dos frutos – ECF (mm)

Registrada com paquímetro digital, na região mediana da secção longitudinal do fruto, mensurando a largura do mesocarpo e o epicarpo. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos e coletados aleatoriamente (Figura 5c).

e. Firmeza dos frutos – FIR (N)

Obtida por meio de texturômetro (Mod. TA.XT Express) com *plunger* de ponta cônica de 5 mm; velocidade de pré-teste (1 mm/s), de teste (2 mm/s) e de pós-teste (10 mm/s) com profundidade de 8 mm e força de 0,049 N, na região mediana e em pontos opostos no fruto. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos e coletados aleatoriamente.

Figura 5. Descritores morfológicos quantitativos para o comprimento longitudinal do fruto (a); Comprimento transversal do fruto (b) e espessura da casca do fruto (c). Mossoró-RN, 2017. (Fonte: Autores).



f. Peso dos frutos – PFR (g)

Medido individualmente em balança semi-analítica com capacidade de 3.200 g e precisão de 0,01 g. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos e coletados aleatoriamente.

g. Número de frutos/parcela – NFP (un.)

Mensurado a partir da relação da contagem do número total de frutos com a de parcelas, completamente desenvolvidos e colhidos em todas as plantas.

h. Peso médio/fruto – PMF (g)

Obtido em balança eletrônica com capacidade de 25 kg e precisão de 2 g, determinado pela relação entre peso total de frutos e número de frutos completamente desenvolvidos e colhidos em todas as plantas.

i. Rendimento – REN (t.ha^{-1})

Registrado em balança eletrônica com capacidade de 25 kg e precisão de 2 g, determinado pela relação do peso total de frutos (kg) com o tamanho da área de cultivo (m^2), convertido em t/ha.

3.4.3 Caracterização morfológica em frutos (qualitativo)

Ocorrida no estágio de desenvolvimento reprodutivo da planta, durante a fase em que a maturação fisiológica dos frutos inicia a descoloração (amarelecimento) de cor verde-escura a cor verde-oliva (“de vez”), o que leva cerca de 52 a 65 dias após o semeio.

a. Cor dos frutos – COF (notas)

Registrada sem mensuração baseada no diâmetro longitudinal e transversal, mas pela observação do fenótipo (visual) dos frutos por meio de escala de notas previamente determinadas, um (1) para a cor verde e dois (2) para verde-esbranquiçado. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos coletados aleatoriamente (Figura 6a).

b. Forma dos frutos – FFR (notas)

Registrado baseando-se na observação do fenótipo (visual) dos frutos por meio de escala de notas pré-determinadas, um (1) para a forma cilíndrica; e dois (2) para piriforme. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos coletados aleatoriamente (Figura 6b).

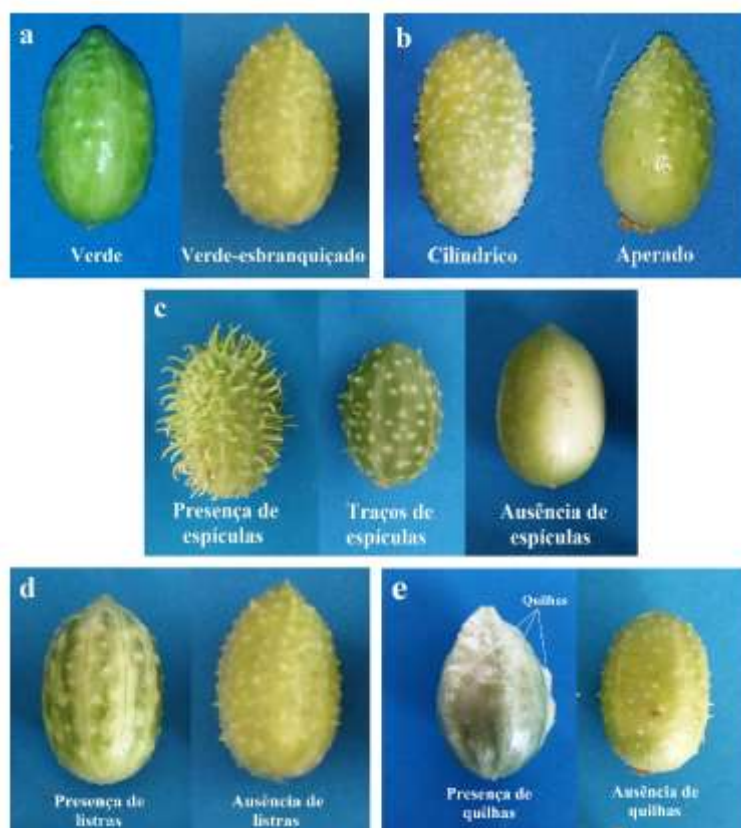
c. Presença e ausência de espículos – PAE (notas)

Registradas baseando-se na observação do fenótipo (visual) dos frutos por meio de escala de notas pré-determinadas, um (1) para a presença de espículas; dois (2) para traços de espículas e três (3) para sua ausência. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos coletados aleatoriamente (Figura 6c).

d. Presença e ausência de listras – PAL (notas)

Registradas baseando-se na observação visual do fenótipo dos frutos por meio de escala de notas pré-determinadas, um (1) para a presença de listra; e dois (2) para sua ausência. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos coletados aleatoriamente (Figura 6d).

Figura 6. Descritores morfológicos qualitativos para cor do fruto (a); forma do fruto (b); presença a ausência de espículas (c); presença e ausência de listras (d) e presença e ausência de quilhas (e). Mossoró-RN, 2017 (Fonte: Autores).



e. Presença e ausência de quilhas – PAQ (notas)

Registradas baseando-se na observação do fenótipo (visual) dos frutos por meio de escala de notas previamente determinadas, um (1) para a presença de quilhas e dois (2) para sua ausência. Tomou-se a média de 10 frutos/parcela completamente desenvolvidos coletados aleatoriamente (Figura 6e).

3.5 Descritores físico-químicos

3.5.1 Caracterização físico-química em frutos (quantitativo)

Ocorrida a partir de frutos colhidos em estágio de maturação fisiológica, durante a fase inicial de descoloração (amarelecimento) de cor verde-escura a cor verde-oliva (“de vez”), o que leva cerca de 52 a 65 dias após o semeio. Em aparelho processador, dez frutos de cada parcela passaram a constituir uma amostra, totalizando quatro por tratamento. As amostras (polpa de frutas concentradas), após o processamento, foram imediatamente acondicionadas em frascos escuros de plásticos de 50 ml, armazenados em refrigerador e utilizados em até duas (2) semanas para as análises.

a. Sólidos solúveis – SS (°Brix)

Registrados colocando-se uma ou duas gotas da amostra no refratômetro digital (modelo 105-D Biobrix) com escala de medição de 28 a 65% de °Brix e compensação automática de temperatura (AOAC, 1992). Tomou-se a média de duas (2) leituras da amostra obtidas de dez (10) frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

b. Acidez titulável total – ATT (mEq.100 ml⁻¹)

Empregado utilizando-se o método da titulometria, em que se diluiu 1 g da amostra em 50 ml de água destilada, à qual foram adicionadas três gotas de fenolftaleína 1%. Em seguida, foi realizada a titulação até o ponto de viragem com solução de NaOH (0,1 N), até a mudança de coloração para levemente rósea (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). Tomou-se a média de duas (2) leituras da amostra diluída obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

c. Potencial hidrogeniônico – pH (un)

Obtido utilizando-se pHmetro de bancada (modelo TECNOPON mPA 210) com eletrodos de vidro, aferido com tampões de pH 4 e 7 (AOAC, 1992). Tomou-se a média de duas (2) leituras da amostra obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

d. Relação sólidos solúveis/acidez titulável – SS/AT (un)

Registrada pela relação dos sólidos solúveis e acidez titulável. Tomou-se a média de duas (2) leituras da amostra obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

e. Açúcares solúveis totais – AST (%)

Empregada utilizando-se o método da Antrona proposto por Yemn; Willis (1954), utilizando 1 g de amostra dissolvido em 100 ml de etanol a 80%, filtrado. Sempre em duplicata, 150 µl de amostra diluída foram pipetados em tubos de ensaio com rosca e adicionados de 850 µl de água destilada, fazendo-se reagir com 2 ml de antrona e posterior agitação em vortex. Depois, os tubos foram levados para banho-maria a 30 °C por 8 minutos e esfriados em água gelada, seguido de leitura da absorbância em espectrofotômetro a 620 nm. Tomou-se a média de duas leituras da amostra diluída obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

f. Quantidade de açúcares totais em sólidos solúveis – QAS (%)

Determinada por meio da equação **AST x SS/100**. Tomou-se a média de duas leituras da amostra obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

g. Vitamina C – VMC (mg.100 g⁻¹)

Empregado por meio do método de Tillman, proposto por Strohecker e Henning (1967), utilizando 1 g de amostra com $\pm$ 30 ml de ácido oxálico a 0,5 % para o preparo do extrato, ajustando o volume com o ácido para 100 ml. Para a padronização da solução de Tillman, tomou-se 5 ml da solução estoque de VMC (50 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) diluído em 50 ml de água destilada, procedendo à titulação com solução de Tillman até se observar a mudança no ponto de viragem, róseo claro, persistente por 15 min. O mesmo ocorreu para determinação de VMC tomando-se 4 ml de extrato. Tomou-se a média de duas repetições por amostra obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente. Ao final, as concentrações de VMC foram calculadas pela equação:

$$\text{VMC} = \text{V} \times \text{F} \times 100/\text{A}$$

Em que:

V = volume da solução de Tillman necessário para atingir a coloração rósea;

F = fator da solução de Tillman;

A = ml da amostra utilizada.

h. Flavonoides amarelos – FLA (mg.100 g⁻¹)

Obtidos utilizando-se o método recomendado por Francis (1982), homogeneizando por 2 min. 1 g da amostra com 30 ml da solução de etanol-HCl (1,5N) na proporção 85:15 v/v, ajustando o volume com a solução de etanol-HCl para 50 ml, armazenando em frasco âmbar por 12 h em refrigeração. Após o período de armazenamento, o material foi filtrado e foi retirada uma alíquota para a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 374 nm. As análises limitaram-se às cinco melhores médias de rendimento dos acessos do Norte, cinco do Nordeste e as duas testemunhas, tomando-se os valores das amostras obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente. Ao final, os flavonoides foram calculados pela equação:

$$\text{FLA} = \text{A}_{374} \times \text{F}/76,6$$

Em que:

A₃₇₄ = Absorbância;

F = fator de diluição.

i. Carotenoides totais – CAR (mg.100 g⁻¹)

Registrados por meio do método proposto por Higby (1962), homogeneizando por 2 min. 5 g da amostra com 15 ml de álcool isopropílico e 5 ml de hexano, transferindo a solução para lavagem em funil de separação. Acrescentou-se 100 ml de água destilada com a solução, agitando-se e deixando em repouso por 30 min. Após o período de repouso, retirou-se a água e manteve-se o hexano, repetindo o processo de lavagem por mais duas vezes. Filtrou-se a solução em algodão, lavando-o com hexano para remoção dos pigmentos, adicionado a 2,5 ml de acetona e o volume aferido para 25 ml com hexano. Com o extrato da mistura, retirou-se uma alíquota para a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 450 nm. As análises limitaram-se as cinco melhores médias de rendimento dos acessos do Norte, cinco do Nordeste e as duas testemunhas, tomando-se a média de duas repetições por amostra, obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente. Ao final, os flavonoides foram calculados pela equação:

$$CAR = (A_{450} \times 100) / (250 \times L \times W)$$

Em que:

A₄₅₀ = absorbância;

L = largura da cubeta em cm;

W = quociente entre a massa da amostra original em gramas e o volume final da diluição em ml.

j. Polifenóis extraíveis totais – PET (µg.100 mg⁻¹)

Determinados por meio da metodologia de Folin-Ciocalteu, descrita por Larrauri et al. (1997), com modificações, homogeneizando 18 g de amostra e 20 ml de álcool metílico 50%, deixando descansar por 1 h para extração. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 20 °C e 10.000 rpm por 20 min. Após a centrifugação, o sobrenadante obtido foi filtrado e colocado em balão de 50 ml, protegido da luz. O precipitado foi dissolvido em uma solução de 20 ml de acetona 70 % (segunda solução extratora), ficando em repouso por mais 1 hora. Essa mistura foi centrifugada por mais um ciclo nas mesmas condições da anterior. O segundo sobrenadante obtido foi misturado ao primeiro, no mesmo balão de 50 ml, aferindo com água destilada, finalizando, assim, o extrato. A determinação foi realizada usando alíquotas de 0,05 a 0,5 ml do extrato, completando-se para 1 ml com água destilada, 1 ml do reagente Folin-Ciocalteu, 2 ml de NaCO₃ 20% e 2 ml de água destilada, seguida de homogeneização e repouso por 30 min. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 700 nm, usando a curva

padrão de ácido gálico. As análises limitaram-se às cinco (5) melhores médias de rendimento dos acessos do Norte, cinco (5) do Nordeste e as duas testemunhas, tomando-se a média de duas repetições por amostra obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

k. Atividade antioxidante total pelo método ABTS – AAT ($\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ de polpa)

Empregada utilizando-se o método recomendado por Rufino et al. (2006) com adaptações, homogeneizando 18 g de amostra e 40 ml de metanol 50%, deixando descansar por 60 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi centrifugada a uma rotação de 15.000 rpm por 15 min. Após a centrifugação, o sobrenadante obtido foi transferido para um balão de 100 ml. O mesmo processo foi repetido quando o resíduo da primeira extração foi dissolvido a 40 ml de acetona 70%. O segundo sobrenadante foi misturado ao primeiro, no mesmo balão de 100 ml, aferindo com água destilada, finalizando, assim, o extrato. Em ambiente escuro, homogeneizou-se, em agitador vortex, 30 μl do extrato com 3 ml do radical ABTS⁺. Após 6 min., foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 734 nm. A quantificação foi realizada utilizando uma curva de calibração preparada com uma solução padrão de Trolox (100 – 2.000 μM). As análises limitaram-se às cinco melhores médias de rendimento dos acessos do Norte, cinco do Nordeste e as duas testemunhas, tomando-se a média de amostra obtidas de 10 frutos/parcela, coletados aleatoriamente.

3.6 Análise molecular

3.6.1 Obtenção de material vegetal

As amostras de DNA foram coletadas de folhas jovens e sadias de cada um dos 40 acessos de maxixe na fase vegetativa. As folhas foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas até o Laboratório de Biotecnologia do Centro de Pesquisa Vegetal do Semiárido/CPVSA, onde foram mantidas congeladas à temperatura de -20 °C até o início das extrações de DNA.

3.6.2 Extração de DNA genômica

As extrações de DNA foram efetuadas usando-se o protocolo de Doyle; Doyle (1990), adaptado a partir do método CTAB (*Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*). Amostras de aproximadamente 300 mg de tecido de folha de cada indivíduo foram maceradas em presença de nitrogênio líquido, sendo posteriormente transferidas para tubos Eppendorff® de 1,5 ml, adicionando-se a eles 700 μl de tampão [tris-HCl 100 mM (pH 8,0); EDTA 20 mM (pH 8,0); NaCl 1,4 M; 0,2% (p/v) β -mercaptoetanol, 2 % (p/v) CTAB] e aquecidos em banho

maria a 65 °C por 1 h, agitando-se a cada 10 min. Em seguida, acrescentou-se 600 µl de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), centrifugando a 10.000 rpm por 10 min. Os sobrenadantes transferidos para novos tubos receberam isopropanol gelado, na proporção de uma parte de isopropanol para uma de sobrenadante, e centrifugados a 10.000 rpm por 5 min. Os sobrenadantes foram descartados e os precipitados foram lavados com 1 ml de solução 70% de etanol por duas vezes. Após as lavagens, os precipitados foram secos ao ar por 2 h e ressuspensos em solução de 5 µl de RNase e 45 µl de água Milli-Q. (ultrapura), deixando em banho-maria a 37 °C por 30 min., aproximadamente.

A quantificação do DNA foi feita por meio de análise visual comparativa das amostras em gel de agarose 1% (p/v), corado com brometo de etídio. Depois da quantificação da concentração de ácidos nucleicos extraídos, as amostras de DNA foram diluídas para a concentração de 10 ng.µl⁻¹ e armazenadas em freezer a -20 °C.

3.6.3 Seleção de *primers*, reações de amplificação e eletroforese

Uma pré-seleção dos 40 iniciadores ISSR foi realizada em duas cultivares de maxixe (Comercial Liso Calcutá e Norte), selecionando 9 iniciadores que apresentaram bandas mais nítidas. Após essa etapa, foram escolhidos os nove iniciadores que permitiram a obtenção de fragmentos de alta intensidade e a presença de polimorfismo, utilizados em todos os acessos estudados. Dentre os nove iniciadores utilizados, estão ISSR-03, ISSR-05, ISSR-09, ISSR-10, ISSR-12, ISSR-14, ISSR-16, ISSR-24 e ISSR-26.

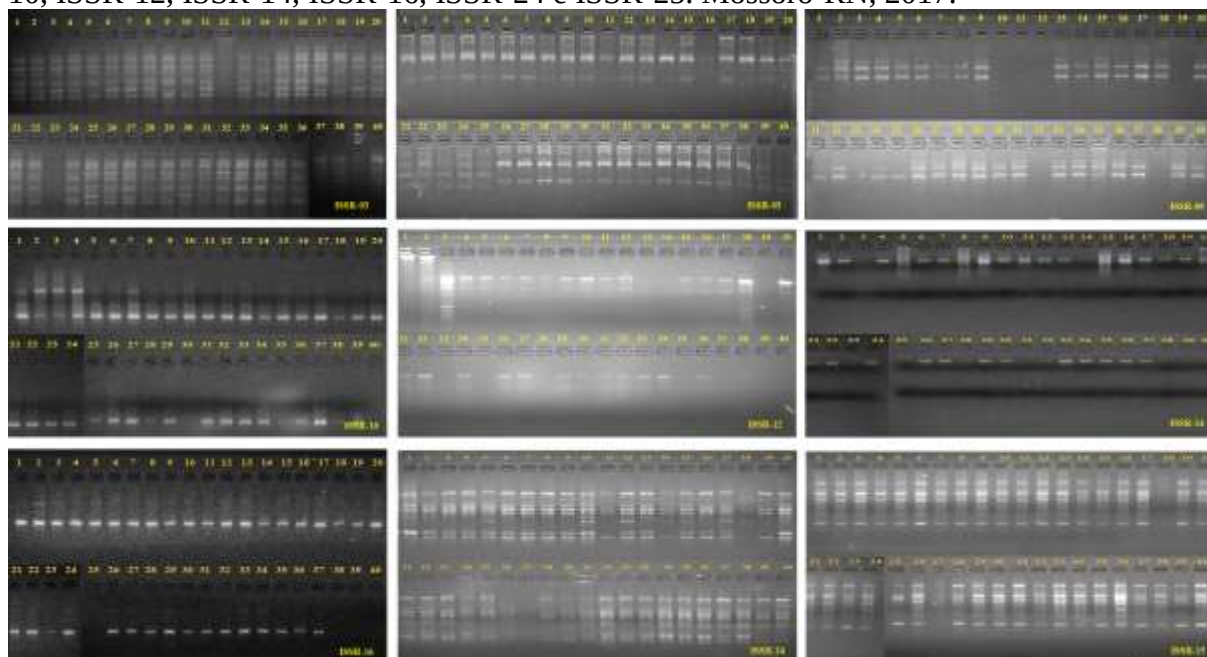
As reações de ISSR foram realizadas em um volume final de 12 µl, compostas por: 1,2 µl de tampão de reação 10x, 1,0 µl de MgCl₂ (50 mM), 1,0 µl de dNTPs (10 mM por nucleotídeo), 2,0 µl de DNA (10 ng.µl⁻¹), 2,0 µl de cada iniciador (10 µM), 0,2 µl de Taq DNA polymerase (1,0 U) e 5,6 µl de água Milli-Q. (ultrapura) para completar o volume da reação.

As amplificações foram realizadas em termociclador (Axygen Axygene), de acordo com o seguinte programa: 94 °C por 4 min. para a desnaturação; seguidos 35 ciclos, iniciando-se a 94 °C por 40 seg., em seguida a 40 °C por 40 seg. para o anelamento, e posteriormente 72 °C por 1 min.; e ao final a 72 °C por 7 min. para a etapa de extensão e resfriado a 15 °C.

Os produtos de amplificação em PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 2,5%, em tampão de TBE 1X (90 mM Tris-ácido bórico/1 mM EDTA), corados com brometo de etídio (0,5 µg.µl⁻¹) e submetidos a 100 volts por aproximadamente duas horas e meia. Posteriormente, os géis foram fotografados com auxílio do sistema de

fotodocumentação, sob luz UV. Os iniciadores foram, então, comparados para se identificar quais deles apresentaram o melhor perfil de amplificação, conforme é mostrado na figura 7.

Figura 7. Perfil eletroforético de acessos de maxixe da região Norte e Nordeste (representados pelos números de 1 a 40) usando os *primers* ISSR-03, ISSR-5, ISSR-9, ISSR-10, ISSR-12, ISSR-14, ISSR-16, ISSR-24 e ISSR-25. Mossoró-RN, 2017.



3.7 Análises estatísticas

3.7.1 Análise para caracteres quantitativos

a. Análise de *Deviance*

Os dados dos caracteres quantitativos foram submetidos à análise de *deviance* (ANADEV), por se tratar de experimento desbalanceado, substituindo o teste F de uma ANOVA para análises de modelos mistos por meio do método da máxima verossimilhança residual ou restrita (*Restricted Maximum Likelihood* – REML), proposto por Patterson e Thompson, em 1971 (RESENDE, 2002).

As *deviances* foram obtidas rodando-se o modelo com e sem os valores de h^2 para cada variável e, em seguida, subtraindo-os e confrontando-os com o valor do Qui-quadrado com um grau de liberdade a 5% de probabilidade. O fator bloco, considerado de efeito fixo, foi testado pelo teste F de Snedecor (RESENDE, 2007a).

Para as análises, consideraram-se os dados de médias de parcelas utilizando-se o programa SELEGEN, versão 2014 – Sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos mistos – (RESENDE; OLIVEIRA, 1997; RESENDE, 2007b), “modelo 021”

(Blocos ao acaso, teste de linhagens de autógamias ou híbridos, média por parcela), denotado na forma matricial por:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Za} + \mathbf{Wp} + \boldsymbol{\varepsilon}$$

Em que:

$\mathbf{y}$ = é o vetor de dados;

$\mathbf{r}$ = é o vetor dos efeitos de repetição (assumindo como fixos) somados à média geral;

$\mathbf{a}$ = é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumindo como aleatórios);

$\mathbf{p}$ = é o efeito do valor das parcelas;

$\boldsymbol{\varepsilon}$ = é o vetor de erros ou de resíduos (aleatórios).

$\mathbf{X}$, $\mathbf{Z}$ e $\mathbf{W}$ = representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Foram estimados os seguintes componentes de variância (REML individual) associados aos referidos efeitos de variância genotípica ($\mathbf{V_g}$); variância ambiental entre parcelas ($\mathbf{V_e}$); e variância fenotípica individual ($\mathbf{V_f}$).

A partir dos componentes de variância, foram estimados os seguintes parâmetros genéticos: herdabilidade de média de progênie ($\mathbf{h^2_{mp}}$); acurácia da seleção ($\mathbf{A_{cprog}}$); coeficiente de variação genética ($\mathbf{CV_g}$); coeficiente de variação ambiental ($\mathbf{CV_e}$); coeficiente de variação relativa ($\mathbf{CV_g/CV_e}$) e média geral.

b. Divergência genética morfológica

A análise da divergência genética entre os acessos foi realizada, primeiramente, determinando as medidas de dissimilaridade segundo o modelo de análise multivariada, obtidas pelas matrizes de médias de cada descritor e covariâncias residuais.

Para as medidas de dissimilaridade, os valores foram estimados pela distância generalizada de Mahalanobis – D^2 – (MAHALANOBIS, 1936), utilizando-se o módulo “Diversidade Genética” do programa computacional Genes, versão 2007 (CRUZ, 2008), fornecido pela expressão:

$$D^2_{ij} = \boldsymbol{\delta}'\boldsymbol{\psi}^{-1}\boldsymbol{\delta}$$

Em que:

D^2_{ij} = distância de Mahalanobis entre os genótipos $\mathbf{i}$ e $\mathbf{j}$;

$\boldsymbol{\psi}$ = matriz de variâncias e covariâncias residuais;

$\boldsymbol{\delta}' = [d_1, d_2, \dots, d_v]$, sendo $d_v = Y_{ij} - Y_{i\cdot}$;

d_v = representa a diferença entre médias de dois genótipos i e i' para uma dada característica j .
 Y_{ij} = média do i -ésimo genótipo em relação à j -ésima variável.

Determinados os valores da distância generalizada de Mahalanobis, quantificou-se a contribuição relativa dos caracteres ($S_{.j}$) para a diversidade entre os acessos pelo método proposto por Singh (1981), que se baseia na partição do total das estimativas das distâncias D^2 , considerando todos os possíveis pares de indivíduos, nas partes devidas a cada característica.

A partir da matriz de dissimilaridade genética gerada, fez-se o uso da técnica de agrupamento pelo método da ligação média entre grupos (*Unweighted pair-group method using arithmetic averages* – UPGMA) na formação dos dendrogramas (CRUZ; CARNEIRO, 2013). Todas as análises foram realizadas utilizando a opção “*Multivariate Exploratory Techniques/Cluster analysis*” do programa computacional Statistica, versão 13.0 (STATSOFT INC, 2016), estabelecida a partir do genótipo com maior similaridade e da distância entre um indivíduo k e um grupo formado pelos indivíduos i e j , dada por:

$$d_{(ij)k} = \text{média} \{d_{ik}; d_{jk}\} = (d_{ik} + d_{jk})/2$$

Em outras palavras, $d_{(ij)k}$ é dada pela média do conjunto das distâncias dos pares de indivíduos (i e k) e (j e k).

A distância entre dois grupos é fornecida por:

$$d_{(ij)(kl)} = \text{média} \{d_{ik}; d_{il}; d_{jk}; d_{jl}\} = (d_{ik} + d_{il} + d_{jk} + d_{jl})/4$$

Em outras palavras, a distância entre dois grupos formados, respectivamente, pelos indivíduos (i e j) e (k e l) é dada pela média do conjunto, cujos elementos são as distâncias entre os pares de indivíduos (i e k), (i e l), (j e k) e (j e l).

Após a construção dos dendrogramas, foi avaliada a consistência dos agrupamentos, calculando os coeficientes de correlação cofenética – CCC – (SOKAL; ROHLF, 1962), com base na correlação entre os produtos da matriz de dissimilaridade e da matriz cofenética, sendo, portanto, uma matriz de concordância entre valores da dissimilaridade aos representados no dendrograma. O CCC proposto por Bussab et al. (1990) é expresso por:

$$r_{\text{Cof}} = \frac{\text{Cov}(\mathbf{F}, \mathbf{C})}{\sqrt{V(\mathbf{F}) \times V(\mathbf{C})}}$$

Em que:

r_{Cof} = correlação cofenética;

Cov = covariância entre os elementos da matriz fenética e cofenética;

$V(\mathbf{F})$ = variância dos elementos da matriz fenética;

$V(\mathbf{C})$ = variância dos elementos da matriz cofenética.

Para estabelecer o número de agrupamentos divergentes por meio do ponto de corte, utilizou-se o procedimento proposto por Mojena (1977), baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias) no dendrograma. A proposta foi selecionar o número de grupos no estágio j que, primeiramente, satisfizeram a seguinte inequação:

$$\alpha_j > \theta_k$$

Em que:

α_j = é o valor de distância dos níveis de fusão correspondentes aos estágios j ($j = 1, 2, \dots, n$); e
é o valor referencial de corte, dado por:

$$\theta_k = \bar{\alpha} + k\sigma_{\alpha}$$

Sendo $\bar{\alpha}$ e σ_{α} a média e o desvio-padrão não-viesado dos valores de α , respectivamente, e k é uma constante. Como regra de parada na definição do número de grupos, adotou-se o valor de $k = 1,25$, conforme sugerido por Milligan; Cooper (1985).

Adicionalmente, a diversidade entre os acessos foi avaliada em gráficos de dispersão, por meio da técnica dos componentes principais (CP), descrita por Pearson (1901) e posteriormente aplicada por Hotelling (1933, 1936), baseando-se apenas nas informações individuais de cada acesso, sem a necessidade de dados com repetições e processados na opção “*Multivariate Exploratory Techniques/Principal Components & Classification Analysis*” do programa computacional Statistica, versão 13.0 (STATSOFT INC, 2016). As construções dos gráficos de dispersão foram feitas com dados padronizados, considerando que:

x_{ij} = é a média padronizada do j -ésimo caráter ($j = 1, 2, \dots, v$) avaliado no i -ésimo genótipo ($i = 1, 2, \dots, g$);

$\mathbf{R}$ = a matriz de covariâncias ou de correlação entre esses caracteres (ou matriz de correlação fenotípica entre os caracteres baseada nos dados originais).

A técnica dos componentes principais consistiu em transformar o conjunto de “v” variáveis ($x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{iv}$) em um novo conjunto ($y_{i1}, y_{i2}, \dots, y_{iv}$), que são funções lineares dos x_i 's e independentes entre si.

Ao final, foram estimadas a distância de Mahalanobis (D^2) de cada característica e sua contribuição relativa (S_i), bem como a análise de agrupamento, por meio de dendrogramas e gráficos de dispersão pelo método da ligação média entre grupos (**UPGMA**) e componentes principais (**CP**), respectivamente.

3.7.2 Análise para dados moleculares

a. Divergência molecular

Cada banda ISSR foi considerada um *locus* bi-alélico independente (WILLIAMS et al., 1990) e os indivíduos foram genotipados quanto à ausência (0) ou presença (1) da banda. A partir dos dados, foram geradas duas matrizes binárias: uma com 38 indivíduos (acessos), que serviu para as análises de diversidade e estruturação genética, e outra com 40 indivíduos, usada na análise de dissimilaridade genética entre os 38 acessos e as duas cultivares. Em todas as análises, assumiu-se que os *loci* eram dominantes e estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

b. Análise de diversidade genética

Com a finalidade de avaliar os níveis de diversidade genética, foram estimados os seguintes parâmetros: porcentagem de *loci* polimórficos (% PLP), sendo que o *locus* foi considerado polimórfico quando sua frequência não ultrapassou 0,95; o índice de diversidade de Shannon (I), calculado conforme Lewontin (1972), e o coeficiente de diversidade genética de Nei (h), calculado conforme Nei (1987). Nestas análises, foi utilizado o *software* POPGENE versão 1.31 (YEH; BOYLE; XIYAN, 1999).

c. Estrutura e diferenciação genética

Os 38 indivíduos (acessos) foram subdivididos em duas populações, Norte e Nordeste. Foram estimados a heterozigosidade e o coeficiente G_{ST} , com base na análise de diversidade genética em populações subdivididas de Nei (1987). O fluxo gênico, entre as populações, foi estimado indiretamente pelo índice G_{ST} em função de N_m , conforme a equação 5 ($N_m = 0.25 (1 - G_{ST}) / G_{ST}$) (MCDERMOTT; MCDONALD, 1993). A estruturação e a distribuição da variabilidade genética também foram avaliadas por meio da análise da variância molecular (AMOVA) com a determinação de Φ_{ST} (análogo ao G_{ST} de WRIGHT, 1965). Foram obtidas as variâncias dentro e entre as populações. A AMOVA foi realizada utilizando o *software*

Arlequin versão 3.01 (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2006). As significâncias dos componentes de variâncias foram obtidas por meio de 10100 permutações.

d. Dissimilaridade molecular

A partir das informações dos 40 indivíduos (38 acessos e duas cultivares), foi estimada a dissimilaridade para marcadores dominantes com base na natureza dos dados moleculares. Por meio da análise dos géis de ISSR, as informações alélicas foram codificadas de forma binária em valores de 0 e 1, representando ausência e presença de banda, respectivamente (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

A distância genética foi calculada aos pares entre os genótipos, pelo complemento aritmético conhecido como Coeficiente ou Índice de Similaridade de Jaccard – S_j – (JACCARD, 1908), utilizando-se o módulo “Diversidade Genética” do programa computacional Genes, versão 2007 (CRUZ, 2008), fornecido pela expressão:

$$S_j = \frac{A}{(A + B + C)}$$

Em que:

A = presença da mesma banda em ambos os indivíduos;

B = presença da banda no indivíduo 1 a ausência no indivíduo 2;

C = ausência da banda no indivíduo 1 e presença no indivíduo 2.

O método de agrupamento foi realizado conforme método UPGMA, anteriormente descrito.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de *Deviance* e estimativas de parâmetros genotípicos e fenotípicos

Os experimentos necessitam ser bem conduzidos a fim de reduzir o erro experimental, considerando que quanto menor for a estimativa do erro experimental maior será a possibilidade de detectar diferenças entre os tratamentos avaliados. A acurácia seletiva é um parâmetro utilizado para se verificar a qualidade de um experimento. Esse parâmetro contempla, simultaneamente, o coeficiente de variação experimental, o número de repetições e o coeficiente de variação genotípica. Segundo a classificação apresentada por Rezende; Duarte (2007), a acurácia pode ser muito alta ($0,90 \leq Ac_g \leq 0,99$); alta ($0,70 \leq Ac_g \leq 0,85$), moderada ($0,50 \leq Ac_g \leq 0,65$) e baixa ($0,10 \leq Ac_g \leq 0,40$). Assim sendo, considerando as estimativas de acurácia, verificou-se variação de baixa (0,1499) para o comprimento do pecíolo (CPE) a muito alta (0,9505) para o peso dos frutos (PFR) para os 15 caracteres morfoagronômicos envolvidos na análise (Tabela 5). A maioria das estimativas da acurácia seletiva pode ser classificada como alta a muito alta para os 15 caracteres morfoagronômicos, bem como para os sete caracteres físico-químicos analisados (Tabelas 5 e 6). Esse fato é positivo, uma vez que a acurácia está estreitamente à precisão das inferências das médias genotípicas, pois esta tem a propriedade de informar sobre o correto ordenamento das cultivares para fins de seleção (REZENDE, 2002). Estas são as primeiras estimativas de acurácia relatadas para a cultura do maxixeiro. É importante que estimativas sejam acrescentadas porque auxiliam no planejamento de experimentos futuros com a referida hortaliça.

Verificou-se considerável variabilidade genética para a maioria dos caracteres dos acessos/cultivares avaliados, com exceção do comprimento da haste principal (CHP), número de hastes secundárias (NHS), comprimento do pecíolo (CPE), comprimento transversal do fruto (CTF) para os caracteres morfoagronômicos (Tabela 5); e açúcares solúveis totais (SST), quantidade de açúcares totais em sólidos solúveis (QAS) para os caracteres físico-químicos (Tabela 6). Esse fato evidencia heterogeneidade no germoplasma coletado em duas grandes regiões do Brasil. As estimativas da variância genética e coeficiente de variação genética corroboram com a presença da variação entre os acessos/cultivares (Tabelas 5, 6 e 7).

A herdabilidade da média dos genótipos é estimada quando se utilizam as médias dos blocos como critério de seleção (RESENDE, 2002). Observou-se grande variação entre as estimativas da herdabilidade de 0,0224 para o comprimento do pecíolo (CPE) (Tabela 5) a 0,9715 para vitamina C (VMC) (Tabela 6). A herdabilidade é uma razão entre a variância genética e a variância fenotípica. Quanto maior for sua estimativa, maior será a confiabilidade

na seleção dos genótipos avaliados com base nos valores genotípicos preditos (FALCONER; McKAY, 1996). São raros estudos que tenham estimativas de herdabilidade no maxixeiro pelo fato de a cultura não ser muito estudada. Paiva (1984; 1994), avaliando famílias de meios-irmãos em Manaus-AM, estimou herdabilidade no sentido restrito (média) de 79,38%, 33,17% e 71% para número, peso médio e produção por planta, respectivamente. Dantas (2014) obteve estimativas superiores às encontradas no presente trabalho para os caracteres peso médio do fruto, diâmetro longitudinal do fruto, diâmetro transversal do fruto, índice de formato, número de frutos por planta e sólidos solúveis avaliados em famílias de meio-irmãos de maxixe liso e maxixe com espículo. Ressalta-se que as comparações entre estimativas de herdabilidade sejam importantes para o acúmulo de informações genéticas de uma cultura, que devem ser feitas com cautela e considerando todos os aspectos envolvidos nos trabalhos realizados, uma vez que a herdabilidade é dependente da população e das condições ambientais, além do método de estimação.

Tabela 5. Valores de *deviance*, componentes de variância e estimativas de parâmetros genéticos para 15 caracteres morfoagronômicos de acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.

² Componentes	¹ Características														
	CFO (cm)	DFO (cm)	CHP (cm)	NHS (un.)	NRA (un.)	CPE (cm)	CLF (mm)	CTF (mm)	RLT (mm)	ECF (mm)	FIR (N)	PFR (g)	NFP (un.)	PMF (g)	REN (t.ha ⁻¹)
Completo	108,43	110,52	651,40	155,51	478,16	424,18	504,05	394,71	-335,83	59,39	411,61	372,74	587,91	657,98	353,38
Genótipo	127,03	123,90	652,31	155,59	482,80	424,18	508,06	395,53	-321,58	63,85	420,24	434,81	593,00	709,31	367,42
LTR	18,6**	13,38**	0,91 ^{ns}	0,08 ^{ns}	4,64**	0,00 ^{ns}	4,01**	0,82 ^{ns}	14,25**	4,46**	8,63**	62,07**	5,09**	51,33**	14,04**
V _g	0,4789	0,4113	22,28	0,1054	13,4890	0,1491	7,80	1,42	0,0069	0,1003	7,22	16,37	27,83	207,21	4,85
V _e	0,6239	0,6717	154,34	1,38	45,0850	19,46	35,61	13,45	0,0086	0,5010	12,24	5,24	72,99	89,82	6,66
V _f	1,1029	1,0830	176,6363	1,4868	58,5741	19,61	43,42	14,88	0,0155	0,6014	19,47	21,61	100,82	297,04	11,51
h ² _g	0,6972	0,6475	0,3022	0,1862	0,4730	0,0224	0,3967	0,2415	0,7067	0,3754	0,6390	0,9036	0,5335	0,8737	0,6861
A _c	0,8350	0,8046	0,5497	0,4315	0,6877	0,1499	0,6298	0,4914	0,8406	0,6127	0,7994	0,9505	0,7304	0,9347	0,8283
CV _g %	8,01	7,12	19,24	5,70	42,30	4,77	6,87	4,61	5,32	11,49	7,08	24,23	29,17	30,63	41,37
CV _e %	9,14	9,10	50,63	20,66	77,34	54,51	14,69	14,15	5,94	25,67	9,22	13,70	47,23	20,17	48,47
CV _g /CV _e	0,8763	0,7824	0,3800	0,2759	0,5469	0,0875	0,4676	0,3257	0,8956	0,4476	0,7678	1,7686	0,6176	1,5185	0,8535
Média	8,63	8,99	24,53	5,68	8,68	8,09	40,61	25,91	1,56	2,75	37,93	16,69	18,08	46,98	5,32

¹Comprimento da folha (CFO), diâmetro da folha (DFO), comprimento da haste principal (CHP), número de hastes secundárias (NHS), número de ramificações (NRA), comprimento do pecíolo (CPE), comprimento longitudinal dos frutos (CLF), comprimento transversal dos frutos (CTF), relação do comprimento longitudinal/transversal dos frutos (RLT), espessura da casca dos frutos (ECF), firmeza dos frutos (FIR), peso dos frutos (PFR), número de frutos/parcela (NFP), peso médio/fruto (PMF), rendimento (REN). ²Teste da razão da verossimilhança (LTR); variância genotípica (V_g); variância ambiental (V_e); variância fenotípica (V_f); herdabilidade da média de genótipos (h²_g); acurácia da seleção (A_c); coeficiente de variação genética (CV_g%); coeficiente de variação ambiental (CV_e%); coeficiente de variação relativa (CV_g/CV_e) e média geral.

Tabela 6. Valores de *deviance*, componentes de variância e estimativas de parâmetros genéticos para sete caracteres físico-químicos (qualidade dos frutos) de acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.

Componentes	¹ Características						
	SS (°Brix)	ATT (mEq.100 ml ⁻¹)	pH (un.)	AST (%)	SS/AT (un.)	QAS (%)	VMC (mg.100 g ⁻¹)
Modelo completo	-50,51	191,67	-109,94	-122,28	-86,87	-822,61	682,08
Genótipo	6,14	200,95	-84,27	-121,21	56,55	-820,75	815,55
LTR	56,65**	9,28**	25,67**	1,07 ^{ns}	143,42**	1,86 ^{ns}	133,47**
Variância genotípica (V _g)	0,2541	0,7462	0,0788	0,0114	0,1114	0,000018	742,93
Variância ambiental (V _e)	0,0938	1,5427	0,0687	0,0920	0,0817	0,000106	65,37
Variância fenotípica (V _t)	0,3479	2,2889	0,1476	0,1034	0,1931	0,000124	808,31
Herdabilidade da média de genótipos (h ² _g)	0,8904	0,5920	0,7747	0,2718	0,8034	0,3438	0,9715
Acurácia da seleção (A _c)	0,9436	0,7694	0,8801	0,5213	0,8963	0,5863	0,9856
Coefficiente de variação genética (CV _g %)	15,82	20,88	5,10	8,78	36,73	11,24	38,47
Coefficiente de variação ambiental (CV _e %)	9,61	30,03	4,76	24,89	31,46	26,89	11,41
Relação entre coeficiente CV _g /CV _e	1,6462	0,6953	1,0714	0,3527	1,1675	0,4179	3,3716
Média	3,18	4,13	5,50	1,21	0,9086	0,0382	11,41

¹Sólidos solúveis (SS); acidez titulável total (ATT); potencial hidrogeniônico (pH); açúcares solúveis totais (AST); relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT); quantidade de açúcares totais em sólidos solúveis (QAS); vitamina C (VMC).

Tabela 7. Valores de *deviance*, componentes de variância e estimativas de parâmetros genéticos para quatro caracteres dos compostos bioativos e atividades antioxidantes de acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.

Componentes	¹ Características			
	FLA (mg.100 g ⁻¹)	CAR (mg.100 g ⁻¹)	PET [mg Ác. gálico.100 g ⁻¹]	AAT (µM Trolox.g ⁻¹)
Modelo completo	46,24	-133,38	139,63	-63,81
Genótipo	51,33	-123,54	149,44	-59,45
LTR	5,09**	9,84**	9,81**	4,36**
Variância genotípica (V _g)	0,9900	0,0020	12,85	0,0041
Variância ambiental (V _e)	0,6807	0,0037	12,67	0,0387
Variância fenotípica individual (V _f)	1,6707	0,0057	25,53	0,0428
Herdabilidade da média de genótipos (h ² _g)	0,8135	0,6207	0,7525	0,2411
Acurácia da seleção (A _c)	0,9019	0,7878	0,8674	0,4910
Coefficiente de variação genética (CV _g %)	23,91	29,42	8,64	8,38
Coefficiente de variação ambiental (CV _e %)	19,82	39,83	8,58	25,76
Relação CV _g /CV _e	1,2063	0,7386	1,0069	0,3253
Média	4,16	0,1533	41,47	0,7637

¹Flavonoides amarelos (FLA); carotenoides totais (CAR); polifenóis extraíveis totais (PET); e atividade antioxidante total (AAT).

Com relação às estimativas de caracteres físico-químicos, compostos bioativos e atividades antioxidantes de acessos/cultivares de maxixe, ainda são escassos os relatos na literatura. As estimativas de teor de sólidos solúveis do presente trabalho estão próximas àquelas observadas por Dantas (2014), quando verificou em 100 famílias de meio-irmãos de maxixe com espículos e sem espículos médias de 3,83 e 3,93 °Brix, respectivamente, para teores de sólidos solúveis.

Para ácido ascórbico, os resultados do presente trabalho são próximos àqueles mencionados por Silva (2016), que observou valores entre 13,96-17,43 e 6,79-12,82 para mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹ de massa fresca nas cultivares Norte e Calcutá, respectivamente.

Na tabela 7, o valor médio para flavonoides a partir do extrato de frutos de maxixe foi de 4,16 mg. 100 g⁻¹ de amostra. Comparando os resultados obtidos semelhantes com os descritos na literatura, pode-se constatar que Barreto (2011) observou teores de flavonoides totais em polpas de melões híbridos que variaram de 0,52 a 5,77 mg.100 g⁻¹.

Ellong et al. (2015), quantificando compostos polifenóis totais para amostras de maxixe, encontraram valores de médias e desvio-padrão de 49,4 ± 7,7 mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de material fresco. Este resultado está próximo do valor médio observado no presente trabalho (41,47) (Tabela 7).

Quanto aos carotenóides, a média dos acessos avaliados no presente trabalho foi 0,1533 (Tabela 7). Silva (2016), avaliando duas cultivares de maxixe Norte e Calcutá, verificou diminuição no teor de carotenoides em função dos dias de desenvolvimento dos frutos após a antese, resultando em valores com redução de 0,06 a 0,02 e 0,05 a 0,03 mg/g massa fresca, respectivamente. Ellong et al. (2015), em estudo envolvendo frutos e hortaliças tropicais, constatarem valor de média e desvio-padrão para a composição de carotenoides de $16,7 \pm 3,2$ ($\mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) em frutos de maxixe.

A média para a atividade oxidante dos acessos de maxixe no presente trabalho foi de $0,7637 \mu\text{M Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$ ou $763,7 \text{ mM Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$ após 6 min. de reação (Tabela 7). O resultado do estudo evidenciou valor médio superior ao trabalho de Pereira et al. (2010), que, observando a atividade antioxidante dos extratos de maxixe pelo método de captura de radicais ABTS⁺, obtiveram valores de 3,6 e 12,0 mM de Trolox.100 g⁻¹ após 5 min. de reação para os extratos aquoso e etanólico, respectivamente.

Comparado ao trabalho de Henan et al. (2016), observou-se resultado menor na atividade antioxidante para diferentes variedades de melão frente ao radical livre ABTS⁺, obtendo valores médios variando de 22 a 160,92 $\mu\text{M Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$ para extrato de melão.

Considerando a variação morfológica qualitativa, pode-se constatar variação entre os acessos avaliados (Tabela 8). Para a coloração do fruto, o verde representou 60% contra 40% para os de coloração verde-esbranquiçada. A maioria dos acessos apresentou frutos cilíndricos e apenas 5% apresentam formatos piriformes. Com relação à espiculosidade, verificou-se que a maioria dos acessos, 72,5% tem frutos com traços de espículos, 22,5% tem espículos e 5% não apresentaram espículos. Azevedo Filho; Melo (2003), analisando nove acessos de maxixe, observaram variação também na presença de espículos, com acessos com a casca bem lisa, com ausência de espículos, espículos curtos e longos. Segundo Pimentel (1985), existem duas cultivares de maxixe, uma com frutos de espículos carnosos e outra com frutos lisos, sendo que a aceitação no mercado independe dessa característica: por exemplo, no mercado da Amazônia são preferidos frutos com espículos, ao passo que nos mercados do Rio de Janeiro a população prefere frutos mais lisos (FILGUEIRA, 1981). Queiroz (1993), estudando o germoplasma de maxixe no Nordeste brasileiro, identificou três tipos: sem espículos (liso), com espinhos grossos espaçados e o último densamente coberto por espículos finos. Na Região Nordeste, são comercializados em sua maioria frutos lisos ou com pouquíssimos espículos. Todavia, alguns agricultores consomem frutos com maior densidade de espículos. A variação observada é primordial para os programas de melhoramento

genético, pois com esta variabilidade é possível agregar valor a diferentes produtos em diversos segmentos da cadeia produtiva.

Tabela 8. Descrição dos caracteres morfológicos de cor dos frutos (COF), formato dos frutos (FFR), presença e ausência de espículas (PAE), presença e ausência de listras (PAL), presença e ausência de quilhas (PAQ) dos 40 acessos de maxixe das regiões Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2015.

Acessos	Características morfológicas				
	Cor	Forma	Espículas	Listras	Quilhas
Calcutá	Verdes	Piriforme	Ausente	Presente	Presente
M. Norte	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-1	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-2	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-3	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-4	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-5	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-6	Verdes-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-7	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-8	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-9	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-10	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-11	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-12	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-13	Verdes	Piriformes	Ausente	Presente	Presente
NO-14	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-15	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-16	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-17	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Presente	Presente	Ausente
NO-18	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NO-19	Verdes	Cilíndricos	Presente	Presente	Ausente
NE-1	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-2	Verdes	Cilíndricos	Presente	Presente	Presente
NE-3	Verdes	Cilíndricos	Presente	Presente	Presente
NE-4	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-5	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-6	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Presente	Ausente
NE-7	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Presente	Ausente
NE-8	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Presente	Ausente	Ausente
NE-9	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Presente	Ausente	Ausente
NE-10	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-11	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-12	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-13	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Presente	Presente	Ausente
NE-14	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Presente	Ausente	Ausente
NE-15	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-16	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Ausente	Ausente
NE-17	Verdes	Cilíndricos	Presente	Ausente	Ausente
NE-18	Verde-esbranquiçados	Cilíndricos	Com traços	Presente	Ausente
NE-19	Verdes	Cilíndricos	Com traços	Presente	Ausente

A maioria dos acessos, 72,25%, não possui listras nos frutos, sendo que na região Norte apenas 7,5% possuem listras, ao passo que no Nordeste a porcentagem de acessos com listras nos frutos é maior, 17,5%. Portanto, há maior uniformidade para essa variável entre os acessos provenientes do Norte. A grande maioria dos acessos, 90%, não possui quilhas nos frutos, sendo que dos quatro acessos com quilhas, uma foi da cultivar Calcutá, outra do Norte e duas do Nordeste.

4.2 Diversidade para caracteres morfoagronômicos e físico-químicos

O agrupamento realizado por UPGMA foi eficiente, uma vez que a correlação cofenética foi elevada ($r = 0,95^{**}$) (Figura 7). Esse fato indica pequena diferença entre a matriz de distância original e a matriz resultante após o agrupamento. Considerando como ponto de corte a média mais 1,25 o desvio padrão das distâncias genéticas (critério de Mojena), verificou-se a formação de três grupos.

O primeiro foi composto unicamente pela cultivar ‘Calcutá’ e o acesso NO-15, proveniente de Marabá, no Pará. O segundo grupo foi o maior, uma vez que foi constituído por 23 três acessos, totalizando 57,5% dos acessos caracterizados. Um aspecto relevante é que nesse grupo estão dezoito dos dezenove acessos provenientes do Norte do Brasil e três acessos do Nordeste, provenientes dois do Rio Grande do Norte e um do Ceará. O terceiro grupo foi formado apenas por acessos da região Nordeste.

Assim sendo, foi possível separar os acessos estudados em função de sua região de procedência. Uma explicação para esse resultado está no peso dos frutos dos acessos das duas regiões, uma vez que, levando em conta somente as variáveis morfo-agronômicas, observou-se que o peso médio dos frutos foi o caractere que mais contribuiu para a divergência genética entre os acessos, com aproximadamente 80% da divergência (Tabela 9). Os frutos da região Norte são maiores do que os da região Nordeste. Dentre as variáveis físico-químicas, o ácido ascórbico foi a que mais contribuiu para a divergência genética.

Considerando a análise da contribuição conjunta das variáveis morfo-agronômicas e físico-químicas, o ácido ascórbico, com 75,88%, e o peso médio do fruto, com 18,63%, foram as características que mais contribuíram para a divergência, totalizando 94,51% de contribuição para divergência. Os acessos se agruparam de acordo com a contribuição relativa para divergência genética, uma vez que os acessos provenientes do Norte têm maiores frutos e maior teor de ácido ascórbico em comparação aos acessos nordestinos.

Figura 8. Análise de agrupamento de acessos de maxixe por meio de descritores morfoagronômicos e físico-químicos, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis (com correlação cofenética = 0,95** e distorção = 0,23%). Mossoró-RN, 2017.

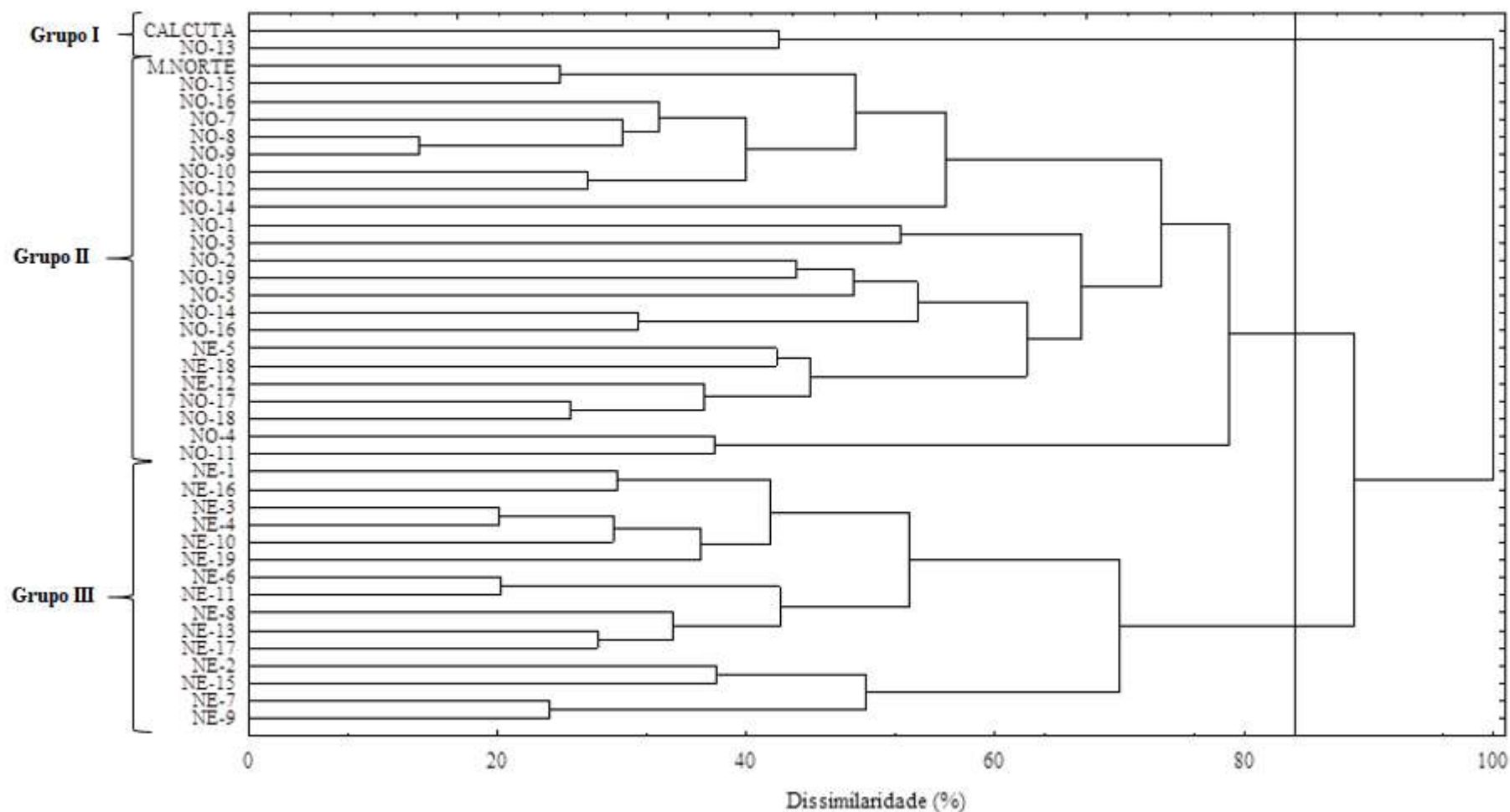
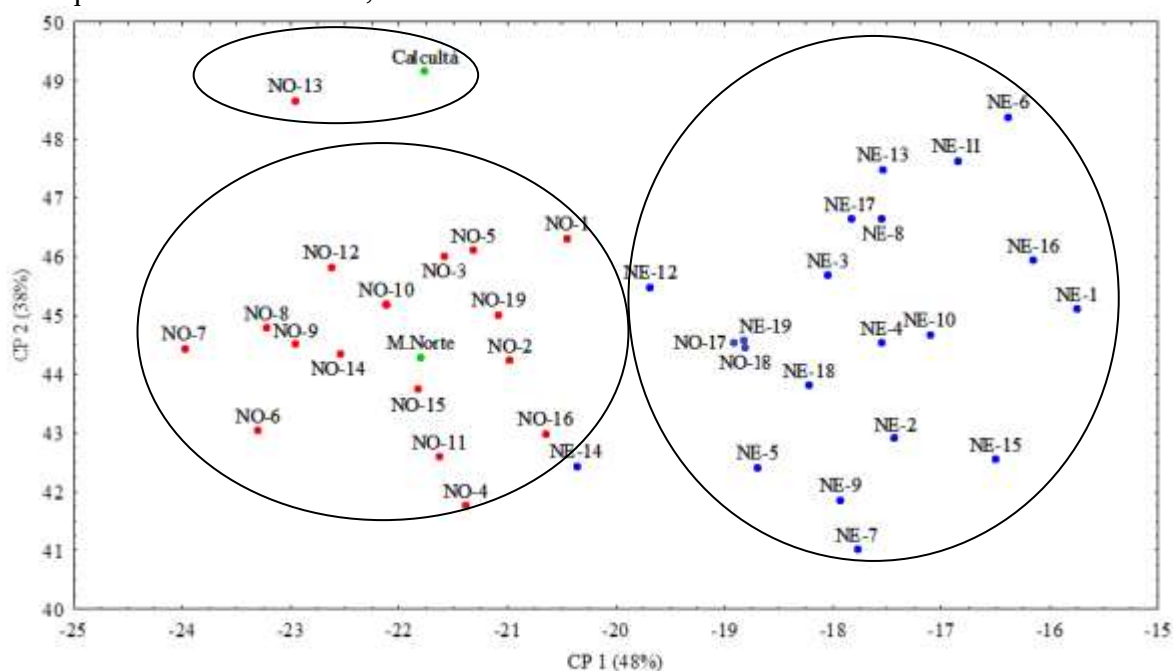


Tabela 9. Contribuição relativa (S_j) de 15 caracteres morfoagronômicos e sete físico-químicos para a divergência genética entre acessos de maxixe, com base na partição do total de D^2 . Mossoró-RN, 2017.

Variáveis	Contribuição relativa	
	S_j	(%)
Morfoagronômicas		
Peso médio/fruto	2744,5	77,52
Número de frutos/parcela ou Peso do fruto	214,5	6,06
Comprimento da haste principal	95,3	2,69
Número de ramificações	84,78	2,39
Firmeza dos frutos	67,5	1,91
Rendimento	49,1	1,39
Comprimento longitudinal dos frutos	44,2	1,25
Comprimento transversal dos frutos	4,9	0,14
Comprimento da folha	4,9	0,14
Diâmetro da folha	3,9	0,11
Espessura da casca dos frutos	0,5	0,02
Número de hastes secundárias	0,3	0,01
Relação do comprimento longitudinal/transversal dos frutos	0,1	0,00
Comprimento do pecíolo	0,0	0,00
Físico-químicas		
Vitamina C	1117673,0	99,89
Ácido titulável total	642,0	0,06
Sólidos solúveis	344,0	0,03
Relação sólidos solúveis e acidez titulável	134,0	0,01
Potencial hidrogeniônico	91,0	0,01
Açúcares solúveis totais	4,0	0,01
Quantidade de açúcares totais em sólidos solúveis	0,0	0,01

Na aplicação da técnica de componentes principais, observou-se que o primeiro componente principal explicou 48% da variação total, ao passo que o segundo componente explicou 38%, totalizando 86% da variação total, indicando que a técnica foi eficiente para reduzir o espaço de 22 variáveis para somente dois componentes não correlacionados (ortogonais) (Figura 8). Os resultados obtidos com componentes principais confirmaram a subdivisão dos acessos em dois grupos em função da região de procedência.

Figura 9. Distribuição de acessos de maxixe provenientes do Norte e Nordeste em função dos dois componentes principais obtidos a partir de 15 descritores morfoagronômicos e sete físico-químicos. Mossoró-RN, 2017.



4.3 Diversidade para compostos bioativos

Com relação à diversidade para compostos bioativos, apenas dez acessos foram considerados por não ser possível fazer as avaliações de todos os 40 acessos estudados. A variável Polifenóis extraíveis totais foi aquela que praticamente explicou toda a divergência entre os dez acessos, com aproximadamente 98% da variação (Tabela 10). Os acessos do Norte têm maior quantidade de polifenóis extraíveis totais.

Tabela 10. Contribuição relativa (S_j) dos compostos bioativos e atividades antioxidantes para a divergência genética entre acessos de maxixe, com base na partição do total de D². Mossoró-RN, 2017.

Variáveis	Contribuição relativa	
	S _j	(%)
Polifenóis extraíveis totais	1277	91,72
Flavonoides amarelos	106	7,64
Carotenoides totais	0	0,01
Atividade antioxidante totais	0	0,01

O agrupamento realizado por UPGMA foi eficiente, uma vez que a correlação cofenética foi elevada ($r = 0,92^{**}$) (Figura 9). Observou-se a formação de três grupos de acessos/cultivares. O primeiro composto pelas duas cultivares (Norte e Calcutá), os cinco acessos da região Norte e o acesso N-5 do Nordeste. O segundo grupo foi formado pelos acessos N-4 e N-3, ao passo que o terceiro grupo foi formado pelos acessos N-2 e N-1, todos do Nordeste.

O agrupamento por componentes principais foi eficiente para agrupar os acessos e cultivares, uma vez que os dois componentes principais explicaram 77% da variação total. Os grupos formados por componentes principais são exatamente os mesmos obtidos pelo método UPGMA (Figura 10).

Figura 10. Análise de agrupamento de acessos de maxixe de descritores de compostos bioativos e atividades antioxidantes, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis, com correlação cofenética = $0,92^{**}$ e distorção = 0,25 %). Mossoró-RN, 2017.

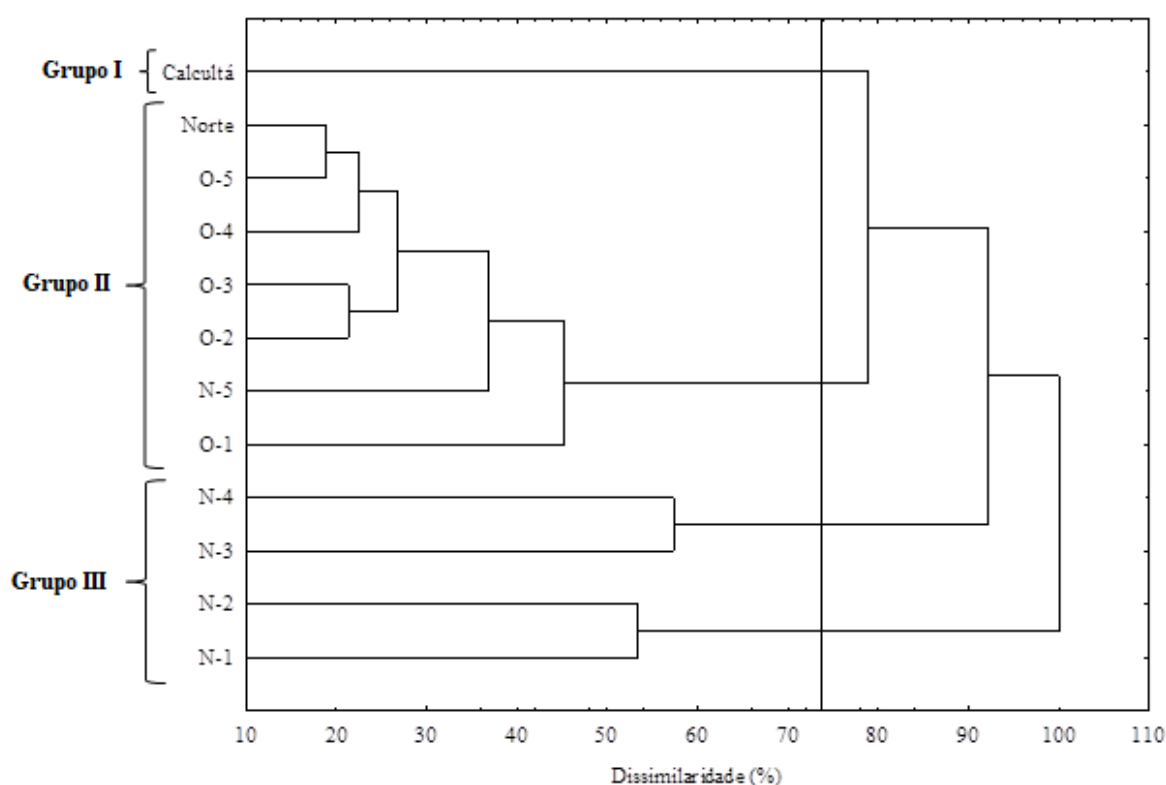
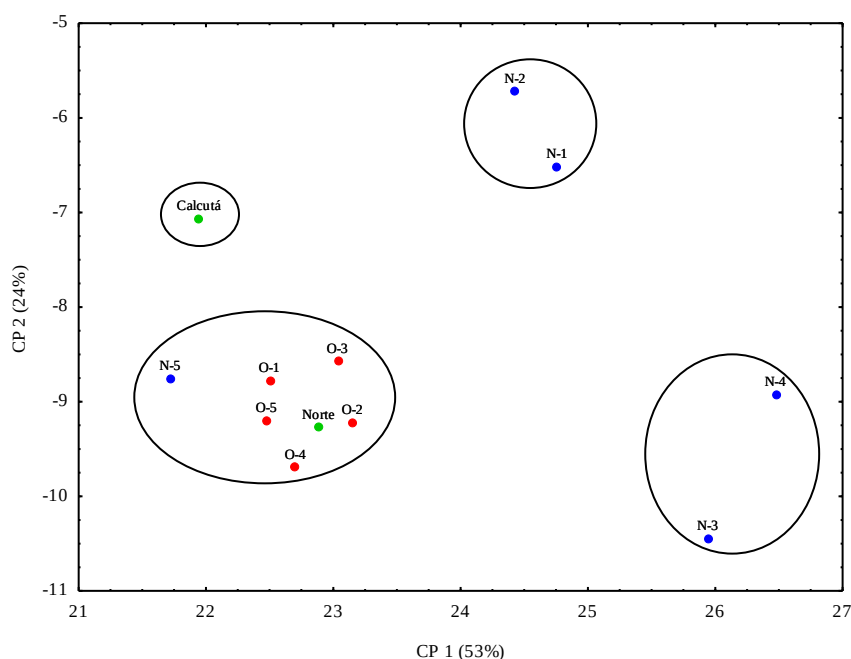


Figura 11. Distribuição de acessos de maxixe provenientes do Norte e Nordeste em função dos dois componentes principais obtidos a partir de quatro descritores dos compostos bioativos e atividades antioxidantes. Mossoró-RN, 2017.



4.4 Diversidade molecular

Para os 38 acessos genotipados, os nove marcadores ISSR geraram 35 *loci* (Tabela 11). A região Norte foi mais polimórfica, com 91,43%, ao passo que o Nordeste teve apenas 62,86% de polimorfismo. Quando se considerou as duas regiões em conjunto, o polimorfismo foi 94,29%. Assim sendo, o germoplasma estudado apresentou alto polimorfismo (94,79%), com base em marcadores ISSR. Isso mostra o elevado grau de diversidade genética desta espécie, uma vez que a proporção de *loci* polimórficos é um fator muito usado para quantificar a diversidade genética em populações de plantas (BORÉM; CAIXETA, 2009). Não há na literatura estudos anteriores realizados com maxixe para que se possa realizar uma comparação.

Considerando as duas populações ao mesmo tempo, as médias dos índices de diversidade genética foram $h = 0,31$ e $I = 0,46$. A maior diversidade genética foi encontrada na região Norte ($h = 0,32$, $I = 0,48$) em comparação com o Nordeste ($h = 0,27$, $I = 0,38$). Estes resultados confirmaram alta diversidade genética no germoplasma de maxixe e auxiliam na determinação das relações genéticas entre materiais para definirem a direção de cruzamentos ou a seleção de progenitores, além de poderem acompanhar a introgressão de genes a ser usados em programas de melhoramento genético. Todavia, a menor diversidade no Nordeste

sugere a necessidade de se realizarem novas coletas de maxixe em todos os Estados da referida região.

Tabela 11. Número de alelos observados (na), diversidade genética (h) (Nei, 1987) e índice de diversidade de Shannon (I) em *loci* ISSR utilizados em acessos de maxixe oriundos do Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.

Loco	Norte			Nordeste			Norte/Nordeste		
	na	h	I	na	h	I*	na	h	I
ISSR03-1	2	0,49	0,69	2	0,43	0,62	2	0,48	0,67
ISSR03-2	2	0,44	0,64	2	0,50	0,69	2	0,48	0,68
ISSR03-3	2	0,48	0,68	2	0,50	0,69	2	0,49	0,69
ISSR03-4	2	0,44	0,64	2	0,49	0,68	2	0,47	0,66
ISSR03-5	2	0,44	0,64	1	0,00	0,00	2	0,28	0,46
ISSR05-1	2	0,49	0,69	2	0,35	0,54	2	0,45	0,64
ISSR05-2	2	0,43	0,62	2	0,49	0,69	2	0,47	0,66
ISSR05-3	2	0,36	0,55	2	0,46	0,65	2	0,42	0,61
ISSR09-1	1	0,00	0,00	1	0,00	0,00	1	0,00	0,00
ISSR09-2	2	0,38	0,57	2	0,38	0,56	2	0,38	0,57
ISSR09-3	2	0,43	0,63	2	0,49	0,68	2	0,49	0,69
ISSR10-1	2	0,15	0,28	1	0,00	0,00	2	0,08	0,17
ISSR12-1	2	0,11	0,23	1	0,00	0,00	2	0,06	0,14
ISSR12-2	2	0,11	0,23	1	0,00	0,00	2	0,06	0,14
ISSR12-3	2	0,11	0,23	1	0,00	0,00	2	0,06	0,14
ISSR12-4	2	0,06	0,13	1	0,00	0,00	2	0,03	0,08
ISSR12-5	1	0,00	0,00	1	0,00	0,00	1	0,00	0,00
ISSR14-1	1	0,00	0,00	2	0,07	0,16	2	0,03	0,08
ISSR14-2	2	0,49	0,68	2	0,49	0,69	2	0,49	0,69
ISSR14-3	2	0,44	0,64	1	0,00	0,00	2	0,30	0,48
ISSR16-1	2	0,35	0,54	1	0,00	0,00	2	0,22	0,38
ISSR16-2	2	0,36	0,55	2	0,43	0,63	2	0,40	0,59
ISSR24-1	2	0,10	0,21	1	0,00	0,00	2	0,05	0,12
ISSR24-2	2	0,35	0,54	2	0,44	0,63	2	0,40	0,59
ISSR24-3	2	0,49	0,69	2	0,48	0,67	2	0,50	0,69
ISSR24-4	2	0,10	0,21	1	0,00	0,00	2	0,05	0,12
ISSR24-5	2	0,49	0,69	2	0,35	0,54	2	0,48	0,67
ISSR24-6	2	0,46	0,65	1	0,00	0,00	2	0,29	0,46
ISSR24-7	2	0,10	0,21	2	0,10	0,21	2	0,10	0,21
ISSR26-1	2	0,44	0,63	2	0,50	0,69	2	0,49	0,68
ISSR26-2	2	0,35	0,54	2	0,44	0,63	2	0,40	0,59
ISSR26-3	2	0,33	0,51	2	0,48	0,67	2	0,48	0,67
ISSR26-4	2	0,35	0,54	2	0,44	0,63	2	0,40	0,59
ISSR26-5	2	0,49	0,69	2	0,49	0,69	2	0,50	0,69
ISSR26-6	2	0,49	0,69	2	0,492	0,69	2	0,50	0,69
Média	1,91	0,32	0,48	1,63	0,27	0,38	1,94	0,31	0,46
DP	0,28	0,18	0,23	0,49	0,23	0,32	0,24	0,19	0,25
Polimorfismo (%)			91,43			62,86			94,29

DP: desvio padrão

Com relação à estrutura populacional, verificou-se valores muito próximos para heterozigossidade entre e dentro das duas regiões nas quais os acessos foram amostrados (Tabela 12).

Tabela 12. Estrutura hierárquica, diferenciação genética e fluxo gênico em *loci* ISSR utilizados em acessos de maxixe oriundos do Norte e Nordeste. Mossoró-RN, 2017.

Loco	H _t	H _s	G _{st}	N _m
ISSR03-1	0,48	0,46	0,03	18,39
ISSR03-2	0,48	0,47	0,02	20,50
ISSR03-3	0,49	0,49	0,01	83,26
ISSR03-4	0,47	0,47	0,01	61,90
ISSR03-5	0,28	0,22	0,20	2,00
ISSR05-1	0,45	0,43	0,06	8,08
ISSR05-2	0,47	0,46	0,02	28,88
ISSR05-3	0,42	0,41	0,02	32,67
ISSR09-1	0,00	0,00	****	****
ISSR09-2	0,38	0,38	0,00	2000,00
ISSR09-3	0,49	0,46	0,06	7,38
ISSR10-1	0,08	0,08	0,04	11,15
ISSR12-1	0,06	0,06	0,03	15,48
ISSR12-2	0,06	0,06	0,03	15,48
ISSR12-3	0,06	0,06	0,03	15,48
ISSR12-4	0,03	0,03	0,02	32,49
ISSR12-5	0,00	0,00	****	****
ISSR14-1	0,04	0,04	0,02	26,49
ISSR14-2	0,49	0,49	0,00	268,68
ISSR14-3	0,28	0,22	0,20	2,00
ISSR16-1	0,20	0,18	0,13	3,36
ISSR16-2	0,40	0,40	0,01	65,90
ISSR24-1	0,05	0,05	0,03	17,49
ISSR24-2	0,40	0,40	0,01	43,85
ISSR24-3	0,50	0,49	0,02	22,18
ISSR24-4	0,05	0,05	0,03	17,49
ISSR24-5	0,48	0,42	0,12	3,82
ISSR24-6	0,29	0,23	0,21	1,85
ISSR24-7	0,10	0,10	0,00	2000,00
ISSR26-1	0,49	0,47	0,04	13,19
ISSR26-2	0,40	0,40	0,01	43,85
ISSR26-3	0,48	0,40	0,16	2,55
ISSR26-4	0,40	0,40	0,01	43,85
ISSR26-5	0,50	0,49	0,01	46,50
ISSR26-6	0,50	0,49	0,01	46,50
Média	0,3071	0,2927	0,0471	10,1257

HT: heterozigossidade média total; HS: heterozigossidade média dentro das populações; G_{st}: índice de diferenciação genética entre as populações (NEI, 1987); N_m: fluxo gênico.

O valor de G_{st} estimado foi de apenas 0,0471, indicando que apenas 4,71% da variação total estão entre as duas populações (regiões). O fluxo gênico (N_m), estimado com base na estimativa G_{st} , resultou no valor de 10,13 indivíduos, indicando altíssima taxa de migrantes entre as populações.

Assim como os índices G_{st} , a Análise de Variância Molecular – AMOVA (Tabela 13) também revelou que a maior porcentagem da variabilidade genética foi observada dos indivíduos dentro das populações da região Norte e Nordeste. Quando as regiões são hierarquizadas como um único grupo, observa-se que apenas 5,10% da variação genética ocorreu entre elas. Por estes resultados, revela-se que a maior diferenciação ocorreu de forma intrapopulacional, sugerindo que o sistema reprodutivo de espécies alógamas tem importante contribuição para a formação da estrutura genética de uma população, em decorrência do acasalamento ao acaso, que aumenta a variação da heterozigose. Em geral, isso evidencia alta diferenciação dentro das populações e menor diferenciação entre as populações dos acessos das regiões Norte e Nordeste.

Tabela 13. Resultado da AMOVA para as duas populações (regiões) de maxixe com base em marcadores ISSR. Mossoró-RN, 2017.

FV	Varição	Varição (%)	Φ_{ST}
Entre regiões	4,520	5,10	0,51
Dentro	84,050	94,89	

No geral, as populações podem estar subdivididas em unidades menores. No entanto, na natureza as subpopulações não estão necessariamente isoladas geneticamente umas das outras, em virtude da ocorrência de migração ou troca de genes entre elas (HARTL; CLARK, 2010). Com isso, a maior diferenciação genética intrapopulacional observada para o maxixe está dentro do esperado, por serem plantas preferencialmente alógamas e pelo elevadíssimo índice de fluxo gênico encontrado ($N_m = 10,13$). Segundo Hamrick (2012), o fluxo gênico entre indivíduos dentro das populações e entre as populações pode ter grandes impactos sobre a distribuição da variação genética porque o fluxo gênico, ao introduzir novas variações, reduz a diferenciação genética entre as populações. Na verdade, um indivíduo migrante ou mais entre as populações é suficiente para prevenir a diferenciação substancial entre elas. Geralmente, se $N_m > 1$, haverá pouca diferenciação entre as populações (MCDERMOTT; MCDONALD, 1993; WRIGHT, 1951).

Desta forma, a diferenciação genética significativa de 5,10% (AMOVA, Tabela 13) encontrada entre as populações maxixe do Norte e Nordeste, mesmo tendo sido encontrado

elevado fluxo gênico ($Nm = 10,13$), pode estar relacionada a processos aleatórios na transmissão dos alelos de uma geração para outra ou por diferenças casuais na frequência alélica entre os fundadores iniciais destas populações (HARTL; CLARK, 2010). Segundo Levin (1984), a colonização de *habitats* vazios pela dispersão de sementes tem como consequência alterações da estrutura espacial da espécie, conduzindo, muitas vezes, a alguma diferenciação genética entre as populações. Isso é possível porque é muito provável que tenha havido intercâmbio de sementes entre os agricultores em razão de movimentos migratórios entre as regiões Norte e Nordeste.

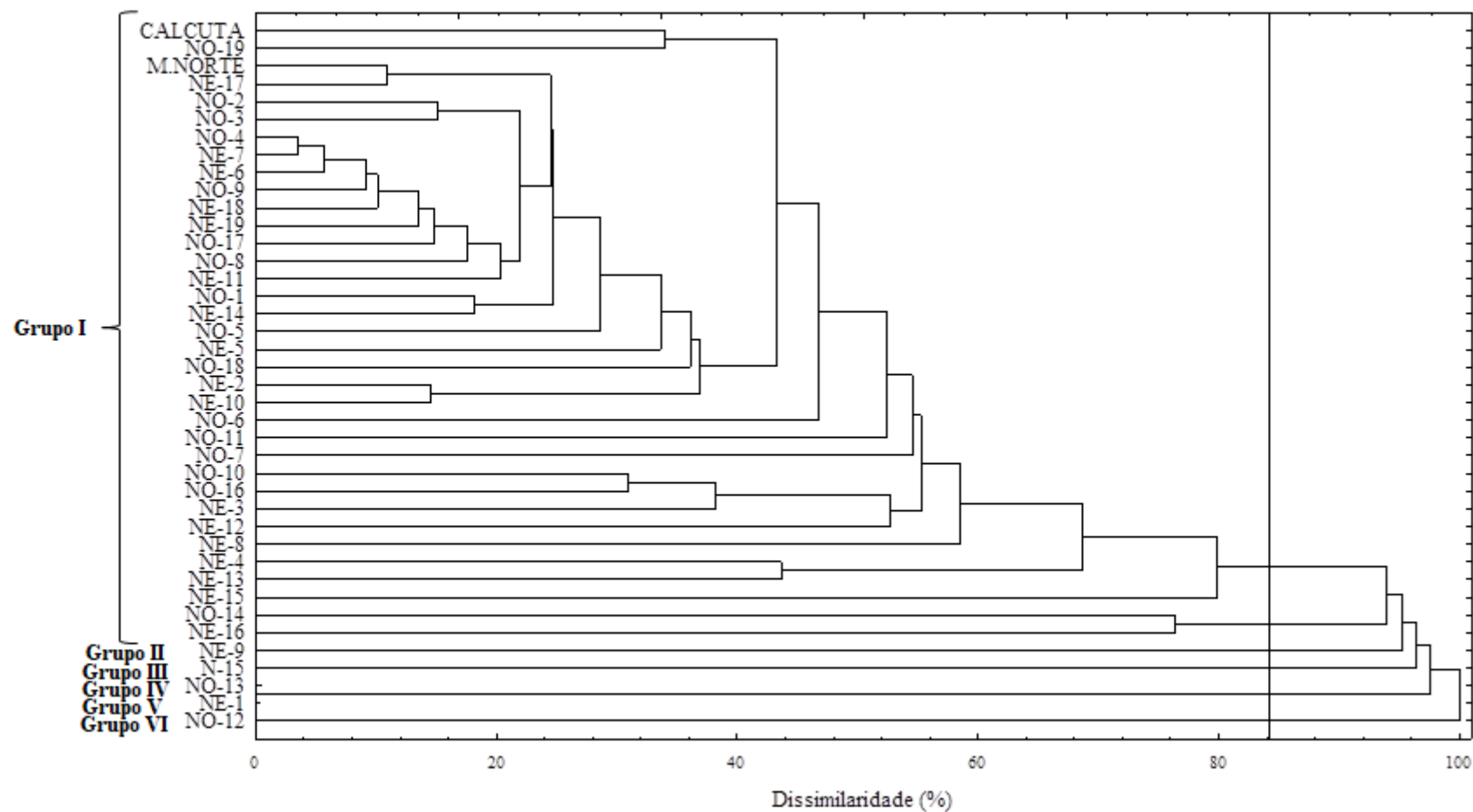
Com relação à dissimilaridade entre os acessos e as cultivares, o agrupamento UPGMA com informações moleculares ISSR foi eficiente em agrupar os acessos de maxixe da coleção de trabalho da UFERSA ($r = 0,77^{**}$). Neste caso, também se utilizou como ponto de corte o critério adotado na análise morfológica, constatando-se a formação de seis grupos. Apesar de seis grupos, cinco deles foi composto por apenas um acesso ou dois acessos como os grupos dois a seis (Figura 13). O primeiro grupo foi composto 33 acessos, sendo 17 do Nordeste e 16 do Norte.

A observação de que existe pequena diferenciação genética significativa entre as populações das duas regiões está de acordo com o gráfico de agrupamento pelo coeficiente de Jaccard e com a análise Bayesiana (Figura 12), os acessos do Norte se agruparam juntamente com acessos do Nordeste. Assim, o elevado fluxo gênico encontrado poderia estar limitando à divergência genética neste nível hierárquico.

Um aspecto contundente encontrado no presente trabalho foi a grande diferença entre os resultados de diversidade encontrados por caracteres morfoagronômicos e bioquímicos e aqueles obtidos por marcadores moleculares ISSR, uma vez que com estes últimos não foi possível diferenciar as populações das duas regiões, ao passo que com aqueles observou-se diferenciação nítida entre os acessos das duas regiões. Um resultado que atesta esse fato é a baixíssima e não significativa correlação entre as matrizes de distâncias de dados morfológicos e molecularmente foi reduzida e significativa ($r = 0,04^{ns}$). Esse resultado evidencia que as informações obtidas com marcadores ISSR e dados morfológicos apresentam pequena afinidade.

Todavia, ressalta-se que as duas informações são complementares. Com efeito, a utilização de uma estimativa não exclui a necessidade de se avaliar à outra. Alguns trabalhos evidenciam a não coincidência no padrão de variação entre marcadores moleculares e caracteres morfológicos quando se avalia germoplasma na maioria das espécies (KOEHLER-SANTOS et al., 2003).

Figura 12. Análise de agrupamento de acessos de maxixe por meio de marcador ISSR, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando como distância o complemento de Jaccard (morfoagronômicos com correlação cofenética = 0,77** e distorção = 0,64%). Mossoró-RN, 2017.



Na literatura consultada, não foram observados trabalhos com a espécie em questão. Não obstante, para o caso do maxixe, sugere-se que seja aumentado o tamanho amostral nas duas regiões e que mais marcadores ISSR, bem como outros tipos de marcadores, sobretudo marcadores codominantes, sejam testados para avaliar a diversidade genética das populações do Norte e Nordeste.

5. CONCLUSÕES

- Existe variabilidade nos acessos de maxixe das Regiões Norte e Nordeste do Brasil para caracteres morfoagronômicos e bioquímicos. Esta variação apresenta potencial para uso em trabalho de melhoramento genético.
- A maior diferenciação genética foi encontrada dentro das populações e existe diferenciação genética significativa entre elas a partir de dados com marcadores ISSR.
- Não há associação entre a diversidade e os acessos com base em marcadores ISSR e dados fenotípicos de caracteres morfoagronômicos e bioquímicos.

6. REFERÊNCIAS

ABDELNOOR, R. V.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Determination of genetic diversity within brazilian soybean germplasm using random amplified polymorphic DNA techniques and comparative analysis with pedigree data. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 18, p. 265-273, 1995.

AJMAL, A. M.; PANDEY, A. K. Systematic Studies on the Family Cucurbitaceae of Eastern Bihar, India. **Cucurbit Genetics Cooperative Report**, Charleston, p. 28-29:66-69, 2005-2006.

AKIMOTO, J.; FUKUHARA, T.; KIKUZAWA, K. Sex expression and genetic variation in a functionally androdioecious species, *Schizopepon bryoniaefolius* (Cucurbitaceae). **American Journal of Botany**, v. 86, p. 880-886, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official. Analytical Chemistry**. 11. ed. Washington: AOAC, 1992. 1115 p.

ASTLEY, D. Preservation of genetic diversity and accession integrity. **Field Crop Res.**, Amsterdam, v. 29, p. 205-224, 1992.

AZEVEDO FILHO, J. A.; DE MELO, A. M. T. Caracterização agronômica de genótipos de maxixe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43, 2003. **Horticultura Brasileira**, Brasília: DF, v. 21, n. 2, p. 356, 2003. (Suplemento 1).

BAILEY L. H. **The Garden of Gourds**. 2ª Ed. Macmillan: London; 1989.

BAIRD, J. R.; THIERET, J. W. The bur gherkin (*Cucumis anguria* var. *anguria*, Cucurbitaceae). **Economic Botany**, v. 42, n. 3, p. 447-451. 1988.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plant and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1. p. 191-203, 2006.

BALICK, M. J. Collecting tropical plant germplasm. In: CAMPBELL, D. G.; HAMMOND, H. D. (org.). **Floristic inventory of tropical countries**. New York: The New York Garden/World Wildlife Fund, 1989. p. 476-481.

BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M. Descritores para caracterização de germoplasma. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável**. Viçosa, MG: UFV, 2015.

BARRETO, N. D. S. **Qualidade, compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutos de híbridos comerciais de meloeiro cultivados no CE e RN**. 2011. 185f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal Rural do Semiárido, UFRSA, Mossoró, 2011.

BARROS, F. R.; ANUNCIÇÃO FILHO, C. J.; ROCHA, M. M.; NUNES, J. A. R.; SILVA, K. J. D.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q. Potencial genético de progênies de feijão-caupi segregantes quanto ao tipo da inflorescência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, p. 182-189, 2011.

BARTH, S., MELCHINGER, A. E.; LUBBERSTEDT, T. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 3, p. 495-505, 2002.

BATES, D. M.; ROBINSON, R. W.; JEFFREY, C. **Biology and utilization of the Cucurbitaceae**. New York: Cornell University Press, 1990.

BERNACCI, L. C.; VEIGA, R. F. A.; BRUNO, O. M.; KOLB, R. M. Caracterização morfológica, descritores e morfometria. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável**. Viçosa, MG: UFV, 2015. p. 192-197.

BERTOLDO, J. G.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; NODARI, R. O.; ELIAS, H. T.; BARILI, L. D.; VALE, N. M.; ROZZETTO, D. S. Rendimento de grãos em feijão preto: o componente que mais interfere no valor fenotípico é o ambiente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 1974-1982, 2009.

BHAGAVATHY, S.; SUMATHI, P. Evaluation of antigenotoxic effects of carotenoids from green algae *Chlorococcum humicola* using human lymphocytes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Beijing, v. 2, n. 2, p. 109-117, 2012.

BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2006. **Descriptors**. Disponível em: <<http://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/search/>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

BIOVERSITY INTERNATIONAL. **Developing crop descriptor lists: guidelines for developers**. Rome: Bioversity International, 2007.

BORGES, V.; SOARES, A. A.; REIS, M. S.; RESENDE, M. D. V.; CORNÉLIO, V. M. O.; LEITE, N. A.; VIEIRA, A. R. Desempenho genotípico de linhagens de arroz de terras altas utilizando metodologia de modelos mistos. **Bragantia**, v. 69, p. 833-841, 2010.

BOUALEM, A.; FERGANY, M.; FERNANDEZ, R.; TROADEC, C.; MARTIN, A.; MORIN, H.; SARI, M. A.; COLLIN, F.; FLOWERS, J. M.; PITRAT, M.; PURUGGANAN, M. D.; DOGIMONT, C.; BENDAHDANE, A. A conserved mutation in an ethylene biosynthesis enzyme leads to andromonoecy in melons. **Science**, v. 321, p. 836-838, 2008.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRUCKNER, C. H. **Fundamentos do melhoramento de fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2011.

BURKILL, H. M. **The useful plants of West Tropical Africa**. 2nd Edition. Volume 1, Families A-D. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom, 1985.

BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de curadores de germoplasma – Vegetal:** caracterização morfológica. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

BURTON-FREEMAN, B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science. **British Journal of Nutrition**, v. 104, p. 1-14, 2010.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 223-226, 2005.

CAPELA, A. P.; SANTANA, R. O.; SOBRINHO, I. S. B.; PORFIRIO, M. C. P.; GONÇALVES, M. S.; SANTOS, I. A.; CORREIA, K. S.; TRINDADE, L. R. S. L. C.; SANTANA, G. A.; SILVA, M. V. Teores de fenóis totais e a capacidade antioxidante em maxixe (*Cucumis anguria* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 54, 2014, Natal. Química e sociedade: Motores da sustentabilidade. **Anais...** Natal-RN: Associação Brasileira de Química, 2014.

CARDOSO, P. C.; TOMAZINI, A. P. B.; STRINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, Barking, v. 126, n. 2, p. 411-416, 2011.

CARVALHEIRA, G. M. G.; GUERRA, M.; SANTOS, G. M.; ANDRADE, V. C.; FARIAS, M. C. A. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco-IV. **Bot Acta. Brasil**, v. 5 n. 2 p. 37-51, 1991.

CARVALHO, J. E. U.; NAZARÉ, R. F. R.; OLIVEIRA, W. M. Características físicas e físico-químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) com rendimento industrial superior. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 326-328, 2003.

CARVALHO, L. J. C. B.; SCHAAAL, B. A.; FUKUDA, W. M. G. Morphological descriptors and random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker used assess the genetic diversity of cassa (*Manihot esculenta* Crantz). In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 4, 1998, Salvador. **Proceeding...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. p. 36-50.

CARVALHO, L. P.; LANZA, M. A.; FALLIRJ, J.; SANTOS, J. W. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1149-1155, 2003.

CARVALHO, N; CANELA, F. M.; FERREIRA, M. A.; OLIVEIRA, V. R.; SANTOS, M. F.; BUSO, G. S. C. Análise da variabilidade genética de linhagens de melão utilizando marcadores moleculares ISSR e SSR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 8, 2015, Goiânia. O melhoramento de plantas, o futuro da agricultura e a soberania nacional. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2015.

CAVALCANTI, T. B. Coleta de germoplasma vegetal, atualização e o impacto de novas tecnologias. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável**. Viçosa, MG: UFV, 2015.

CELLI, G. B.; PEREIRA-NETTO, A. B.; BETA, T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. **Food Research International**, Essex, v. 44, n. 8, p. 2442-2451, 2011.

CHITARRA, A. B. Qualidade, colheita e manuseio pós-colheita de frutos de pessegueiro e da ameixeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 189, p. 68-74, 1997.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª Ed. Lavras: UFLA, 2005.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal Functional Foods**, v. 5, p. 539-549, 2013.

CROSSA, J. VENCOSKY, R. Basic sampling strategies: theory and practice. In: GUARINO, L. et al. (org.). *Collecting plant genetic diversity: technical guidelines* – 2011

update. Bioversity International. Rome, Italy. Chapter 5. Disponível em: <http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?Option=com_content&view=article&id=390&Itemid=557>. Acesso em: 18 ago. 2016.

CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. 1990. 188f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade de São Paulo, USP/Escola Superior Luiz de Queiroz, ESALQ, Piracicaba, 1990.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2011.

DANE, F.; TSUCHIYA, T. Chromosome studies in the genus *Cucumis*. **Euphytica**, Fort Collins, USA, v. 25 p. 367-374, 1976.

DANTAS, J. I. A. **Avaliação de famílias de meio-irmãos de duas populações de maxixe**. 2014. 46f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semiárido/UFERSA, Mossoró, 2014.

DANTAS, J. L. L.; LUZ, C. M. A conservação de recursos fitogenéticos *ex situ* a campo. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável**. Viçosa, MG: UFV, 2015.

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A. C. (org.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**. Viçosa, MG: UFV, 1998. p. 405-475.

DUARTE, R. L. R.; QUEIRÓZ, M. A. Coleta e caracterização de germoplasma de cucurbitáceas no Estado do Piauí. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2002.

DUARTE, R. L. R.; QUEIRÓZ, M. A. Coleta e caracterização de germoplasma de cucurbitáceas no Estado do Piauí. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2002.

DUCKWORTH, R. B. **Fruit and vegetables**. Oxford: Pergamon Press, 1966.

ECOCROP, FAO. Profile for *Cucumis anguria* L. **View Crop Data Sheep**. ECOCROP-Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 1993-2007. Disponível em: <<http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=5008>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

ELLONG, E. N.; BILLARD, C.; ADENET, S.; ROCHEFORT, K. Polyphenols, Carotenoids, Vitamin C Content in Tropical Fruits and Vegetables and Impact of Processing Methods. **Food and Nutrition Sciences**, v. 6, p. 299-313, 2015.

EMBRAPA - CNPS. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 4ª ed. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro, RJ: Embrapa-Solos, 2014.

FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo solo comercializado em 4 estabelecimentos de Brasília DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, p. 541-545, 2001.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. 3. ed. London: Longman, 1993.

FALEIRO, A. S. G.; FALEIRO, F. G.; LOPES, U. V.; MELO, G. R. P.; MONTEIRO, W. R.; YAMADA, M. M.; BAHIA, R. C. S.; CORRÊA, R. X. Variability in cacao selected by producers for resistance to witches' broom based on microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 4, p. 290-297, 2004.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Recursos genéticos: conservação caracterização e uso**. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/cursobiotec/capitulo5.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2010.

FAO. **The second report on the state of the world's plant genetic resources**. Rome: FAO, 2010.

FERREIRA, F. R.; CARLOS, M. Intercâmbio de germoplasma vegetal na Embrapa, Brasil. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, 7. 2009, Pucón, Chile. **Anais...** Pucón, Chile: INIA, out. 2009. p. 573-574.

FERREIRA, I. C. F. R.; ABREU, R. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, v. 4, n. 2, p. 32-39, 2007.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (org.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 181-207.

FREITAS, I. L. J.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; VIANA, A. P.; PENA, G. F.; CABRAL, P. S.; VITTORAZZI, C.; SILVA, T. R. C. Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup em milho-pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 1464-1471, 2013.

GODWIN, I. D.; AITKEN, E. A. B.; SMITH, L. W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 18, p. 1524-1528, 1997.

GONZAGA, V.; FONSECA, J. N. L.; BUSTAMANTE, P. G.; TENENTE, R. C. V. Intercâmbio de germoplasma de cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 06-09, 1999.

GOTOR, E.; ALERCIA, A.; RAMANATHA, R. V.; WATTS, J.; CARACCILO, F. The scientific information activity of Biodiversity International: the descriptor lists. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, n. 5, p. 757-772, 2008.

GOULÃO, L.; OLIVEIRA, C. M. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. **Euphytica**, v. 122, p. 81-89, 2001.

GRIN, NPGS. Profile for *Cucumis anguria* L. **Taxonomy for Plants**. The Germplasm Resources Information Network (GRIN) database of National Plant Germplasm System (NPGS), 2008. Disponível em: <<https://npgsweb.arsgrin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?12546>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA, J. B. Germplasm. In: HALLAUER, A. R.; MIRANDA, J. B. (org.). **Quantitative genetics in maize breeding**. New York: Springer, 1988. p. 375-396

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Oxford University Press, 2007.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. 2ª Ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1989.

HAWKERS, J. G. **Crop genetic resources field collection manual**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources/European Association for Research on Plant Breeding, 1980.

HAWKERS, J. G. **Manual for field collectors: seed crops**. Rome: FAO, 1976.

HENAN, I.; TLILI, I.; R'HIM, T.; BEN ALI, A.; JEBARI, H. Carotenoid content and antioxidant activity of local varieties of muskmelon (*Cucumis melo* L.) grown in Tunisia. **Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology**, Ariana, v. 29, n. 4, p. 1672-1675, 2016.

HIGBY, W. K. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 27, p. 42-49, 1962.

HOSHINO, A. A.; PALMIERI, D. A.; BRAVO, J. P.; PEREIRA, T. E. B.; LOPES, C. R.; GIMENES, M. A. Aplicação de marcadores moleculares do tipo microssatélite na caracterização e conservação de Recursos Genéticos Vegetais mantidos em banco de germoplasma. **Biociência**, v. 29, n. 5, p. 146-150, 2002.

HUANG, X.; BÖRNER, A.; RÖDER, M.; GANAL, M. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 105, p. 699-707, 2002.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, Barking, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 3º ed. São Paulo, 1985.

ISABELLE, M.; LEE, B. L.; LIM, M. T.; KOH, W.; HUANG, D.; ONG, C. N. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. **Food Chemistry**, London, v. 123, n. 1, p. 77-84, 2010.

JACKSON, A. A.; SOMERS, K. M.; HARVEY, H. H. Similarity coefficients: measures for co-occurrence and association or simply measures of occurrence? **American Naturalist**, v. 133, p. 436-453, 1989.

JACKSON, R. S. **Wine science – Principles, practice, perception**. 2ª Edição. San Diego: Academic Press, 2000.

JAMES, F. C.; McCULLOCH, C. E. Multivariate analysis in ecology and systematics: Panacea of pandora's box? **Annual Review Ecology Systematic**, v. 21, p. 129-166, 1990.

JEFFREY, C. Cucurbitaceae. In: LAUNERT, E. (org.). **Flora Zambesiaca**. Comissão da Flora Zambesiaca – Gestão, London, 1978, v. 4, p. 414-499.

JEFFREY, C. **Flora of tropical East Africa. Cucurbitaceae**. Crown agents for overseas governments and administrations. London, 1967.

JUSTICE, O. L.; BASS, L. N. **Principles of seed storage**. [S. I.]: Castle House Publications Ltd: 1979.

KAUFMAN, L. E.; ROUSSEUW, P. J. **Fiding groups in data**. New York: Wiley & Sons, 1990.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p.703-725, 2001.

KAWAMATA, S. Studies on sugar component for fruits by gas-liquid chromatography. **Bulletin Tokio Agricultural Experiment Station**, Tokio, v. 10, n. 1, p. 53-63, 1997.

KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: AVI, 1991.

KERAUDREN, M. **Cucurbitacées (Cucurbitaceae). Flore de Madagascar et des Comores (plantes vasculaires)**, famille 185. Muséum National d' Histoire Naturelle, Paris: France, 1966.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393. 1997.

LIU, R. H. Health-Promoting Components of Fruits and Vegetables in the Diet. **American Society for Nutrition**, v. 4, p. 384-392, 2013.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, n. 3, p. 207-219, 2007.

LIVINI, C.; AJMONE-MARSAN, P.; MELCHINGER, A. E.; MESSEMER, M. M.; MOTTO, M. Genetic diversity of maize inbred lines within and among heterotic group revealed by RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 84, p. 17-25, 1992.

MAHAJAN, A.; GILL, N. S.; ARORA, R. *Cucumis anguria*: a medicinally important plant of cucurbitaceae family. In: **International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 3, p. 21-27, 2014.

MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods**: a primer. 2^a ed. London: Chapman and Hall, 1994.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de La dieta. **Archivos Latinos americano de Nutrición**, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MARTINS M. A. S. **Maxixe (*Cucumis anguria* L.) e seu cultivo em São Luís do Maranhão**. São Luís, MA: EMAPA, 1986.

McCULLOCH, C. E.; SEARLE, S. R. **Generalized, linear, and mixed models**. New York: J. Wiley, 2001.

MCGREGOR, S. E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. 1976. Disponível em: <<http://gears.tucson.ars.ag.gov/book>>. Acessado em: 27 mai. 2016.

MEEUSE, A. D. J. The Cucurbitaceae of southern Africa. **Bothalia**, Cape Town, v. 8, n. 1, p. 1-112, 1962.

MEEUSE, A. D. J. The possible origin of *C. anguria* L. **Blumea**, suppl., v. 4, p. 196-205, 1958.

MELO, A. M. T.; MOREIRA, S. R. Recursos genéticos e caracterização de cucurbitáceas subutilizadas e/ou negligenciadas no IAC. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 47, v. 25, 2007, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: Associação Brasileira de Horticultura, 2007.

MELO, E.; MACIEL, M.; LIMA, V.; NASCIMENTO, R. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, p. 193-201, 2008.

MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A.; DE LIZ, R. S. **Recomendações técnicas para o controle de pragas do maxixeiro**. 1ª ed. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2010.

MODOLO, V. A.; COSTA, C. P. **Maxixe**: uma hortaliça de tripla forma. Piracicaba: ESALQ, 2003.

MORAIS, P. L. D.; SILVA, G. G.; MAIA, E. N.; MENEZES, J. B. Avaliação das tecnologias pós-colheita utilizadas e da qualidade de melões nobres produzidos para exportação. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 214-218, 2009.

MOREIRA, J. A. N.; SANTOS, J. W.; OLIVEIRA, S. R. M. **Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma**. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1994.

MOURA, M. C. C. L.; SILVA, S. L. O.; MARTINS, M. R.; LOPES, G.; LIMA, C. H. L.; ALBERTINA, A.; SARDINHA, D.; BRITO, R. B. Caracterização Agronômica de acessos de maxixe coletados no Nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45, 2005, Fortaleza. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 452-452, 2005.

NASCIMENTO, A. M. C. B.; NUNES, R. G. F. L.; NUNES, L. A. P. L. Elaboração e avaliação química, biológica e sensorial de conserva de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista ACTA Tecnológica**, São Luís, v. 6, n. 1, p. 123-136, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

NRCS, USDA. Profile for *Cucumis anguria* (West Indian gherkin). **Plants database**. The Natural Resources Conservation Service (NRCS) is an agency of the United State Department of Agriculture (USDA), 2012. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CUAN>>. Acessado em: 18 mai. 2016.

NUNES, E. E. **Caracterização química de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cv. Smoth Cayenne**. 2001. 67f. Monografia (Pós-Graduação em Análise de Alimentos) – Universidade de Lavras, UFLA, Lavras, 2001.

NUNES, G. H. S.; MELO, D. R. M.; DANTAS, D. J.; ARAGÃO, F. A. S.; NUNES, E. W. L. P. Divergência genética entre linhagens de melão do grupo *Inodorus*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 448-456, 2011.

OUBORG, N. J.; PIQUOT, Y.; VAN GROENENDAEL, J. M. Population genetics, molecular markers and study of dispersal in plants. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 87, p. 551-568, 1999.

PÁDUA, J. G.; JOSÉ, S. C. B. R. Conservação de sementes de câmara fria. In: VIEGAS, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável**. Viçosa, MG: UFV, 2015.

PAIVA, W. O. Estimativas de parâmetros genéticos em maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 14, n. 1-2, p. 39-47, 1984.

PAIVA, W. O. Parâmetros genéticos em maxixe sem espículos. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 24, n. 1-2, p. 3-8, 1994.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C. **Análises de materiais biológicos**. Campinas, SP, 2006.

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. **Biometrika**, v. 58, p. 545-554, 1971.

PEREIRA, D. V.; FERREIRA, A. V.; DA SILVA, F. L. V.; NASCIMENTO, F. F.; RODRIGUES, G. C.; SILVA, J. N.; VIEIRA, L. M. Capacidade antioxidante e fenólicos totais de maxixe (*Cucumis anguria* L.). In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA/CONNEPI, 5, 2010, Maceió. **Anais...** Maceió: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas/IFAL, 2010.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; COSTA, F. R.; Marcadores moleculares no pré-melhoramento. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (org.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, 2009. p. 103-128.

PFAF. Profile for *Cucumis anguria* L. **Database**. Plant for a Future (PFAF), 1996-2012. Disponível em: <<http://www.pfaf.org/user/Plant.asp>>. Acesso em: 28 mai. 2016.

PINHEIRO, L. C. M.; GOD, P. I. V. G.; FARIA, V. R.; OLIVEIRA, A. G.; HASUI, A. A.; PINTO, E. H. G.; ARRUDA, K. M. A.; PIOVESAN, N. D.; MOREIRA, M. A. Parentesco na seleção para produtividade e teores de óleo e proteína de soja via modelos mistos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 1246-1253, 2013.

PINTO, M. S. **Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.)**: caracterização e estudo da biodisponibilidade dos derivados do ácido elágico. 2008. 138f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, USP, 2008.

PRECZENHAK, A. P. **Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfológicos em acessos de mini-tomate**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO, Guarapuava, 2013.

QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos**: a base da agricultura sustentável. Viçosa, MG: UFV, 2015.

QUEIRÓZ, M. A. Recursos genéticos de cucurbitáceas na agricultura tradicional do Nordeste brasileiro: origem, potencial e perspectiva de uso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1, 2001, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2001.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido**. Tradução de Joselita Wasniewski. Rio de Janeiro: ASPTA, 1993.

RANDHIR, R.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Victoria, v. 13, n. 3, p. 295-307, abr. 2004.

RANGEL, P. H. N.; ABREU, A. G.; FERREIRA, M. E. Os desafios da avaliação agronômica de recursos genéticos vegetais depositados em BAG. In: VIEGAS, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. (org.). **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável no Brasil**. 1ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015. p. 221-229.

QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável**. Viçosa, MG: UFV, 2015. 496 p.

REGAZZI, A. J. **INF 766 – Análise multivariada**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Departamento de Informática, 2001. 166 p. Apostila de disciplina.

REHM, S.; ENSLIN, P. R., MEEUSE, A. D. J.; WESSELS, J. H. Bitter principles of the Cucurbitaceae. VI. The isolation and characterization of six new crystalline bitter principles. **Jornal of the Science of Food and Agriculture**, v. 8, p. 673-678, 1957.

RESENDE M. D. V.; OLIVEIRA, E. B. Sistema ‘SELEGEN’ - Seleção genética computadorizada para o melhoramento de espécies perenes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 931-939, 1997.

RESENDE, G. M. **Produtividade de cultivares de maxixe em função de épocas de plantio**. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido, 1999. p. 6 (Comunicado Técnico, 83).

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007a.

RESENDE, M. D. V. **Software**. SELEGEN-REML/BLUP. Curitiba: Embrapa Florestas, 2002. (Documentos, 77).

RESENDE, M. D. V. **Software**. SELEGEN-REML/BLUP: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos mistos. Colombo: Embrapa Florestas, 2007b.

REYNERSTON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. B.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n. 3, p. 499-514, 1973.

ROBINSON, I. P. Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: ALFENAS, A. C. (org.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 1998. p. 329-380.

RODRIGUES, J. F. **Delimitação de espécies e diversidade genética no complexo *Cattleya coccínea* Lindl. e *C. Mantiqueirae* (Flowie) Van der Berg (Orchidaceae) baseada em marcadores moleculares ISSR**. 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, USP/Escola Superior Luiz de Queiroz, ESALQ, Piracicaba, 2010.

RODRIGUES, L. A. **Contribuição ao estudo bioquímico de frutas tropicais e exóticas produzidas no Brasil**: estudo de pectina, açúcar e proteína, elaboração de técnica de extração de pectina. 2009. 125f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Química/Universidade Estadual Paulista, UEP, Araraquara, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **Harvest plus handbook for carotenoid analysis**. Washington: CIAT, 2004.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica**: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS.+ Embrapa Agroindústria Tropical, 2006.

SALOMÃO, A. N. **Manual de curadores de germoplasma – Vegetal**: glossário. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

SCHAEFER, H.; RENNER S. S. Phylogenetic Relationships in the Order Cucurbitales and a New Classification of the Gourd Family (Cucurbitaceae). **Taxon**, v. 60, n. 1, p. 122-138, 2011.

SCHIPPERS, R. R. **African indigenous vegetables. An overview of the cultivated species**. Recursos Naturais Centro Técnico Institute/ACP-UE de Cooperação Agrícola e Rural, Chatham, Reino Unido, 2000.

SEPASAL. *Cucumis anguria* vars. *anguria* and *longipes*. Survey of Economic Plants for Arid and Semi-Arid Lands (SEPASAL), **database**. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. Disponível em: <<http://www.kew.org/ceb/sepasal/>>. Acessado em: 26 mai. 2016.

SERRA, B. D. V.; CAMPOS, L. A. O. Polinização entomófila de abobrinha, *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 153-159, mar.-abr. 2010.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2004.

SILVA, D. B.; WETZEL, M. M. V. S.; SALOMÃO, A. N.; FAIAD, M. G. R. Conservação de germoplasma de semente em longo prazo. In: NASS, L. L. (org.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 441-471.

SILVA, D. J. H.; MOURA, M. C. C. L.; CASALI, V. W. D. Recursos genéticos do banco de germoplasma de hortaliças da UFV: Histórico e expedições de coleta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 108-114, jul. 2001.

SILVA, F. C. **Crescimento e alterações fisiológicas pós-colheita em frutos de maxixe (*Cucumis anguria*)**. 2016. 78f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa. 2016.

SILVA, F. C. **Utilização de permanganato de potássio na conservação pós-colheita de maxixe**. 2012. 41f. Dissertação (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2012.

SILVA, M. B. S. **Flavonoides com capacidade antioxidante**. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. 2011.

SILVA, M. L. **Avaliação molecular do banco ativo de germoplasma de melancia do nordeste brasileiro**. 2010. 162f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, 2010.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, P. C.; SILVA FILHO, D. F.; MACHADO, F. M. Análise genética em populações de maxixe (*Cucumis anguria*, Cucurbitaceae) cultivadas no estado do Amazonas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA PROGRESSO DA CIÊNCIA – AMAZÔNIA CIÊNCIA E CULTURA, 61, 2009, Manaus. **Anais...** Manaus: Sociedade Brasileira para Progresso da Ciência, 2009.

SILVEIRA, P. T. S.; SILVA, N. M. C.; REIS, M. F. T.; LANDIM, L. B.; AQUINO, A. A. Qualidade pós-colheita do maxixe (*Cucumis anguria* L.) revestido com amido de milho adicionado do extrato de própolis. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 1888-1899, 2015.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**: the principles and practice of numerical classification. San Francisco: W. H. Freeman, 1973.

SOUSA, N. R.; SOUZA, A. C. G. Conservação *ex situ*, pesquisa e utilização de espécies nativas. In: SOUSA, N. R.; SOUZA, A. C. G. (org.). **Recursos fitogenéticos na Amazônia**

Ocidental: conservação, pesquisa e utilização. Manaus: Embrapa Amazônia Oriental, 2001. p. 27-39.

SOUZA, A. P. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELLO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (org.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação, 2001. p. 939-965.

SOUZA, C. G.; SANTOS, B. C.; DA COSTA, C. A.; RAMOS, J.; SANTOS, V. P. Caracterização da comercialização e da produção de hortaliças não convencionais em feiras livres na cidade de Montes Claros, MG. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 824-828, 2012.

SOUZA, R. N. C.; DIAS, R. C. S.; AMARAL, C. M.; ALVES, J. C. S. F. Multiplicação e caracterização de acessos de maxixe. In: ENCONTRO DA REDE DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS DO ESTADO DA BAHIA, 3; SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS DE PLANTAS CULTIVADAS NO NORDESTE BRASILEIRO, 2, 2008, Vitória da Conquista. **Resumos expandidos...** Vitória da Conquista: UESB, 2008.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, p. 381-386, 2012.

STROHECKER, R., HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas:** métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo, 1967.

TIAN, B.; XU, Z.; SUN, Z.; LIN, J.; HUA, Y. Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence, and DNA damage analyses. **Biochimica et Biophysica Acta**, Alberta, v. 17, n. 6, p. 902-911, jun. 2007.

TINDALL, H. B. **Vegetables in the tropics**. London: Macmillan, 1983.

TRINDADE, A. C.; COSTA FILHO, J. H.; FONTES, L. O.; SILVA, S. C.; ZWIRTES, D. J.; MONTE JÚNIOR, F. A. C. Divergência genética entre maxixe (*Cucumis anguria* L.)

coletados no município de Bom Jesus – PI. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 8, 2015, Goiânia. O melhoramento de plantas, o futuro da agricultura e a soberania nacional. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2015.

UNITED STATE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. **Dietary intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids.** Washington, cap. 2, p. 35-57. 2000.

UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO. **Sistemática Vegetal II.** Universidade Castelo Branco. Rio de Janeiro, RJ: UCB, 2010. 36 p.

VALENTE, A.; ALBUQUERQUE, T. G.; SANCHES-SILVA, A.; COSTA, H. S. Ascorbic acid content in exotic fruits: a contribution to produce quality data for food composition databases. **Food Research International**, Essex, v. 44, n. 7, p. 2237-2242, 2011.

VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L.; GOES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (org.). **Recursos genéticos e melhoramento** – Plantas. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001. p. 123-147.

VAN WYK, B. E.; GERICKE, N. **People's plants:** a guide to useful plants of southern Africa. Briza Publications, Pretória, África do Sul, 2000.

VASCONCELOS, M. J.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA-based molecular markers. **Brasilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 19, p. 447-451, 1996.

VIANA, A. P.; RESENDE, M. D. V. **Genética quantitativa no melhoramento de fruteiras.** 1ª ed. Rio de Janeiro, RJ: Interciência, 2014.

VIGOUROUX, Y.; JAQUETH, J. S.; MATSUOKA, Y.; SMITH, O. S.; BEAVIS, W. D.; SMITH, J. S. C.; DOEBLEY, J. Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. **Molecular Biology**, New York, v. 19, p. 1251-1260, 2002.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (org.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 27-55.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; BIANCHETTI, L. B.; VALLS, J. F. M. Princípios sobre coleta de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (org.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 193-229.

WALTERS, S. A.; TAYLOR, B. H. Effects of honey bee pollination on pumpkin fruit and seed yield. **HortScience**, v. 41, n. 2, p. 370-373, abr. 2006.

WEIR, B. S. **Genetic Data Analysis II**. MA, USA: Sinauer Associates Inc., 1996.

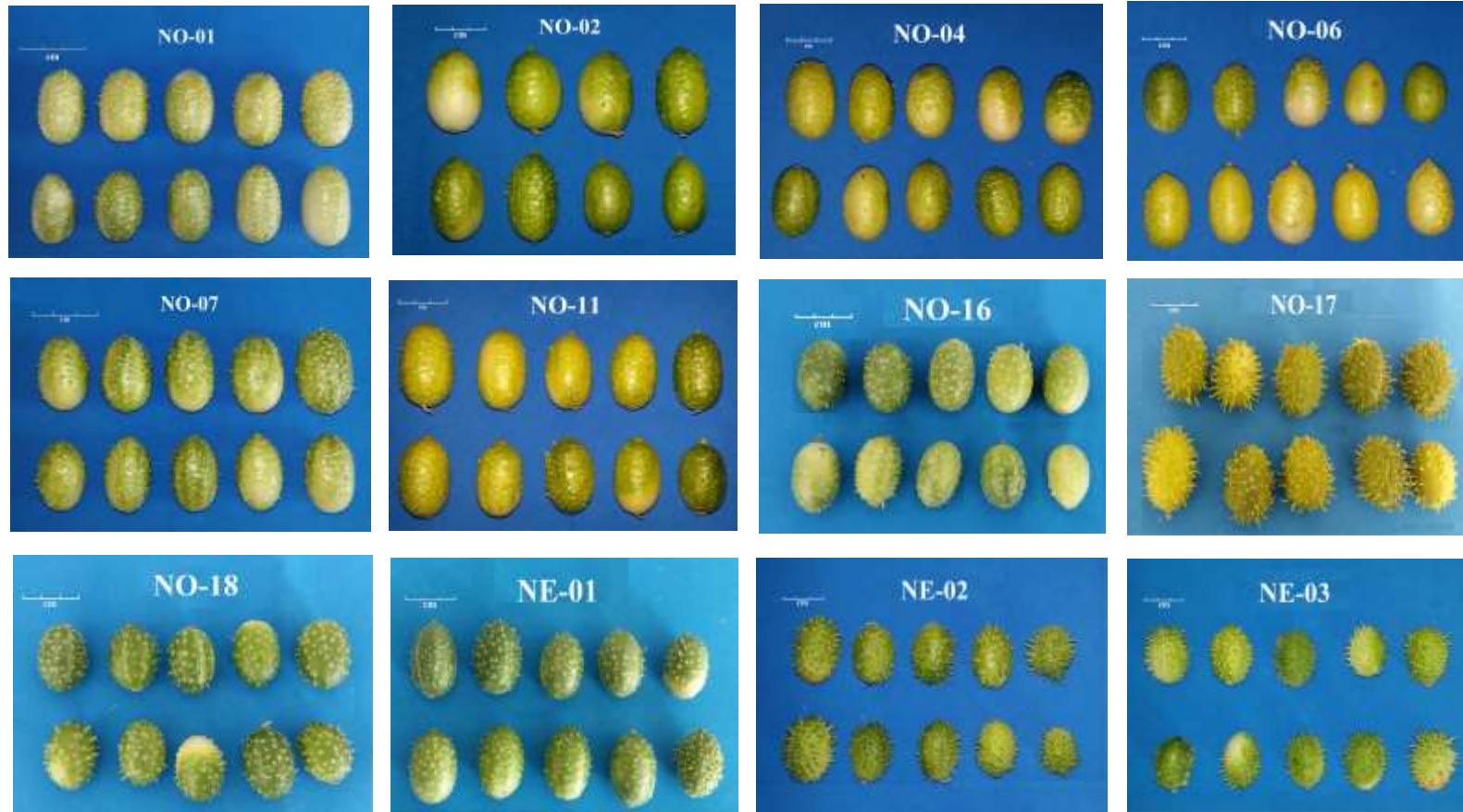
YAHIA, E. M. The Contribution of Fruit and Vegetable Consumption to Human Health. In: ROSA, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZAGUILARA; G. A. **Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2010. p. 3-51.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation off carbohydrate in plant extracts by antrone. **Biochemical Journal**, Cambridge, v. 57, n. 2, p. 504-514, 1954.

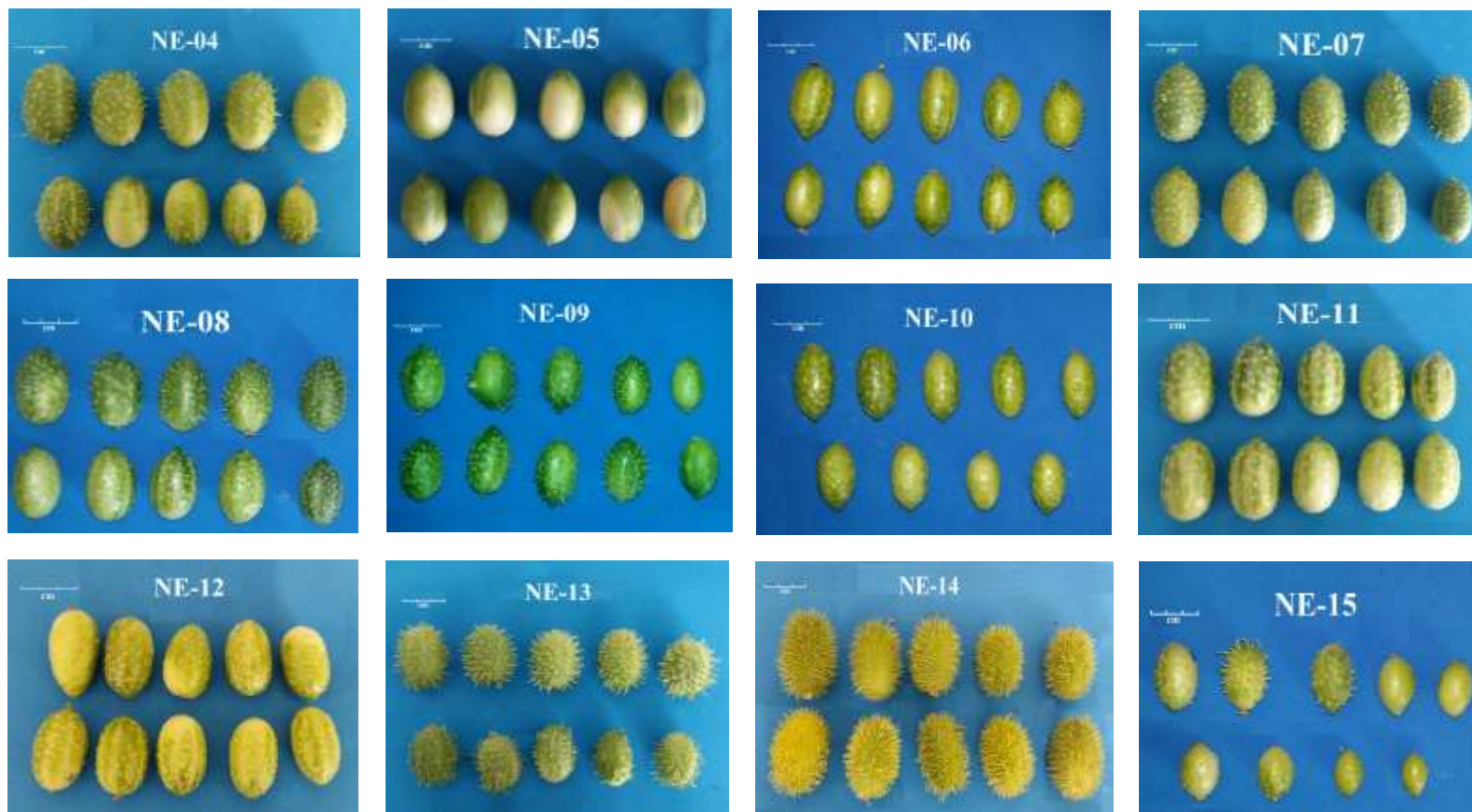
YOKOYAMA, S.; SILVA JÚNIOR, A. A. Maxixe: uma hortaliza pouco conhecida. **Agropecuária Catarinense**, Santa Catarina, v. 1, n. 3, p. 12-13, 1988.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reation amplification. **Genomics**, San Diego, v. 20, p. 176-183, 1994.

7. APÊNDICES – Variação de alguns acessos de maxixe da região Norte e Nordeste brasileira, UFERSA, Mossoró/RN, 2015 (Fonte: autores).



7. APÊNDICES – Cont...



7. APÊNDICES – Cont...

