

ANA CAROLINA DE ASSIS DANTAS

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE
MELÃO COLETADOS NO NORDESTE BRASILEIRO

MOSSORÓ - RN

2011

ANA CAROLINA DE ASSIS DANTAS

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE
MELÃO COLETADOS NO NORDESTE BRASILEIRO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Fitotecnia da
Universidade Federal Rural do Semi-
Árido, como parte dos requisitos para
obtenção do Grau de Mestre em
Agronomia: Fitotecnia.

Orientador: Prof.º D.Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes
Co-orientadora: Profª D.Sc. Ioná Santos Araújo

MOSSORÓ - RN
2011

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e
catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da
UFERSA**

D192c	Dantas, Ana Carolina de Assis. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro. / Ana Carolina de Assis Dantas. -- Mossoró, 2011. 64f.: il. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de concentração: Melhoramento genético de plantas) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação. Orientador: Prof. DSc. Glauber Henrique de S. Nunes Co-orientadora: Prof. DSc. Ioná Santos Araújo 1.<i>Cucumis melo</i> L. 2.Recursos Genéticos.3.RAPD. 4.SSR. I. Título. CDD:535.611
-------	--

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza
CRB-15/452

ANA CAROLINA DE ASSIS DANTAS

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE
MELÃO COLETADOS NO NORDESTE BRASILEIRO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Fitotecnia da
Universidade Federal Rural do Semi-
Árido, como parte dos requisitos para
obtenção do Grau de Mestre em
Agronomia: Fitotecnia.

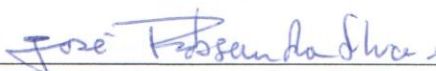
Aprovada em: 25 de fevereiro de 2011.



Prof.º D.Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes
Orientador



Prof.º D.Sc. Elizangela Cabral dos Santos – UFERSA
Conselheira



Prof.º D.Sc. José Robson da Silva –EMPARN
Membro externo

Aos meus pais, João Dantas e Ana Maria, às minhas irmãs Marianna e Julianna, ao meu sobrinho João Luiz e a Richardson meu noivo pelo carinho, amor e compreensão, por estarem sempre presentes em minha vida, me incentivando e apoiando a todo momento. Amo vocês!

Dedico

Aos meus pais, por todo amor, incentivo, compreensão e dedicação para que eu alcançasse mais esse objetivo na minha vida.

Ofereço

AGRADECIMENTO

A Deus, pela infinita graça, amor e misericórdia, me fortalecendo como pessoa, para vencer os obstáculos da vida.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) pelas oportunidades de ensino e por toda estrutura para realização de pesquisas científicas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Glauber Henrique de Sousa Nunes pela orientação, conhecimentos transmitidos e pelo apoio no desenvolvimento da dissertação.

À minha Co-orientadora Ioná Santos Araújo por todos os ensinamentos, incentivo e força em todos os momentos.

À Pós-graduação em Fitotecnia, em especial a todos que compõem o corpo docente, pelos ensinamentos transmitidos durante o mestrado. Aos professores Rui Sales Junior, Edna Aroucha, Sidnei Miyoshi Sakamoto e Luiz Augusto, pelo auxílio na realização das análises em laboratório.

A Embrapa Algodão pela realização de uma parte da pesquisa, nas pessoas de Dra. Liziane e Fábila.

Aos funcionários da horta didática e do laboratório de pós-colheita, vocês foram importantes na execução deste trabalho;

Aos colegas das duas equipes, as meninas do laboratório que sempre com muito carinho e dedicação estavam prontas a ajudar e a equipe de Glauber pela ajuda e trabalho juntos. A todos que contribuiu direta e/ou indiretamente para concretização deste trabalho.

Aos meus amigos de curso, em especial a Rafaella, Paulinha, Thaíza, Saulo, Márcio, Thalita, Andréia, Dinara. As minhas vizinhas queridas, Priscilla, Katherine, Laura e Poliana Mona. Por toda amizade, apoio e incentivo.

À minha família, em especial meus pais João Dantas e Ana Maria e minhas irmãs Marianna e Julianna, pelo amor, compreensão e apoio nessa jornada. A meu noivo Richardson por todo amor e paciência.

RESUMO

DANTAS, Ana Carolina de Assis. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro**. 2011. 64p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2011.

O meloeiro está distribuído em todo o mundo, e é a espécie que possui a maior variabilidade fenotípica do gênero, observada principalmente nos seus frutos. Existe grande variabilidade que consiste em importante fonte de germoplasma para programas de melhoramento. Portanto, o conhecimento da variabilidade genética de espécies vegetais e como ela se distribui, proporciona o uso racional e sustentável dos recursos genéticos. O objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização morfológica e molecular de acessos de meloeiro coletados no Nordeste brasileiro. Foram avaliados 40 acessos e três cultivares comerciais em um experimento conduzido em blocos completos casualizados com duas repetições no município de Mossoró-RN. A caracterização morfológica foi feita através de 17 descritores, sendo um da semente, quatorze de frutos e dois da inflorescência. A caracterização molecular foi realizada pelos marcadores RAPD utilizando 18 primers e por microssatélites (SSR) com 15 primers sintetizados para *Cucumis melo*. Verificou-se que os marcadores morfológicos, RAPD e SSR foram satisfatórios em permitir a detecção de polimorfismo entre os genótipos avaliados. Os métodos de agrupamento de Tocher e o hierárquico concordaram parcialmente nas caracterizações morfológicas e moleculares. O marcador RAPD foi mais discriminante em relação ao microssatélite pelo fato de agrupar os acessos em mais grupos. O banco de germoplasma da UFERSA possui alta variabilidade genética entre os acessos.

Palavras-chave: *Cucumis melo*, recursos genéticos, germoplasma, RAPD, SSR.

ABSTRACT

DANTAS, Ana Carolina de Assis. **Morphological and molecular characterization of accesses of melon collected in brazilian northeastern.** 2011. 64p. Dissertation (M. Sc. in Agronomy/Phytotechny) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN-Brazil, 2011.

The melon plant is distributed worldwide and is the kind that has the highest phenotypic variability of the genus, especially observed in its fruit. There is great variability which consists an important source of germplasm for genetic improvement programs. Therefore, the knowledge of the genetic variability of vegetable species and how it distributes itself, provides the rational and sustainable use of genetic resources. The objective of the present study was to do a morphological and molecular characterization of accessions of melon plant collected in brazilian northeastern. Were evaluated 40 accesses and three commercial cultivars in a trial conducted in randomized complete block with two repetitions in Mossoró-RN. The morphological characterization was performed through 17 descriptors, one of the seed, fourteen of fruit and two of the inflorescence. The molecular characterization was performed by RAPD markers using 18 primers and by microsatellite (SSR) with 15 primers synthesized for *Cucumis melo*. It was verified that the morphological markers, RAPD and SSR were satisfactory to allow the detection of polymorphism among the genotypes evaluated. The grouping methods of Tocher and the hierarchical partially agreed on morphological and molecular characterizations. The RAPD marker was more discriminating in relation to microsatellite by the fact of cluster the accesses in most groups. The germplasm bank of UFERSA has high genetic variability among the accessions.

Keywords: *Cucumis melo*, genetic resources, germplasm, RAPD, SSR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Local de coleta dos acessos de melão do Banco de Germoplasma da UFERSA utilizados no presente trabalho. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	25
Tabela 2	Primers decâmeros RAPD utilizados para amplificar o DNA de acessos de meloeiro coletados no Nordeste brasileiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	32
Tabela 3	Características dos primers de microssatélite sintetizados para <i>Cucumis melo</i> , Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	33
Tabela 4	Análise de variância dos 18 descritores avaliados em acessos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	36
Tabela 5	Caracterização de 43 acessos/cultivares de meloeiro a partir de 15 de descritores do fruto. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	40
Tabela 6	Contribuição relativa de 18 descritores fenotípicos para a divergência genética entre acessos de meloeiro, utilizando o método de SINGH (1981). Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	43
Tabela 7	Grupos de acessos formados pelo critério de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis a partir dos dados morfológicos. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	44
Tabela 8	Grupos de acessos formados pelo critério de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis a partir dos dados de RAPD. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	48
Tabela 9	Grupos de acessos formados pelo critério de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis a partir dos dados de SSR. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	51
Tabela 10	Correlação entre a divergência genética estimada através da caracterização morfológica e molecular (SSR, RAPD) pelo teste Z de Mantel. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tipos de melões comercializados no Brasil. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	17
Figura 2	Precipitação pluvial do ano de 2010, sendo os meses de Jun. a Set. os meses de avaliação dos acessos. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	23
Figura 3	Distribuição espacial dos acessos de melão do banco de germoplasma da UFERSA. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	26
Figura 4	Frutos dos acessos de melão estudados e dos três híbridos. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	38
Figura 5	Análise de agrupamento dos 43 genótipos de melão por meio dos descritores do fruto, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	46
Figura 6	Gel de agarose 1,5% contendo fragmentos de DNA amplificados com o marcador RAPD OPF-02 á partir do DNA de alguns acessos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	47
Figura 7	Análise de agrupamento dos 43 genótipos de melão por meio de marcador RAPD, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	50
Figura 8	Gel de poliacrilamida contendo fragmentos de DNA amplificados com o marcador CMMS 30-3, á partir do DNA de alguns acessos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	52
Figura 9	Análise de agrupamento dos 43 genótipos de melão por meio de marcador SSR, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.....	54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 ORIGEM E DIVERSIDADE DO MELOEIRO	15
2.2 IMPORTÂNCIA DA CULTURA	17
2.3 BANCO DE GERMOPLASMA	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 LOCAL	23
3.2 GERMOPLASMA AVALIADO	24
3.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO NO CAMPO	26
3.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ACESSOS	27
3.4.1 Descritores da semente	28
3.4.2 Descritores da flor	28
3.4.3 Descritores de fruto	28
3.4.4 Análises estatísticas	29
3.5 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	30
3.5.1 Extração de DNA	30
3.5.2 Marcador RAPD	31
3.5.3 Marcador Microsatélite	32
3.5.4 Análises estatísticas	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	35
4.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	47
4.2.1 Marcador RAPD	47
4.2.2 Marcador Microsatélite	51
5 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma hortaliça conhecida e cultivada há vários séculos no mundo todo, bastante apreciada e com popularidade ascendente no Brasil. Possui grande importância e contribui significativamente para a geração de empregos e para a economia brasileira, principalmente na região Nordeste, uma vez que esta tem a maior participação na produção e exportação da fruta. Em 2009 o nordeste brasileiro foi responsável por 95,8% da produção nacional de melão, destacando-se os estados do Rio Grande do Norte (46,6%), Ceará (35%), Bahia (10,5%) e Pernambuco (3,5%) (IBGE, 2009). Sendo o melão a olerícola de maior destaque no Rio Grande do Norte (SILVA, 1999). As principais áreas produtoras nesses estados localizam-se na região semi-árida e se concentram nos Agropólos Mossoró/Assu (RN) e Baixo Jaguaribe (CE) (IBGE, 2009).

Dentro do gênero *Curcubita*, *C. melo* é a espécie mais polimórfica, com variações nos caracteres da planta, folhas, flores e frutos, sendo tal polimorfismo maior em relação às características de seus frutos, por apresentar diferentes cores de polpa, cor de casca, aroma, formas e tamanhos (STAUB et al., 2002). Toda a variabilidade existente no meloeiro tem sido conservada, preservada e utilizada em programas de melhoramento genético em vários países da Europa, Estados Unidos e Israel.

O meloeiro apresenta excelente adaptação às condições edafoclimáticas predominantes na região Nordeste do Brasil, onde as condições de solo e clima garantem o crescimento e desenvolvimento adequado das plantas. Essa região dispõe de várias espécies de cucurbitáceas introduzidas há muitos anos por escravos e imigrantes. Essas espécies são cultivadas até hoje na agricultura de sequeiro e subsistência em pequenos estabelecimentos agrícolas, tendo originado diversas cultivares tradicionais ou cultivares crioulas ou também denominada de *landraces* (QUEROL, 1993). Além do Nordeste, no Rio Grande do Sul, que foi um local de introdução da cultura no país, também existem variedades tradicionais resultantes de inúmeros ciclos de seleção realizados durante gerações por

agricultores familiares (DELWING et al., 2007). Para evitar a perda desse rico banco de alelos é necessária a coleta do material e sua caracterização.

A caracterização é uma atividade primordial para geração de conhecimentos sobre os germoplasmas conservados em bancos ou coleções, por permitir um melhor manejo dos acessos e fornecer subsídios para a conservação e preservação, bem como para a utilização em programas de melhoramento. Nas últimas décadas, o esforço inicial voltado para os recursos genéticos era quase que exclusivamente dedicado à coleta de acessos em diversas espécies vegetais, porém já começa a se deslocar para as fases de conhecimento do material coletado, como a caracterização, pois já se dispõe de um número expressivo de espécies no mundo. No entanto, a modesta utilização do germoplasma conservado está associada a vários fatores, sendo um deles a falta de informações sobre os acessos (PEETERS; WILLIAMS, 1984; ROMÃO et al., 1999).

No Brasil a conservação de germoplasma de melão é realizada pela Embrapa e por algumas universidades públicas. Nos bancos de germoplasma existe variabilidade genética que consiste em importante fonte de alelos. Assim sendo, é importante o conhecimento da variabilidade e como ela se distribui. Uma das ferramentas para se obter este conhecimento são a caracterização morfológica e a caracterização molecular.

Uma grande vantagem da caracterização morfológica é permitir a identificação de caracteres de importância agrônômica, como também de possíveis duplicatas, e fornecer dados que facilitem a organização dos acessos em bancos de germoplasma, para estudos posteriores. Isso permitirá o estabelecimento de coleções nucleares, a identificação dos métodos de reprodução dos acessos, bem como da variabilidade intrínseca específica de cada acesso.

O conhecimento da variabilidade genética de espécies vegetais e como ela se distribui, proporciona o uso racional e sustentável dos recursos genéticos selvagens ou domesticados. As técnicas que utilizam marcadores moleculares estão disponíveis e constituem uma das ferramentas mais interessantes para se caracterizar acessos. Dentre as classes de marcadores, o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tem se destacado por ser prático, rápido, de baixo

custo e por identificarem alto número de locos polimórficos nos segmentos de DNA por reação e o Microssatelite ou SSR (Simple Sequence Repeat) por ser prático, utilizar primers específicos, ser mutialélico, codominante e alta reprodutibilidade. A caracterização molecular de acessos de germoplasma de meloeiro de várias partes do mundo tem sido tema de muitos artigos publicados na literatura internacional (MLIKI et al., 2001; LOPEZ-SESÉ et al., 2002; CHIBA et al., 2003; STAUB et al., 2004; NAKATA et al., 2005; SENSOY et al., 2007; ESCRIBANO et al., 2008; LUAN et al., 2008; KOHPAYEGANI; BEHBAHANI, 2008; SESTILI et al., 2008). No Brasil ainda há carência de informações moleculares e morfológicas nos acessos coletados em pequenas propriedades, sendo necessários esforços para se obter o referido conhecimento.

Diante dessas considerações, o objetivo do presente trabalho foi estudar a variabilidade genética de acessos de meloeiro coletados na Região Nordeste do Brasil por características morfológicas e marcadores moleculares RAPD (DNA polimórfico amplificado ao acaso) e microssatélites.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ORIGEM E DIVERSIDADE DO MELOEIRO

Acredita-se que o meloeiro tenha se originado na África Tropical, difundindo-se dessa região para a Índia e Ásia (SEYMOUR; McGLASSON, 1993). Apesar de não ser considerada como centro primário de origem, a Índia possui a maior variabilidade genética para os melões cultivados (ALVAREZ, 1997). Atualmente, são encontrados cultivares de melão em diversas regiões do mundo, desde os países mediterrâneos, centro e leste da Ásia, sul e centro da América, até o centro e no sul da África. Esta amplitude de regiões de cultivo é consequência de uma grande variabilidade genética presente no germoplasma do meloeiro, que tem permitido a adaptação de diferentes tipos de melão a diversas condições edafoclimáticas. Em consequência, podem ser encontrados em todos os mercados do mundo frutos com diferentes cores, formatos e aromas (DEULOFEU, 1997).

No Brasil, a introdução foi feita pelos imigrantes europeus, e o Estado do Rio Grande do Sul foi, possivelmente, o seu primeiro centro de cultivo no país. A partir de 1970, a cultura expandiu-se e surgiram importantes pólos de produção nos estados de São Paulo, Bahia, Pernambuco e no Pará, que, devido às adversidades climáticas, foi posteriormente desativada e começou a ser transferida para a região Nordeste do Brasil, o Rio Grande do Norte, a produção de melão teve início em 1980, surgindo um novo pólo de produção, denominado de Agropólo Mossoró-Assu (NUNES et al., 2004).

A espécie *Cucumis melo* L. é diplóide ($2n = 2x = 24$ cromossomos) e compreende duas subespécies de acordo com a pilosidade do ovário: *C. melo* ssp *melo*, com ovário piloso, e *C. melo* ssp *agrestis*, com ovário ceroso (JEFREY, 1980). O meloeiro está distribuído em todo o mundo, e é a espécie que possui a maior variabilidade fenotípica no gênero, observada principalmente nos seus frutos. O meloeiro tem frutos com formas que variam de esféricas a extremamente alongadas, peso de poucos gramas a vários quilogramas, sabor da polpa de amargo

a doce além de diferentes colorações na polpa e na casca (STEPANSKY et al., 1999).

A grande variação fenotípica observada no meloeiro levou os botânicos a proporem uma classificação intra-específica. O trabalho pioneiro de Naudin (1859) serviu de base para todas as outras classificações subsequentes (HAMMER et al., 1986). A classificação sugerida por ROBINSON; DECKER-WALTERS (1997) é a mais utilizada na literatura atual e divide a espécie *Cucumis melo* em seis variedades ou grupos botânicos: *cantaloupensis*, *inodorus*, *conomon*, *dudaim*, *flexuosus* e *momordica*.

Dentro dos grupos estão os tipos de melão, sendo segundo Aragão (2010) os mais comercializados no Brasil: Amarelo, Pele de Sapo, Honey Dew, Cantaloupe, Gália e Charentais (Figura 1).

- Melão Amarelo: introduzido da Espanha e por isso também conhecido como Melão Amarelo Espanhol. É inodoro e tem casca amarela e polpa branco-creme.
- Melão Pele de sapo: também são inodoros, de casca e polpa verdes. Os melões Pele de Sapo, como o ‘Meloso’, ‘Doncel’ e ‘Sancho’ têm casca verde-claro com manchas verde-escuro, denominado escriturada. O fruto é de tamanho grande, com polpa verde e consistência firme. Recentemente, foram lançados híbridos com frutos arredondados e de menor peso, cerca de 1 kg.
- Melão Honey dew: apresenta frutos firmes, de tamanho médio a grande com formato esférico, de casca lisa com a cor variando entre o branco e o amarelo, podendo sua polpa ser de cor verde, salmão ou branca.
- Melão Cantaloupe: são melões aromáticos de origem americana, sendo os mais produzidos no mundo. Têm frutos esféricos, polpa salmão e são bastante aromáticos.
- Melão Gália: inclui melões aromáticos, reticulados, de origem israelense. Os frutos caracterizam-se pela forma arredondada, casca verde no início e amarela quando o fruto está maduro. Têm pouca reticulação e peso médio entre 0,7 e 1,3 kg. A polpa é branco-esverdeada.
- Melão Charentais: são melões aromáticos de origem francesa. São encontrados os tipos de casca lisa, forma arredondada e, às vezes, achatada, com suturas ou

costelas e casca verde-claro ou ligeiramente cinza. Existem os tipos de casca verde-escuro e polpa salmão e um terceiro tipo de casca bastante reticulada com costelas verde escura, formato redondo ou semi-ovalado, polpa salmão e muito aromáticos.



Figura 1 – Tipos de melões comercializados no Brasil. Mossoró-RN, UFERSA, 2010. Fonte: Google imagens.

2.2 IMPORTÂNCIA DA CULTURA

O Nordeste brasileiro é responsável por 95,8% da produção nacional de melão, destacando-se os estados do Rio Grande do Norte (46,6%), Ceará (35%), Bahia (10,5%) e Pernambuco (3,5%) (IBGE, 2009). Sendo o melão a olerícola de maior destaque no Rio Grande do Norte (SILVA, 1999).

Segundo o IBRAF (2010) e o site do Brazilian Fruit (2010) o Rio Grande do Norte fechou os primeiros sete meses do ano de 2010 com US\$ 154,82 milhões (R\$ 272 milhões) exportados para outros países e com perspectivas de faturar ainda mais alto a partir do mês de outubro, quando começará a embarcar a safra do melão. A fruta deverá puxar a cifra para cima e ajudar o estado a encerrar o ano com um crescimento entre 8% e 15% no valor total negociado com o mercado externo, segundo projeções de especialistas. De janeiro a julho, a soma negociada

pelos exportadores potiguares significou um crescimento de 9,38%, na comparação com o mesmo período de 2009.

A cultura do melão é uma atividade de grande importância para a Região do Semi-Árido nordestino, onde solo e clima (intensidade e duração de luminosidade, temperatura alta e precipitação pluviométrica baixa), garantem o crescimento e desenvolvimento adequado das plantas, proporcionando elevadas produções e alta qualidade do fruto, apresentando teor de açúcar elevado, além de sabor agradável, mais aroma e maior resistência, característica importante para a comercialização, principalmente para exportação e a conservação pós-colheita (FILGUEIRAS et al., 2000). Além disso, a presença de médias e grandes empresas que adotam modernas tecnologias tais como, equipamentos importados para irrigação, fertirrigação, processamento de embalagem e classificação de frutos, tem garantido a alta produtividade e competitividade, junto aos mercados interno e externo (DIAS et al., 1998). Por outro lado, o cultivo do melão não proporciona apenas benefícios econômicos, mas também benefícios sociais, pois garante cerca de 50 mil empregos diretos e indiretos (DIAS et al., 1998).

2.3 BANCO DE GERMOPLASMA

Germoplasma é definido como o material genético que constitui a base física da herança que se transmite de uma geração para a outra por meio de células reprodutivas (IBPGR, 1991; WALTER et al., 2005), e segundo Valois et al. (1996), este é a base física do acervo genético, que reúne o conjunto de materiais hereditários de uma espécie.

A utilização de cultivares modernas, uniformes e de elevada produtividade, tem aumentado a erosão genética em muitas culturas, pela diminuição ou perda da variabilidade genética de espécies cultivadas ou seus parentes silvestres, bem como variedades locais, gerando estreitamento da base genética. Essa situação é preocupante para os melhoristas, que muitas vezes recorrem a cultivares tradicionais ou parentes silvestres para promover o melhoramento genético de determinada cultura (TORRES FILHO, 2008).

As atividades inerentes a um banco de germoplasma são coleta, caracterização, avaliação, documentação e conservação. A coleta dos recursos genéticos pode ser realizada em lavouras familiares, hortas e pomares caseiros, mercados, feiras e habitat silvestres. No caso das cucurbitáceas, as principais coletas têm sido feitas em propriedades de pequenos agricultores e feiras. Mais especificamente em meloeiro, as coletas são feitas junto aos agricultores (QUEROL, 1993).

A caracterização de germoplasma pode ser realizada por diferentes métodos, incluindo desde práticas tradicionais, que envolvem o uso de lista de descritores morfológicos e agronômicos, a aplicações bioquímicas para detectar diferenças entre isoenzimas, proteínas e marcadores moleculares (VICENTE et al., 2005).

Para Dias (1994), a caracterização por meio de marcadores moleculares, combinada à obtida por descritores morfológicos e agronômicos, parece mais apropriada para estudo de diversidade em bancos e coleções de germoplasma. Mesmo assim, em alguns casos, podem ocorrer discrepâncias, sugerindo que padrões evolutivos morfológicos e moleculares são distintos.

A caracterização morfológica tem sido efetuada em coleções de germoplasma para gerar informações sobre a descrição e a classificação do material conservado. Na maioria das coleções, a obtenção de dados morfológicos e agronômicos é simultânea. Em plantas perenes, os caracteres podem ser obtidos em diferentes estádios (germinação, juvenil e adulto), grupos (vegetativo, reprodutivo, produtivo) e modos, ou seja, por observações, registradas em escalas de notas (qualitativas), e/ou por mensurações (quantitativas). O uso de descritores em várias etapas é feito com o objetivo de identificar caracteres que possam ser úteis na seleção precoce, sendo comum a observação e/ou mensuração de vários caracteres em um mesmo genótipo (CURY, 1993).

As inúmeras informações obtidas são manipuladas, na sua maioria, por análise univariada, o que gera dificuldades na seleção de indivíduos desejáveis e na determinação da diversidade, como também em medidas que visem à redução de custos e à otimização de coleções (PEREIRA, 1989).

As fases de caracterização e avaliação, quando bem conduzidas, além de proporcionar melhor conhecimento do germoplasma disponível, essencial para seu uso mais intenso em etapas subsequentes, apresentam três vantagens adicionais: permitem a detecção de acessos duplicados, simplificando os trabalhos subsequentes, já no banco de germoplasma; proporciona o estabelecimento de coleções nucleares que, por definição, abrangem com o mínimo de redundância a diversidade genética reunida em uma espécie cultivada e nas espécies silvestres a ela relacionadas; e possibilita a identificação dos modos de reprodução predominantes nos acessos, bem como da ocorrência ou não de variabilidade intrínseca em acessos individuais (VALLS, 2007).

A caracterização de acessos/cultivares de melão é realizada a partir dos descritores morfo-agronômicos mencionados pelo IPGRI - Internacional Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 2003). A literatura apresenta trabalhos com a utilização de descritores morfológicos para melão como Neitzke et al., 2009 com acessos de melão do Rio Grande do Sul; Torres Filho, 2008 e Aragão, 2010 com acessos de melão do Nordeste Brasileiro; Szabó et al., 2008 com acessos de melão da Hungria.

Em coleções de germoplasma, a caracterização molecular tem sido realizada com vários objetivos, dentre eles têm-se a quantificação da diversidade e a determinação da estruturação genética. A interpretação da diversidade é feita por meio de uma medida de dissimilaridade, quase sempre visualizada por métodos de agrupamento. Já os níveis de variação genética podem ser obtidos por vários procedimentos, como pela análise de variância molecular. Marcadores moleculares permitem acessar o genótipo e a variabilidade do DNA nas plantas, por identificar o polimorfismo e associar a genes de efeito maior (MILACH, 1998).

Várias técnicas de marcadores moleculares têm sido empregadas na caracterização da diversidade e na estruturação genética de germoplasma vegetal, especialmente as que detectam polimorfismo no DNA, utilizando amplificação via PCR, como o RAPD e SSR. Esta caracterização tem se mostrado útil, em virtude da diversidade molecular ser bem maior que a morfológica. Existem muitos trabalhos com marcadores moleculares realizados com o meloeiro, com o marcador

SSR: Daning-Poleg et al., 2001; Lopéz-sesé et al., 2002; Chiba et al., 2003; Monforte et al., 2003; Ritschel et al., 2004; Escribano et al., 2008; Szabó et al., 2008; Oumouloud et al., 2009; Aragão, 2010. E com o marcador RAPD: Mliki et al., 2001; Buso et al., 2002; Staub et al., 2004; Sensoy et al., 2007; Luan et al., 2008. E em outros trabalhos utilizando as duas técnicas: Staub et al., 2000; Nakata et al., 2005.

Microsatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) são marcadores relativamente novos, baseados em sequências curtas, envolvendo 1 a 6 pares de bases, repetidas lado a lado no genoma (MILACH, 1998). Essas sequências estão presentes em todos os genomas, de procariotos e eucariotos já analisados, tanto em regiões codificadoras quanto em não codificadoras.

Os marcadores SSR possuem as seguintes características: são abundantes e estão uniformemente distribuídos por todo o genoma, apresenta polimorfismo do tipo codominância, são altamente multialélicos, possuindo o maior conteúdo informativo por loco entre todas as classes de marcadores moleculares, são automatizáveis em sistemas multiplex, permitindo avaliar rapidamente um grande número de indivíduos para um grande número de locos, necessitam de pequenas quantidades de DNA e podem ser transferíveis entre espécies de um mesmo gênero e compartilhados entre diferentes laboratórios (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Esses marcadores vêm sendo empregados com sucesso na discriminação de acessos conservados em bancos de germoplasma, no mapeamento genético, em genética de populações e na caracterização da diversidade e diferenciação genética (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; MILACH, 1998).

Os principais limites de seu emprego em larga escala estão no custo elevado e nas tecnologias necessárias para a obtenção dos *primers* específicos que flanqueiam e amplificam regiões altamente repetitivas do DNA.

Por outro lado, os marcadores microsatélites por serem altamente polimórficos, codominantes e serem facilmente reproduzíveis e de fácil interpretação (CRESTE et al., 2003), com possibilidade de automação e análise, além de não necessitar de hibridização e não utilizar de meios radioativos vem se

destacando pelo seu uso na caracterização varietal para fins de proteção e de conservação de germoplasma.

Variações nos SSR's apresentam elevado poder discriminatório, onde poucos locos garantem a diferenciação dos genótipos, o que é importante quando se considera genótipos muito próximos ou essencialmente derivados (GUIMARÃES et al., 2004).

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) ou DNA polimórfico amplificado ao acaso, nesta técnica o segmento de DNA utiliza um primer que irá se anelar arbitrariamente à sequência complementar no DNA. Neste tipo de PCR, os primers, frequentemente com 10 bases, que podem apresentar homologia total ou parcial com uma ou mais regiões do genoma (MILACH, 1998). Tais iniciadores permitem a amplificação de fragmentos de DNA não identificados *a priori*.

Os marcadores RAPD, embora tenham baixa repetibilidade, apresentar natureza dominante, que pode ser uma limitação, pode ser compensada pelo grande polimorfismo gerado por um único marcador, apresenta vantagens por ser uma técnica rápida, relativamente de fácil execução, necessita de pequenas quantidades de DNA, baixo custo, pouco espaço de tempo para a obtenção dos resultados e não depende de equipamentos sofisticados, é facilmente visualizado em gel de agarose, além de não necessitar do conhecimento prévio de sequência do DNA alvo (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Dois tipos de polimorfismo são detectados com o RAPD: 1) não ocorre pareamento na região de homologia do *primer* com o do genoma ou o pareamento é muito dificultado, não havendo amplificação desta região e, conseqüentemente, não há formação de bandas; 2) ocorre alteração do comprimento da região amplificada (por duplicação, inserção ou eliminação de nucleotídeos), resultando no aparecimento de bandas (MILACH, 1998). Por este motivo, é considerado um marcador dominante, não fazendo distinção das regiões do genoma amplificadas, simultaneamente, ou seja, de bandas de um mesmo loco com diferentes alelos e das provenientes de diferentes locos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL

Os experimentos foram conduzidos na Horta experimental e Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, no período de 08 de Junho a 08 de Setembro de 2010. As análises moleculares com marcador RAPD foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, em todo o ano de 2010, enquanto as análises moleculares com marcador microssatélite foram realizadas na EMBRAPA Algodão, Campina Grande-PB, no mês de novembro de 2010.

O município de Mossoró está situado na latitude Sul 5° 11', longitude 37° 20' a oeste de Greenwich e com altitude de 18 m. O clima, segundo a classificação de Koppen é 'BSWh' (muito seco, com estação de chuva no verão atrasando-se para o outono) (CARMO FILHO; OLIVEIRA, 1989).

O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Vermelho Amarelo (EMBRAPA, 1999) com relevo plano. Foram retiradas amostras de solo da área experimental, cuja análise química, processada no Laboratório de Análises de solo, água e planta da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte S/A – EMPARN.

Os dados de precipitação pluviométrica estão apresentados na Figura 2.

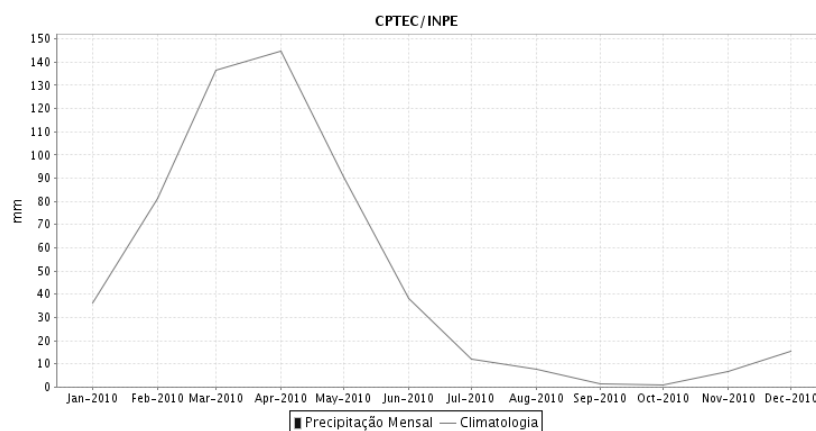


Figura 2 – Precipitação pluvial do ano de 2010, sendo os meses de Jun. a Set. os meses de avaliação dos acessos. Mossoró-RN, UFERSA, 2010. Fonte: CPTEC/INPE.

3.2 GERMOPLASMA AVALIADO

Foram avaliados 43 acessos, coletados no Nordeste do Brasil (Tabela 1, Figura 3), presente no Banco de Ativo de Germoplasma da UFERSA, Mossoró-RN. São eles: A-01, A-02, A-03, A-04, A-05, A-06, A-07, A-08, A-09, A-11, A-12, A-13, A-14, A-15, A-16, A-17, A-18, A-19, A-22, A-23, A-24, A-25, A-26, A-27, A-28, A-29, A-30, A-31, A-32, A-33, A-34, A-35, A-36, A-37, A-39, A-41, A-42, A-43, A-44, A-45, e os híbridos Natal da empresa Syngenta-Rogers e Amaral, Mandacaru da empresa Rijk Zwaan.

Tabela 1 – Local de coleta dos acessos de melão do Banco de Germoplasma da UFERSA utilizados no presente trabalho. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.

Acesso	Local de coleta	Acesso	Local de coleta
A-1	Mossoró – RN	A-24	Arapiraca – AL
A-2	Mossoró – RN	A-25	Cururipe – AL
A-3	Baraúna – RN	A-26	Lagarto – SE
A-4	Baraúna – RN	A-27	São Luis – MA
A-5	Baraúna – RN	A-28	São João dos Patos – MA
A-6	Assú – RN	A-29	Paraibano – MA
A-7	Quixeré – CE	A-30	São José do Mipibu – RN
A-8	Aracati – CE	A-31	Areia – PB
A-9	Quixeré – CE	A-32	Itabuna – BA
A-11	Petrolina – PE	A-33	São Luis – MA
A-12	Petrolina – PE	A-34	Juazeiro – BA
A-13	Patos – PB	A-35	Muribeca – SE
A-14	Sousa – PB	A-36	Jaboatão – PE
A-15	Arapiraca – AL	A-37	Areia Branca – RN
A-16	Juazeiro – BA	A-39	Irecê – BA
A-17	Barra do Mendes – BA	A-41	Paulistana – PI
A-18	Picos – PI	A-42	Brumado – BA
A-19	Parnaíba – PI	A-43	Itapecurú - MA
A-22	São Luis – MA	A-44	Serra Talhada – PE
A-23	Ipanguassu – RN	A-45	Messejana - CE

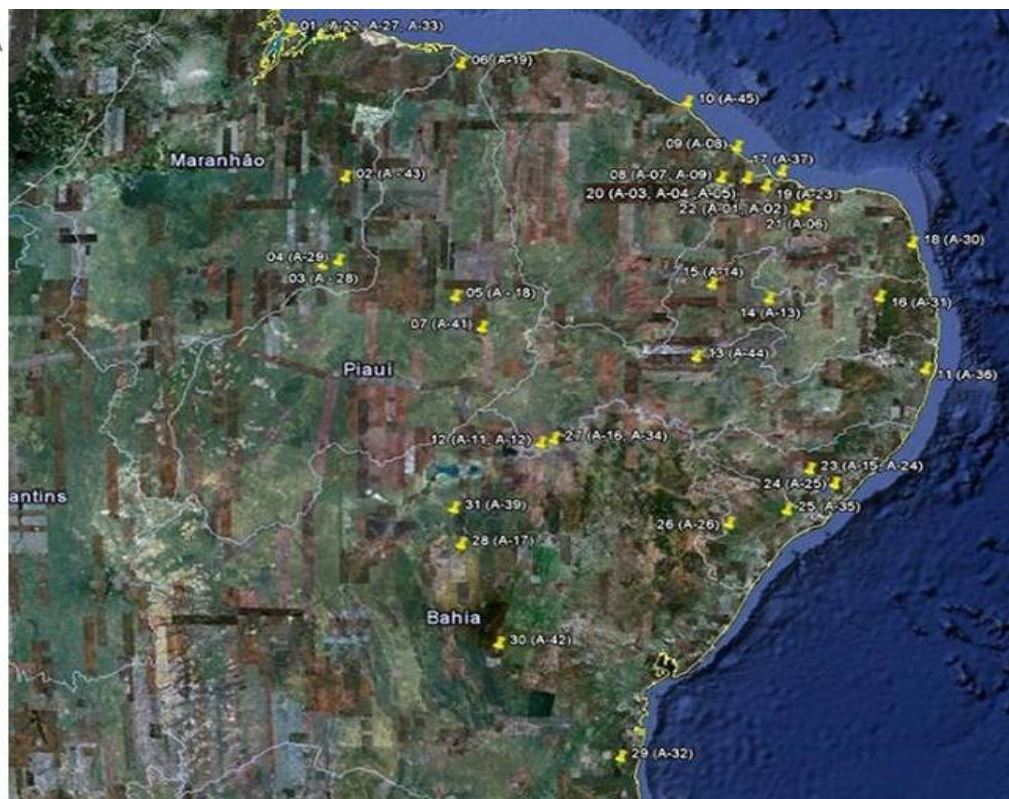


Figura 3: Distribuição espacial dos acessos de melão do banco de germoplasma da UFERSA, coletados no Nordeste brasileiro. Pontos amarelos em destaque no mapa, 01: São Luis - MA, 02: Itapeturu - MA, 03: São João dos Patos - MA, 04: Paraibano - MA, 05: Picos - PI, 06: Parnaíba - PI, 07: Paulistana - PI, 08: Quixeré - CE, 09: Aracati - CE, 10: Messejana - CE, 11: Jaboatão - PE, 12: Petrolina - PE, 13: Serra Talhada - PE, 14: Patos - PB, 15: Souza - PB, 16: Areia - PB, 17: Areia Branca - RN, 18: São João de Mipibu - RN, 19: Ipanguassu - RN, 20: Baraúna - RN, 21: Assú - RN, 22: Mossoró - RN, 23: Arapiraca - AL, 24: Cururipe - AL, 25: Muribeca - SE, 26: Lagarto - SE, 27: Juazeiro - BA, 28: Barra do Mendes - BA, 29: Itabuna - BA, 30: Brumado - BA, 31: Irecê - BA. Mossoró-RN, UFERSA, 2010. Fonte: Google Earth.

3.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO NO CAMPO

O preparo do solo constou de uma aração e uma gradagem, seguida de sulcamento em linhas, espaçadas de 2,0 m com profundidade de aproximadamente 20 cm, onde foi realizado a adubação de fundação, utilizando-se 4,0 t ha⁻¹ de

polifértil e 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Os adubos foram aplicados nos sulcos de plantio e incorporados com enxada rotativa. As adubações de cobertura foram realizadas via fertirrigação, com início sete dias após o transplantio. Foram utilizadas as seguintes fontes: Uréia e ácido nítrico: 126,7 kg ha⁻¹; cloreto de potássio: 252,2 kg ha⁻¹ e ácido fosfórico: 66,1 kg ha⁻¹. A partir da segunda semana foram feitas adubações foliares, semanalmente, junto com os defensivos, empregando, 40 mL por 20,0 L de solução dos produtos contendo: 0,6 g L⁻¹ de Mg; 0,8 g L⁻¹ de Ca; 0,05 g L⁻¹ de B; 0,3 g L⁻¹ de Zn; 0,2 g L⁻¹ de Mn e 0,01 g L⁻¹ de Mo.

As sementes dos acessos/cultivares foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido com 128 células compostas do substrato comercial Plantmax®, sendo o transplantio realizado quando as mudas estavam com um par de folhas definitivas.

Foi aplicado semanalmente o inseticida Abamectin para controlar a mosca-minadora (*Liriomyza trifolii* L.). Foram realizadas duas capinas manuais aos cinco e vinte dias após o transplantio. As demais práticas culturais e manejo obedeceram às necessidades da cultura no estado (NUNES et al., 2004).

3.3.1 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em blocos casualizados com 43 tratamentos (acessos e cultivares) e duas repetições. A unidade experimental foi composta por uma linha de cinco plantas. O espaçamento da cultura foi de 2,0 m entre linhas por 0,3 m entre plantas, com uma densidade populacional de aproximadamente 16.667 plantas/ha. A unidade amostral foi constituída pela planta individual.

3.4 CARACTERIZAÇÕES MORFOLÓGICAS DOS ACESSOS

Os acessos e cultivares foram caracterizados a partir dos seguintes descritores morfo-agronômicos do IPGRI - International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 2003). Uma amostra de oito frutos por repetição de cada acesso foi utilizada para as análises morfológicas.

3.4.1 Descritores da semente

- Peso de 100 sementes: obtido pela pesagem de 100 sementes em balança de precisão. As sementes foram retiradas dos frutos e colocadas para secar em papel jornal sob condições ambiente por 15 dias. Foi feita uma mistura (*bulk*) das sementes dos frutos selecionados ao acaso.

3.4.2 Descritores da flor

- Número de dias para o florescimento: foi contado o número de dias para o aparecimento da primeira flor masculina e da primeira flor feminina;

3.4.3 Descritores do fruto

- Número de dias para a frutificação: foi contado o número de dias para o aparecimento do primeiro fruto;
- Cor principal da casca: verificada pela observação visual de cada fruto;
- Cor principal do mesocarpo: verificada pela observação visual de cada fruto
- Número de frutos por planta: obtido pela razão entre todos os frutos colhidos da parcela e o número de plantas da parcela (estande final);
- Massa média do fruto: obtida pela razão entre a massa total dos frutos colhidos e pelo número de frutos. Os frutos foram pesados em balança eletrônica com capacidade de 25,0 kg e precisão de 0,01 g. O resultado foi expresso em kg.fruto^{-1} .
- Produtividade: obtida pela pesagem de todos os frutos colhidos da parcela. Os frutos foram pesados em balança eletrônica com capacidade de 25,0 kg. e precisão de 0,01g, e o resultado expresso em t.ha^{-1} ;
- Diâmetro longitudinal: obtido pela mensuração com régua graduada em milímetros. Os frutos foram seccionados longitudinalmente e a mensuração realizada em uma banda de cada fruto, medindo-se o seu maior comprimento desde a inserção do pedúnculo até a extremidade oposta, expresso em cm;

- Diâmetro transversal: obtido pela mensuração com régua graduada em milímetros. Os frutos foram seccionados longitudinalmente e foi realizada a mensuração do diâmetro de uma banda de cada fruto, expresso em cm;
- Índice de formato: obtido pela razão entre o diâmetro longitudinal transversal médio;
- Espessura da polpa: obtida por mensuração com régua graduada em milímetros. Os frutos foram seccionados longitudinalmente e as mensurações realizadas em cada lado de uma das bandas de cada fruto, medindo-se na parte mediana o comprimento do mesocarpo, excluindo-se a casca. Efetuar-se-á a média de duas mensurações, expressa em cm;
- Firmeza da polpa: o fruto foi seccionado longitudinalmente, e em cada banda foi medida a resistência através de um penetrômetro com ponteira de 8 mm de diâmetro, na região mediana comestível de cada parte do fruto (quatro leituras por fruto em regiões diferentes), equidistante em relação ao comprimento e à espessura do mesocarpo. Valor dado em libras e transformado em Newton, multiplicando-o por 4,4482.
- Sólidos solúveis: determinado através de refratômetro digital modelo PR-100 Paletti, com compensação automática de temperatura, obtido pela retirada de uma fatia de cada um dos frutos, cortada longitudinalmente e maceradas até a liberação do suco. Realizar-se-á duas leituras, calculando-se o valor médio do fruto, expresso em percentagem de °Brix.
- pH: determinado através de pHmetro, obtido com a aferição da leitura do pH das amostras processadas.
- Acidez total titulável: obtidos pela titulação com NaOH sobre a diluição de 5 mL de suco do fruto em 45 mL de água destilada, usando como indicador fenolftaleína, isso para amostras não coloridas. Para amostras coloridas, colocar os eletrodos do medidor de pH na amostra e acrescentar NaOH até alcançar o pH de 8,1. Foi realizada transformação da acidez titulável segundo Tressler; Joslyn (1961), utilizando-se do fator de correção que proporciona valores em gramas de ácido cítrico/100mL de solução.

- Vitamina C: determinado através de titulação, com a solução de Tillman (DFI - 2,6 dicloro-fenol indofenol) refrigerada, até o ponto de viragem e os resultados expressos em mg/100 mL de suco, segundo Artés et al.(1993).

3.4.4 Análises estatísticas

Foram realizadas análises de variância multivariada e aplicação do critério de Wilks a 5% de probabilidade.

A partir da matriz com as médias de cada característica para cada acesso e a matriz de variância-covariância residual, foram calculadas as distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2_{ij}), conforme descrição de Cruz et al. (2004).

A análise de agrupamento foi realizada com a matriz de distâncias de Mahalanobis utilizando o método de agrupamento baseado na ligação média (UPGMA). O ajuste entre a matriz de distâncias e o dendograma foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (r) (SOKAL; ROHLF, 1962).

Foi utilizado o critério de Singh, descrito por Cruz et al. (2004) para identificar a contribuição relativa de cada caráter para a divergência genética.

As análises foram processadas no programa GENES (CRUZ, 2006). O dendograma foi gerado com o auxílio do programa STATISTICA (STATISTICA, 2002).

3.5 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

3.5.1 Extração do DNA

O DNA de cada um dos genótipos foi extraído a partir do protocolo desenvolvido por Doyle; Doyle (1990), com modificações. As folhas foram maceradas em nitrogênio líquido e transferidas para microtubos estéreis de 2 mL. O tampão de extração foi preparado contendo 100 µL de Tris-HCl (100 µM), 280 µL de NaCl (1,4M), 400 µL de EDTA (20mM), 300 mL de CTAB (2,0%), 0,01 g de PVP40 (1,0%), 278 µL água Miliq e 2 µL de β-mercaptoetanol (0,2%), e logo

após pipetou-se 700 μL desse tampão de extração, os quais foram colocados nos microtubos. Os microtubos foram vertidos e colocados em banho-maria à temperatura de 65 °C durante 40 minutos, sendo estes, agitados a cada 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 800 μL de álcoolisoamílico (24:1) nos microtubos, os quais foram vertidos e centrifugados à 14.000 x g , durante 7 minutos e, em seguida, transferiu-se a fase superior (aquosa) para novo microtubo, sendo esta etapa, repetida mais uma vez. Logo após, adicionou-se à fase aquosa 400 μL de isopropanol gelado, homogeneizando a solução até a formação do *pellet*. As amostras foram colocadas em congelador por 2 horas e posteriormente centrifugadas à 14.000 x g durante 10 minutos. Para limpeza do *pellet*, adicionou-se 1 mL de etanol 70% no microtubo, sendo os mesmos centrifugados à 14.000 x g durante 5 minutos, descartando o sobrenadante. Em seguida adicionou-se 1 mL de etanol 90% aos microtubos, os quais foram centrifugados novamente à 14.000 x g durante 5 minutos. O sobrenadante foi descartado novamente, deixando apenas o *pellet* no microtubo. As amostras foram colocadas em estufa à 70 °C durante 20 minutos, e logo após, adicionou-se 50 μL de RNase nos microtubos, os quais foram incubados à 37 °C em banho-maria. A quantificação de DNA foi realizada em géis de agarose a 1% (p/v), comparando-se visualmente a intensidade das bandas do DNA dos genótipos extraído, com bandas de peso molecular conhecido de 1 kb. Após a quantificação, as amostras foram diluídas em água ultrapura e foram padronizadas em 10 ng μL^{-1} para serem utilizados nas reações de PCR.

3.5.2 Marcador RAPD

Dezoito primers decâmeros RAPD (Tabela 2) foram utilizados para amplificar o DNA de 43 acessos de melão. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 20 μL , contendo 10 mM (pH 8,3) de Tris-HCl, 50 mM de KCl, 2,5 mM de MgCl_2 , 200uM de cada dNTP, 5 μM de cada um dos 20 diferentes primers RAPD, 1 U de Taq DNA polimerase e, aproximadamente, 10 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador de acordo com o seguinte programa: 94°C por 5 min + 40 ciclos de 94°C por 30 seg, 35°C por 1 min, 72°C

por 1 min, extensão final de 72°C por 7 min e redução a 15°C. Os produtos de PCR foram separados em gel de agarose a 1,0%, corado com brometo de etídio e fotografados sob luz ultra-violeta.

Tabela 2 – Primers decâmeros RAPD utilizados para amplificar o DNA de acessos de meloeiro coletados no Nordeste brasileiro.

<i>Primers</i>	<i>Sequência</i>	<i>Primers</i>	<i>Sequência</i>
OPA-03	5' AGTCAGCCAC 3'	OPE-15	5' ACGCACAACC 3'
OPA-04	5' AATCGGGCTG 3'	OPF-16	5' GGAGTACTGG 3'
OPA-13	5' CAGCACCCAC 3'	OPO-02	5' ACGTAGCGTC 3'
OPB-14	5' TCCGCTCTGG 3'	OPO-03	5' CTGTTGCTAC 3'
OPC-05	5' GATGACCGCC 3'	OPO-04	5' AAGTCCGCTC 3'
OPC-13	5' AAGCCTCGTC 3'	OPO-06	5' CCACGGGAAG 3'
OPD-08	5' GTGTGCCCCA 3'	OPO-07	5' CAGCACTGAC 3'
OPE-14	5' TGCGGCTGAG 3'	OPO-10	5' TCAGAGCGCC 3'
OPF-02	5' GAGGATCCCT 3'	OPO-15	5' TGGCGTCCTT 3'

3.5.3 Marcador microsatélite (SSR)

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 10 µL, contendo 10 mM (pH 8,3) de Tris-HCl, 50 mM de KCl, 2,5 mM de MgCl₂, 0,25mM de cada dNTP, 250 nM de cada um dos 15 diferentes primers SSR (Tabela 3), 0,5 U de Taq DNA polimerase e, aproximadamente, 10 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador de acordo com o seguinte programa: 94°C por 2 min + 40 ciclos de 94°C por 30 seg, 54°C por 1 min, 72°C por 1 min, extensão final de 72°C por 4 min e redução a 15°C. As amostras foram diluídas em água ultrapura e foram padronizadas em 10 ng/ µL para serem utilizadas nas análises de microsatélites. Após a reação foram adicionados 10µL de solução contendo 0,05% de azul de bromofenol, 0,05% de xileno cianol, EDTA 10mM e formamida 95%. Os produtos de amplificação foram desnaturados a 95°C por 5 min no termociclador. Os fragmentos amplificados foram separados em eletroforese vertical em gel de poliacrilamida 6%, corados com nitrato de prata conforme Creste et al. (2003). O padrão de peso molecular de 50pb foi utilizado para identificar os pares de bases dos fragmentos amplificados.

Tabela 3. Características dos primers de microssatélite sintetizados para *Cucumis melo* (CHIBA et al., 2003). Mossoró-RN, UFERSA, 2010.

Primer	Sequência do primer (5' to 3')	Pares de base (pb) esperados
CMMS1-3 (Forward)	TTGAATGATTGGAGGGAAGATAACG	259
CMMS1-3 (Reverse)	CAAATATTGATGGATTTAATATATT	
CMMS2-3 (Forward)	ATCACCCACCCCACTGCCAAAA	213
CMMS2-3 (Reverse)	CCTTGAAAAACCAACATAACAC	
CMMS3-2 (Forward)	AGTTTTTGGGCATTTTGTGTTGGAT	420
CMMS3-2 (Reverse)	GGCTTATCTCCCAACCAATTCT	
CMMS4-3 (Forward)	ACCGAAATCATAAGGAACATAAGAG	292
CMMS4-3 (Reverse)	TATGAGCTGTGTTGTGTATGAAAAC	
CMMS12-6 (Forward)	AACATGATGTGTTTACCAACTTTTT	174
CMMS12-6 (Reverse)	GGTTAAGGGAAA GTGAAGAGATGGT	
CMMS15-4 (Forward)	GTCCGCCATCGCCACTACAAATCAA	116
CMMS15-4 (Reverse)	CTCCGTAAAACCTTCTTCCTCTCTC	
CMMS22-2 (Forward)	CGTTATACAAGATAGAGATAGAGAG	178
CMMS22-2 (Reverse)	TTCAACTAATCCCCAAGACAAACAA	
CMMS24-3 (Forward)	GAGGGAGAGAGTTTGTAAAAAAATG	136
CMMS24-3 (Reverse)	TCGCCAATTACATTACAACCTTTTC	
CMMS30-3 (Forward)	TTCCCACCAGCCCAACGGACACACT	271
CMMS30-3 (Reverse)	GAGATACAGAAACGACGACTAACCT	
CMMS33-1 (Forward)	TGTAATAGGATGACCAAGGGGAGTT	420
CMMS33-1 (Reverse)	TTCAGGAGCTACAACAAGATTTC	
CMMS33-2 (Forward)	GCTACTTTTTATGGCGGCAGTGACG	269
CMMS33-2 (Reverse)	ATTCGGATGATTATTCTTCGCAGTT	
CMMS34-8 (Forward)	TTTCTTACTTTTTGGTTTGGTTCTG	480
CMMS34-8 (Reverse)	GGCGCTGTGGTGAGTGTCTGGGAGAG	
CMMS34-10 (Forward)	GGGGTGTGAAGCTGAAGGCAAAGTC	351
CMMS34-10 (Reverse)	AAAGGAAGAAGAAGAAAAAGGAGAA	
CMMS35-4 (Forward)	ACGGATACATCGAGGAGACTTCATG	105
CMMS35-4 (Reverse)	GTCAGCTTCAACCCTTTACTTTTTTC	
CMMS35-5 (Forward)	AACGGGATTTTGGAGGCATATTCGG	174
CMMS35-5 (Reverse)	CTCCCCAGTGTATCAGCCAAATCTC	

3.5.4 Análise estatística

Os produtos das amplificações para RAPD foram computados como ausência do alelo (0) e presença do alelo (1). Os produtos das amplificações para SSR foram computados como ausência do alelo (0), presença de uma cópia do alelo (1) e presença de duas cópias do alelo (2). A dissimilaridade entre os

genótipos foi calculada pelo coeficiente de dissimilaridade de Jaccard (SOKAL; ROHLF, 1962). Para todas as análises foram aplicadas as correlações cofenéticas.

O cálculo da dissimilaridade foi realizado utilizando o programa GENES (CRUZ, 2006), que gerou as matrizes de distância genética entre todas as variedades. A partir das matrizes e com o auxílio do programa STATISTICA (STATISTICA, 2002) foram gerados agrupamentos pelo método da média aritmética não ponderada (UPGMA) na forma de dendogramas.

As correlações entre os marcadores morfológicos e moleculares (RAPD, SSR) foram feitas utilizando o teste de Mantel (1967). O teste de aleatorização de Mantel associa elementos de duas matrizes fazendo a correlação (correlação dos produtos dos momentos, r).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Em experimentação agrícola é fundamental que os tratamentos sejam avaliados com a maior precisão possível. Quanto maior a precisão experimental, maior é a probabilidade de se encontrar diferenças entre os tratamentos avaliados. O coeficiente de variação é o parâmetro mais utilizado como indicativo da qualidade de experimentos. No presente trabalho, as estimativas dos CV's estão dentro da faixa observada para a cultura em outros trabalhos de avaliação de cultivares (NUNES et al., 2004; NUNES et al., 2005). Considerando a classificação realizada por Lima et al. (2004) para a cultura do meloeiro, os valores podem ser considerados como altos para todas as características.

As análises de variância para os 17 caracteres morfoagronômicos avaliados nos 43 acessos de meloeiro encontram-se na Tabela 4. Verificou-se que o teste F revelou diferenças altamente significativas entre acessos para quase todas as características, exceção feita apenas para a espessura de polpa, acidez, vitamina C, peso total e florescimento feminino, sendo não significativas.

A significância da fonte de variação acessos indica heterogeneidade genética entre os materiais avaliados, como era esperado em razão das diferentes origens e tipos de frutos observados durante a colheita.

Tabela 4: Análise de variância dos 18 descritores avaliados em acessos de meloeiro. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.

Características	Bloco	Acesso	Erro	CV(%)
gl	(1)	(42)	(42)	
Peso médio do fruto (g)	11389,561	945336,96**	180207,42	30,32
Diâmetro longitudinal (cm)	11,685	63,11**	11,41	16,54
Diâmetro transversal (cm)	7,55	11,09**	4,60	18,32
Índice de formato (cm)	0,001	0,28**	0,89	16,96
Cavidade Interna (cm)	9,71	14,69**	1,63	11,92
Espessura Polpa (cm)	0,02	1,79 ^{ns}	0,91	31,96
Firmeza Polpa (N)	0,09	4,49**	1,56	27,85
Peso sementes (g)	0,50	2,08**	0,39	21,74
Sólidos solúveis(°Brix)	0,24	4,09**	0,75	17
pH	0,61	1,02**	0,43	12,09
Acidez (% ác. Cítrico)	0,99	1,59 ^{ns}	1,56	83,79
Vitamina C (mg/100g)	457,56	166,54 ^{ns}	268,60	32,30
Peso total (g)	80369,75	73224733,50 ^{ns}	39453936,38	42,99
Número Total de Frutos	68,94	67,72**	19,51	32,05
Produtividade	507394,57	669237,27**	136817,66	29,81
Florescimento masculino (dias)	6,70	11,17**	2,81	6,26
Florescimento feminino (dias)	0,74	8 ^{ns}	3,64	6,40
Frutificação (dias)	4,65	8,65**	2,72	4,87

g: grama, cm: centímetro, N: Newton, mg: miligrama

Dos 43 acessos, observou-se uma grande variação na cor da casca e na cor da polpa entre os acessos (Figura 4). A maioria dos acessos apresentou coloração de casca creme (37,2 %), seguida pelas cores amarela (23,35%), verde (16,28%), amarela esverdeada (11,63%). Apenas três acessos tinham cor de casca branca (6,98%) e dois verdes claro (4,65%). Com relação à cor da polpa, a maior parte dos acessos tem cor de polpa branca (65,11%), seguido da cor salmão (20,9%) e verde (11,6%). Apenas um acesso tinha cor de polpa esverdeada (2,32%).

De acordo com as tabelas de médias (Tabela 5), os acessos diferiram quanto ao número de frutos por planta, com uma amplitude de 13,77 frutos por planta. Os acessos A-16 e A-35, foram os mais prolíficos, com 28,5 e 24,5 frutos por planta; seguidos do acesso A-11 com 24 frutos por planta e o A-9 com 23 frutos por planta.

Houve grande variação quanto à massa média do fruto, com valores de 0,21 kg no acesso A-23 a 3,66 kg no acesso A-4 (Tabela 5). Conforme a lista dos descritores do meloeiro publicada pelo IPGRI, existem acessos de frutos pequenos

($\approx 0,4$ kg), pequenos a intermediários ($\approx 0,8$ kg), intermediários ($\approx 1,2$ kg), intermediários a grande ($\approx 1,6$ kg), grande ($\approx 2,0$ kg) e grande a muito grande ($\approx 2,6$ kg). Os acessos A-4, A-22, A-34 e A-45 destacaram-se com frutos superiores a 2,0 kg, enquanto os acessos A-9, A-11, A-12, A-16, A-23, A-26, A-31 e A-32 possuíram frutos com peso menores do que 1,0 kg.

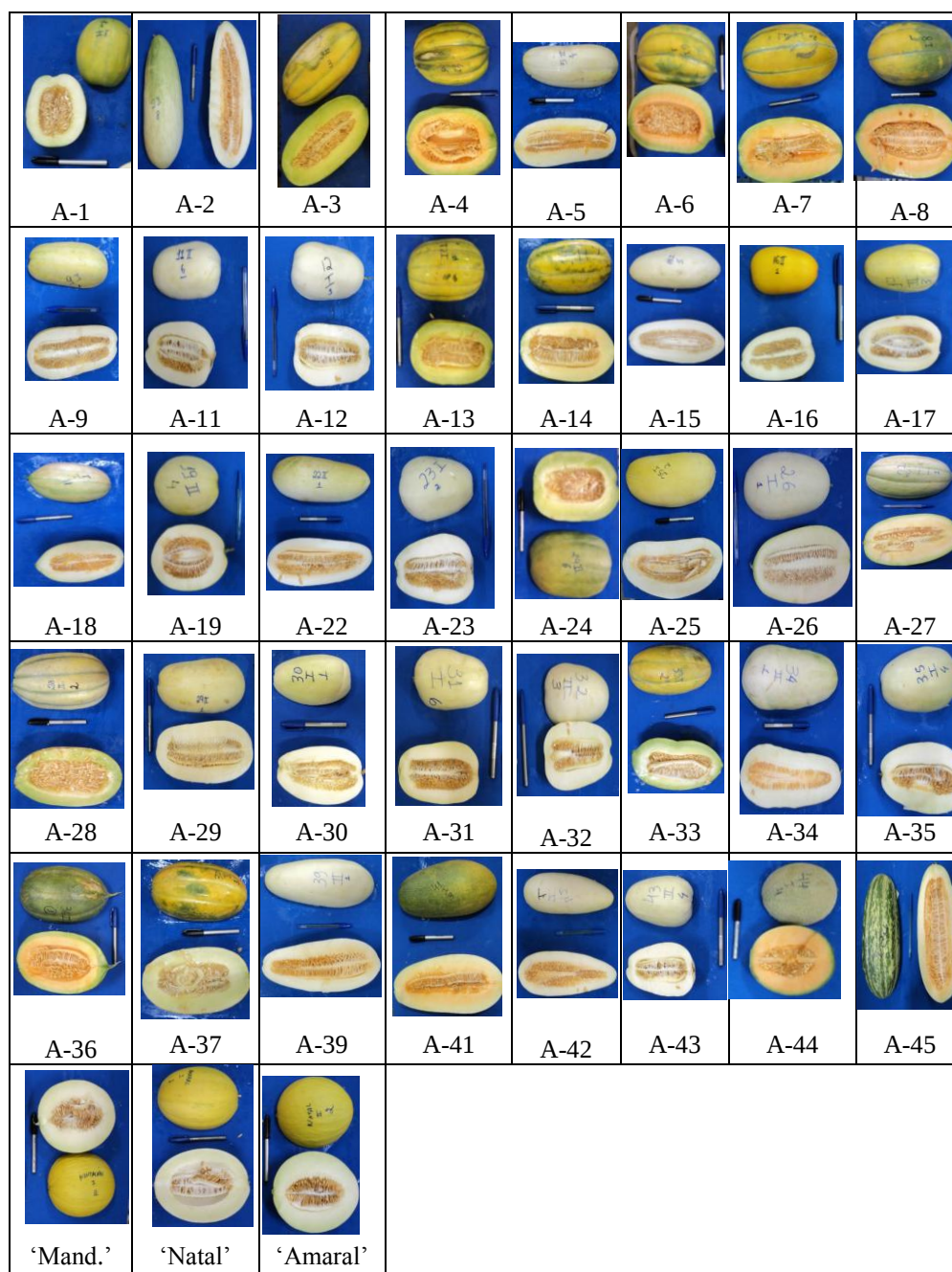


Figura 4 – Frutos dos acessos de melão estudados e dos três híbridos. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Os frutos variaram quanto ao índice de formato (Tabela 5), definido como a relação entre o comprimento longitudinal e o transversal, com valores entre 1,1cm no acesso A-44 e 2,55cm no acesso A-22, apresentando um coeficiente de variação de 16,96%. A variabilidade no formato do fruto pode ser observada na Figura 4. Segundo Paiva (2000), frutos com forma esférica têm índice de formato inferior ou igual a 1,0; com forma oval, têm índice de formato entre 1,01-1,50 e comprido têm valor superior a 1,5. Considerando essa classificação, os acessos possuem frutos com formato oval ou comprido. A variação no índice de formato reflete, em parte, a variabilidade encontrada nos diâmetros longitudinal e transversal.

Os acessos variaram quanto à espessura da polpa (Tabela 5), com valores entre 1,72 cm e 6,13 cm para os acessos e o híbrido Mandacaru apresentou 6,24 cm. O acesso com maior valor foi o A-39, com espessura inferior a apenas do híbrido Mandacaru. Os menores valores foram observados nos acessos A-9 e A-16. Quanto à firmeza da polpa, destacaram-se os acessos A-16 com 44,86N, A-19 com 32, 58N e os três híbridos, Amaral, Natal e Mandacaru, com 33,42N, 29,42N, 28,11N respectivamente. Os menores valores foram observados nos acessos A-11 e A-14 com 11, 3N e 10,3N.

Quanto aos sólidos solúveis (Tabela 5), as estimativas variaram de 3,19% °Brix no acesso A-2 a 8,05%°Brix no acesso A-43. Observou-se que os acessos possuíam valores muito baixos para essa característica, contrastando com valores das cultivares melhoradas (8,15 % °Brix para Mandacaru).

Com relação à produtividade (Tabela 5), os menos produtivos foram A-23, A-32, A-43 e mais produtivos foram os acessos foram os acessos A-3, A-4, A-45, apresentando valor superior aos híbridos.

Comparando-se os acessos com os três híbridos, em média, os acessos são mais produtivos e mais prolíficos, contudo possuem frutos mais alongados, com menor espessura de polpa, menor firmeza da polpa e menor teor de sólidos solúveis em relação às cultivares comerciais.

Tabela 5 : Caracterização de 43 acessos/cultivares de meloeiro a partir de 15 de descritores do fruto. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

ACESSO	P.M.F.	I.F.F	C.I.	E.P	F.P.	P.S.	S.S.	ph	Acidez	vit C	N.T.F	Produt.	Flor . M	Flor. F.	Fruto
A-1	884.31	1.44	8.99	4.87	21.75	2.5	4.52	5.46	0.49	49.17	16	19.93	27.5	30.5	33.5
A-2	1608.375	2.46	15.215	2.71	18.59	1.6	3.19	7.17	1.21	36.23	20	45.77	28	32.5	36.5
A-3	1964.855	1.60	11.495	3.41	18.19	3.2	4.71	5.91	0.55	41.92	7.5	22.50	23	29.5	34.5
A-4	3662.315	1.46	12.75	2.98	15.75	3.7	5.78	5.76	0.515	50.03	7	37.75	26.5	30	33
A-5	1277.875	2.26	12.095	2.87	25.35	2.8	4.16	4.55	1.325	63.14	10.5	21.76	27.5	32.5	36
A-6	1912.25	1.65	12.1	3.28	13.06	4.3	4.43	6.01	0.29	46.58	8.5	25.76	27.5	30	33.5
A-7	1808.945	1.66	11.76	3.68	14.30	3.9	4.17	5.93	1.16	66.25	9.5	25.63	24.5	29	31.5
A-8	1790.75	1.53	10.87	3.30	19.97	3.9	3.80	5.99	0.47	48.14	5	14.20	24.5	30.5	34
A-9	542.815	1.90	8.83	1.73	20.04	1.6	4.24	4.83	2.705	43.48	23	21.42	30	31	35
A-11	535	1.50	7.69	2.14	11.30	1.6	6.43	5.52	1.435	45.03	24	17.99	29	30.5	34
A-12	577.5	1.57	4.97	2.57	12.32	1.8	6.47	5.49	1.3	51.76	22	19.37	29.5	30	34.5
A-13	1278.75	1.56	9.695	2.59	22.82	3.9	6.54	5.97	0.475	42.44	9	18.10	29	30.5	36
A-14	1511.03	1.65	10.86	2.68	10.30	4.5	3.59	5.54	0.98	50.72	10	24.13	24.5	30	33.5
A-15	1564.215	2.04	12.28	2.92	18.66	2.8	3.52	5.04	0.98	60.56	18	42.52	28	31.5	34.5
A-16	452.685	1.83	7.625	1.94	44.86	0.9	4.03	4.53	2.105	61.08	28.5	17.35	30	30	33
A-17	1149.005	1.42	9.895	2.46	23.42	1.8	6.71	5.93	1.585	44.51	12	19.94	25.5	28.5	34.5
A-18	927	1.87	9.835	2.63	12.08	2.2	3.59	4.58	2.155	52.80	16	24.67	28.5	28	34
A-19	990.69	1.59	9.395	2.56	32.58	2.2	4.96	5.50	1.11	50.72	21	31.09	27.5	31	35
A-22	2190.29	2.55	16.365	3.36	20.22	2.6	3.28	4.43	1.125	39.85	14.5	44.70	23	27	30.5

Cont.

Cont.																
A-23	467.625	1.41	7.47	1.86	11.92	1.7	7.17	5.72	1.575	48.14	22	15.20	24.5	29	32.5	
A-24	1151.065	1.54	9.93	2.58	17.46	2.8	5.01	6.18	0.9	53.83	10	17.08	26	28	33	
A-25	1701.315	1.48	13.495	2.63	22.69	3.1	5.10	4.86	0.96	51.76	10.5	26.00	27.5	29	32.5	
A-26	894.335	1.73	9.205	2.45	16.88	2.0	5.32	5.27	1.3	59.52	12	17.01	26.5	29.5	33.5	
A-27	1744.065	1.50	10.59	3.09	18.44	3.7	5.40	6.12	0.905	48.14	7	20.07	27	31	34	
A-28	1655.19	1.58	13.875	2.83	19.37	4.8	5.18	5.68	1.14	52.28	13.5	31.69	28	30.5	35.5	
A-29	2398.465	2.08	12.45	2.74	12.14	2.4	4.92	4.74	1.805	91.10	16	38.93	27	31	34.5	
A-30	1083.315	1.64	10.03	2.66	20.60	3.3	5.22	4.70	1.62	53.83	13	22.67	28.5	29.5	33.5	
A-31	561.625	1.52	7.755	2.28	24.02	1.9	6.57	5.62	1.145	42.96	18	16.84	29	31.5	35.5	
A-32	562.125	1.63	7.82	2.12	20.57	1.4	5.44	5.50	1.12	40.37	15	12.13	30.5	31	36.5	
A-33	1799.25	1.82	11.68	2.61	15.50	4.0	4.04	5.91	0.49	47.10	8.5	25.15	26.5	31	34.5	
A-34	2384.96	2.29	15.905	3.25	24.42	2.9	3.90	4.85	1.19	54.35	11	37.13	27	32	36.5	
A-35	602.435	1.59	7.865	2.28	14.61	2.0	5.72	5.42	1.85	46.07	24.5	21.68	30	31.5	35	
A-36	1276.5	1.63	10.615	2.23	15.08	4.4	4.02	5.94	0.325	44.51	10.5	13.05	29	32	35.5	
A-37	1519.41	1.69	10.575	3.97	17.73	3.6	4.28	5.01	1.055	55.38	7.5	10.54	26.5	33	38.5	
A-39	1337.565	2.45	13.45	6.13	20.02	2.8	3.10	4.85	1.555	50.72	15.5	32.95	26.5	28.5	33	
A-41	2111.855	2.33	13.75	3.50	19.39	2.5	4.98	4.58	1.3	51.24	15.5	37.66	23.5	29	33.5	
A-42	1208.125	2.53	12.925	2.32	22.31	2.5	3.21	4.92	0.945	51.24	19	34.66	30.5	33	36.5	
A-43	376.31	1.48	6.67	2.13	20.39	1.7	8.06	5.57	1.955	48.65	17	7.00	29	30.5	34.5	
A-44	1123.25	1.11	7.195	3.58	14.75	3.0	6.62	6.51	1.035	53.83	9	16.10	23.5	26	29	
Cont.																

Cont.

A-45	2654.065	2.27	16.87	3.10	21.77	3.7	4.28	3.02	5.93	38.82	11.5	44.30	23	28	32
‘Amaral’	1778.1	2.36	9.76	3.75	33.43	4.0	7.96	6.05	1.11	50.21	6	15.29	23	24	27.5
‘Mand.’	1813.96	1.19	9.44	6.21	29.42	3.1	8.15	5.88	1.325	58.49	12.5	26.75	23	27	31
‘Natal’	1367.285	1.36	8.935	3.50	28.11	4.8	8.02	5.96	0.685	45.03	5.5	12.65	23	25	31

PMF: peso médio dos frutos (g), IFF: índice de formato do fruto (cm), C.I.: Cavidade Interna (cm), E. P.: Espessura de polpa (cm), F. P.: Firmeza de Polpa(N), PS: peso de 100 sementes (g), SS: sólidos solúveis (° Brix), Ac.: Acidez titulável (%), Vit C.: Vitamina C (mg/100g), P. Total: Peso Total (g), NTF: número total de frutos, Prod.: Produtividade (t/ha), Flor. M: florescimento masculino (dias), Flor. F: florescimento feminino (dias), FRUT.: frutificação (dias).

Na Tabela 6, observa-se a contribuição relativa de cada característica para a divergência genética. O índice de formato do fruto foi a característica que mais contribuiu para a divergência genética com 27,5%, a segunda e a terceira variáveis que mais contribuíram foram o diâmetro longitudinal com 11,5% e produtividade com 10,4%. Estes resultados evidenciam a assertiva notória na literatura internacional de que o meloeiro é a espécie que tem maior polimorfismo nos frutos como formato, tamanho e peso (LOPES et al., 2008; TORRES FILHO, 2008; ARAGÃO, 2010, NEITZKE et al., 2009).

Os resultados apresentados são de grande importância prática em futuros programas de melhoramento, podendo-se ter informações de como e quais características contribuirão para a divergência genética entre os genitores, diminuindo-se assim o número de características avaliadas, ou incluindo outras que poderão contribuir de forma mais eficiente para o sucesso da obtenção de híbridos.

Tabela 6 – Contribuição relativa de 18 descritores fenotípicos para a divergência genética entre acessos de meloeiro, utilizando o método de SINGH (1981). Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Características	S.j. ¹	Valor em %
Peso médio do fruto (g)	5833,04	4,62
Diâmetro longitudinal (cm)	14501,79	11,58
Diâmetro transversal (cm)	4166,92	3,30
Índice de formato (cm)	34715,99	27,52
Cavidade Interna (cm)	11041,97	8,75
Espessura Polpa (cm)	2304,14	1,83
Firmeza Polpa (N)	5408,24	4,28
Peso sementes (g)	9840,20	7,80
Sólidos solúveis(°Brix)	7368,65	5,84
pH	5490,06	4,35
Acidez (% ác. Cítrico)	1465,74	1,16
Vitamina C (mg/100g)	1091,29	0,86
Peso total (g)	545,68	0,43
Número Total de Frutos	1653,17	1,31
Produtividade	13177,50	10,45
Florescimento masculino (dias)	3408,57	2,70
Florescimento feminino (dias)	44,43	0,03
Frutificação (dias)	4091,45	3,24

S.j.¹: contribuição relativa de cada variável, g: grama, cm: centímetro, N: Newton, mg: miligrama.

Para a cultura do melão, os descritores mais importantes são aqueles relacionados à produção e qualidade dos frutos. O ideal é que se tenha pelo menos, alta produtividade (superior a 25 t.ha⁻¹), tamanho do fruto adequado às preferências do mercado para cada tipo de melão, elevada firmeza de polpa, característica relacionada ao tempo de vida útil pós-colheita, e elevado valor de sólidos solúveis totais, principal descritor da qualidade do meloeiro (NUNES et al., 2006).

Os acessos de melão foram agrupados com utilização do método de Tocher (Tabela 7), a partir da matriz de distâncias de Mahalanobis entre variáveis quantitativas, em 10 grupos. O primeiro foi formado pelos acessos A-11, A-35, A-12, A-32, A-31, A-43, A-23, A-26, A-19, A-17, A-30, A-1, A-15, A-9, A-18, A-5, A-24 e A-13. O segundo grupo, pelos acessos A-6, A-33, A-7, A-14, A-27, A-8, A-3, A-37, A-28 e A-36. O terceiro grupo foi composto pelos acessos A-22, A-41, A-34 e A-45. O quarto grupo foi constituído pelos híbridos ‘Amaral’, ‘Natal’, ‘Mandacaru’ e o acesso A-44. O quinto grupo foi formado pelos acessos A-39 e A-42. Os demais grupos foram constituídos por apenas um acesso, quais sejam: A-2, A-29, A-25, A-4 e A-16.

Tabela 7 – Grupos de acessos formados pelo critério de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Grupo	Acesso										
I	A-11	A-35	A-12	A-32	A-31	A-43	A-23	A-26	A-19	A-17	
	A-30	A-1	A-15	A-9	A-18	A-5	A-24	A-13			
II	A-6	A-33	A-7	A-14	A-27	A-8	A-3	A-37	A-28	A-36	
III	A-22	A-41	A-34	A-45							
IV	‘Amaral’	‘Natal’	A-44	‘Mandacaru’							
V	A-39	A-42									
VI	A-2										
VII	A-29										
VIII	A-25										
IX	A-4										
X	A-16										

A análise do dendograma (Figura 5) permitiu verificar a formação de quatro grupos quando se considerou como ponto de corte 50% de dissimilaridade.

O grupo 1 formado por alguns acessos e os híbridos, está dividido em dois subgrupos onde o primeiro está formado pelos acessos A-1, A-17, A-26, A-13, A-11, A-35, A-12, A-31, A-43, A-32, A-23, A-19, os acessos desse subgrupo apresentaram características semelhantes de seus frutos como número de frutos variando de 8 a 25 frutos por parcela, pesando de menos de 1 kg, apenas os acessos A-13 e A-14 que apresentaram alguns gramas a mais, índice de formato ficando em torno de 1,5. Considerando a classificação de Paiva (2000), os acessos possuem frutos com formato oval, dias para frutificação ficando entre 34 e 36 dias, cor de casca e cor de polpa branca ou creme; O outro subgrupo constituído pelos acessos A-44 e os híbridos: Mandacaru, Natal e Amaral, onde o agrupamento dos híbridos era esperado já que são melões amarelos, tem características morfológicas bem semelhantes e os híbridos Natal e Amaral são de mesma empresa.

O grupo 2 foi formado pelos acessos A-3, A-8, A-6, A-33, A-7, A-14, A-24, A-27, A-37, A-28, A-35, A-4, esses acessos se agruparam por características semelhantes de seus frutos, como cor de polpa verde ou esverdeada e cor de casca verde ou verde amarelada, frutos pesando de 1kg a 3kg, índice de formato superior a 1,5, considerando essa classificação, os acessos possuem frutos com formato comprido.

O grupo 3 também está dividido em 2 subgrupos, onde o primeiro agrupou os acessos A-2, A-39, A-22, A-45, esses acessos apresentam características de cor de polpa branca e cor de casca creme ou verde, frutos pesando de 1,5 kg a 3kg, com formato comprido de seus frutos; O segundo subgrupo agrupou os acessos A-5, A-15, A-41, A-18, A-34, A-29, A-9, A-42, A-25, esses acessos apresentam características como número de frutos variando de 11 a 23 frutos por parcela, de cor de polpa branca e cor de casca creme ou amarela, frutos pesando de 1kg a 2kg, com formato comprido. O grupo 4 formado apenas pelo acesso A-16, acesso esse com características de cor de casca amarelo forte, cor de polpa branca, fruto pesando 500g, bastante prolífero com 32 frutos por parcela e com ramas bem longas, chegando a invadir as outras parcelas do experimento.

A correlação cofenética, medida que estabelece uma associação entre a matriz de similaridade ou dissimilaridade com o dendograma gerado através desta, ou seja, compara as reais distâncias obtidas entre os acessos com as distâncias representadas graficamente sujeitas ao acúmulo de erros, foi estimada em 0,67** esse valor implica em boa confiabilidade entre as distâncias nas matrizes e o agrupamento dos genótipos no dendograma.

Os métodos de agrupamento de Tocher e o hierárquico concordaram parcialmente quanto aos grupos formados, pois em ambos, o acesso A-16 ficou separado dos demais acessos, o grupo 1 e o grupo 2 coincidiu parcialmente. Essa diferença parcial de agrupamento se deve evidentemente aos critérios adotados nos dois métodos

Para a escolha de genitores, recomenda-se a utilização de genótipos pertencentes a grupos diferentes, para teoricamente garantir mais heterose em características importantes.

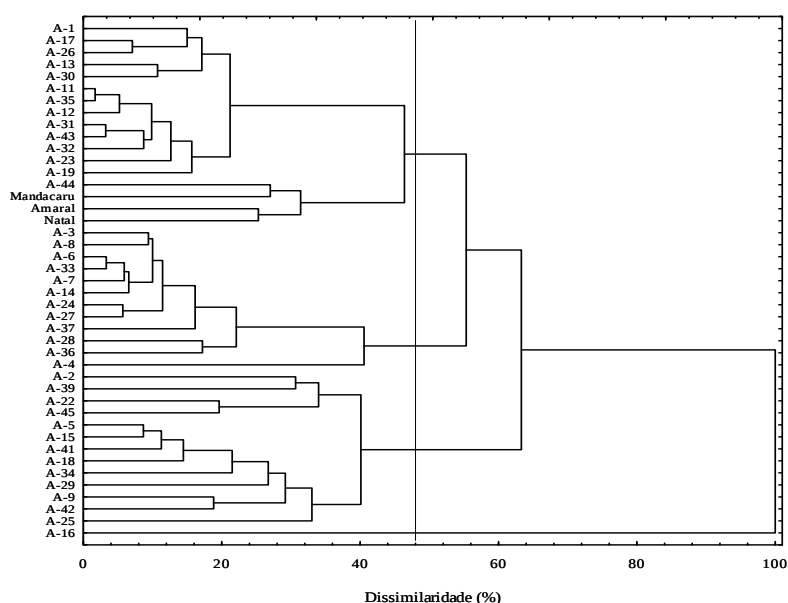


Figura 5 – Análise de agrupamento dos 43 genótipos de melão por meio dos descritores do fruto, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

4.2. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

4.2.1 Marcador RAPD

De acordo com os dados gerados pela amplificação, foram identificados 144 marcadores RAPD, destes 139 foram polimórficos e apenas 5 monomórficos. A média de alelos polimórficos foi de 10,28 alelos por primer. O maior número de alelos foi gerado pelo *primer* OPO-07 e o menor número de alelos pelo OPC-13. O OPO-07 amplificou 4 alelos polimórficos, enquanto que com OPC-13 e OPC-05 foram amplificados 14 e 13 alelos polimórficos, respectivamente. Os fragmentos polimórficos RAPD foram selecionados para análise de acordo com a intensidade da banda no gel, exemplo de boa amplificação é mostrado na Figura 6, com o primer OPF-02.

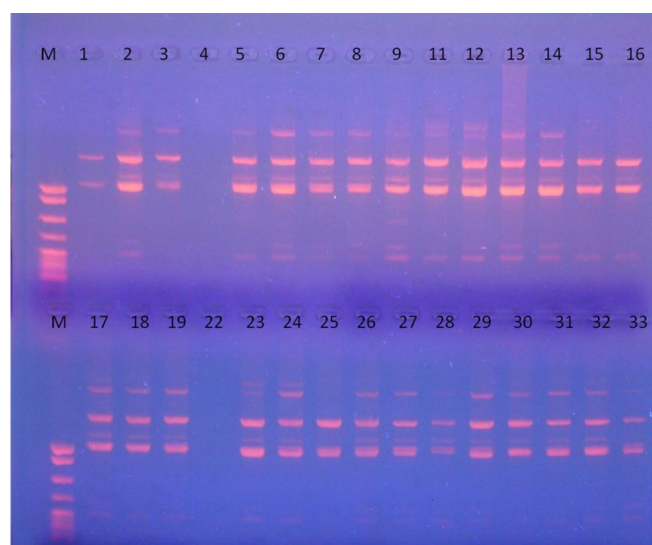


Figura 6 – Gel de agarose 1,5% contendo fragmentos de DNA amplificados com o marcador RAPD OPF-02 à partir do DNA de alguns acessos de meloeiro. As canaletas 1 e 17 apresentam o padrão do marcador de peso molecular de 100 pares de base. As canaletas 2 a 16 e 18 a 36, representam amostras de diferentes acessos de melão. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Buso et al. (2002) analisando 38 acessos de melão, com emprego de 22 primers obteve 63 alelos polimórficos, com a média de 3 alelos por primer. Stepansky et al. (1999) analisou 54 acessos de melão, com 14 primers RAPD

obteve 97 alelos, com 70% sendo polimórficos, com média de 6,9 alelos por primer, também inferior ao presente trabalho. Luan et al. (2008) analisando 68 acessos com 17 primers RAPD obteve uma média de alelos por loco de 1,9. Staub et al. (2004) analisou 17 acessos de melão, com 24 primers RAPD, obteve 65 alelos polimórficos, com média de 2,4 alelos por primer. Todos esses autores encontraram nível de polimorfismo bem menor que o encontrado no presente trabalho.

Os acessos de melão foram agrupados em 13 grupos conforme o método de Tocher a partir da matriz de dissimilaridade gerada com as marcas de RAPD (Tabela 8). O primeiro grupo foi formado pelos acessos A-11, A-12, A-43, Natal, A-14, A-13, A-2, A-5, A-3, A-7, Mandacaru, Amaral, A-6, A-4, A-24, A-32, A-23, A-42, A-27, A-15, A-16, A-39 e A-41; e o segundo grupo pelos acessos A-19, A-22, A-29, A-30, A-31. Nestes dois grupos, como era esperado, foram alocados o maior número de acessos. Os demais acessos foram divididos em grupos formados por dois acessos ou apenas por um acesso.

Tabela 8 – Grupos de acessos formados pelo critério de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis a partir dos dados de RAPD. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Grupo	Acesso									
I	A-11	A-12	A-43	‘Natal’	A-14	A-13	A-2	A-5	A-3	A-7
	‘Mandacaru’	‘Amaral’	A-6	A-4	A-24	A-32	A-23	A-42	A-27	A-15
		A-16	A-39	A-41						
II	A-19	A-22	A-29	A-30	A-31					
III	A-33	A-34								
IV	A-35	A-36								
V	A-17	A-26								
VI	A-9	A-37								
VII	A-44									
VIII	A-28									
IX	A-45									
Cont.										

Cont.

X A-25

XI A-1

XII A-8

XIII A-18

A análise do dendograma (Figura 7) permitiu verificar a formação de 32 grupos quando se considerou um ponto de corte com 50 % de dissimilaridade. A correlação cofenética foi estimada em 0,77**, valor que evidencia elevada confiabilidade entre as distâncias nas matrizes e o agrupamento dos genótipos no dendograma.

O grupo 1 foi formado pelo acesso A-1, o grupo 2 pelo A-4, o grupo 3 pelo A-44, o grupo 4 apresenta dois acessos, o A-2 e o A-3. No grupo 5 foram alocados os três híbridos avaliados. O agrupamento dos híbridos em um mesmo grupo era esperado em razão de serem materiais melhorados com frutos de excelente qualidade e uniformes quanto ao tamanho, cor de epicarpo e mesocarpo, bem como produtividade. Os híbridos ‘Natal’ e o ‘Amaral’ por ser da mesma empresa e, muito provavelmente, devem apresentar o mesmo *background* genético, justificando perfeitamente a sua alocação no mesmo grupo em todas as situações.

O grupo 6 foi formado pelos acessos A-5, A-6, A-7, o grupo 7 foi formado pelos acessos A-11, A-12 e A-43, o grupo 8 foi formado pelo acessos A-13 e A-14, o grupo 9 formado pelos acessos A-23 e A-24, o grupo 10 formado pelos acessos A-31 e A-32, o grupo 11 formado pelo acesso A- 35, o grupo 12 pelo A-36, o grupo 13 formado pelos acessos A- 15 e A-16, o grupo 14 pelo acesso A-45, o grupo 15 pelo acesso A- 39, o grupo 16 pelo acesso A-42, o grupo 17 pelo acesso A- 41, o grupo 18 pelo acesso A-28, o grupo 19 pelo acesso A- 33, o grupo 20 pelo acesso A- 34, o grupo 21 pelo acesso A-19, o grupo 22 pelo acesso A- 22, o grupo 23 pelo acesso A-27, o grupo 24 pelo acesso A- 29, o grupo 25 pelo acesso A- 30, o grupo 26 pelo acesso A-9, o grupo 27 pelo acesso A- 37, o grupo 28 pelo acesso A-17, o grupo 29 pelo acesso A- 26, o grupo 30 pelo acesso A- 25, o grupo 31 pelo acesso A-8, o grupo 32 pelo acesso A- 18, nestes os acessos apresentaram-se de forma isolada.

O dendograma obtido demonstra coeficientes dissimilaridade variando de 36% a 100%. Gontijo et al. (2005) estudou variabilidade em 141 linhagens de melão e encontrou coeficientes de similaridade entre 60% e 90% usando 17 marcadores RAPD, Luan et al. (2008) também utilizando 17 primers RAPD em 68 acessos encontrou coeficiente variando entre 50 e 90%. Staub et al. (2004) analisou 17 acessos de melão da Grécia e obteve um coeficiente de similaridade de 13% a 60%. Buso et al. (2002) analisando 38 acessos de melão, com emprego de 22 primers obteve coeficiente de similaridade de 53 a 98%, mostrando que nosso estudo apresenta grande variabilidade genética, provavelmente porque utilizou-se materiais bem divergentes, pela existência de grande número de acessos de diferentes origens.

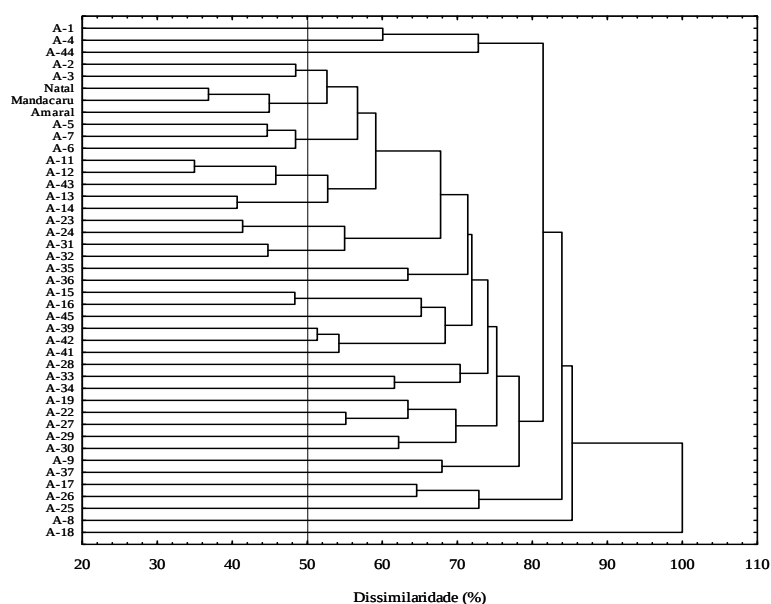


Figura 7 – Análise de agrupamento dos 43 genótipos de melão por meio de marcador RAPD, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Os métodos de agrupamento de Tocher e o hierárquico não concordaram quanto aos grupos formados, apenas os acessos A-2, A-3, Natal, Amaral, Mandacaru, A-5, A-7, A-6, A- 11, A-12, A-43, A-13, A-14, A-23, A-24, A-31, A-32, A-15, A-16, que se agruparam no primeiro grupo no método de Tocher,

agruparam no método hierárquico, sendo que em grupo diferentes. Os demais acessos formaram grupos isolados no método hierárquico.

4.2.2 Marcador Microsatélite

Quando foi utilizado o marcador microsatélite, o método de Tocher distribuiu os 43 acessos em 11 grupos, conforme observado na Tabela 9.

O grupo 1 concentrou 25% dos acessos e os três híbridos (A-2, A-27, A-29, A-44, ‘Mandacaru’, A-28, A-45, A-13, A-42, ‘Natal’, A-22, A-43, ‘Amaral’). O grupo 2 foi formado pelos acessos A-8, A-24, A-11, A-15, A-9, A-19, A-25, A-34 e A-12. O grupo 3 foi formado pelos acessos A-14, A-23, A-31, A-35, A-30, A-16, A-17. O grupo 4 foi formado pelos acessos A-4, A-7, A-5, A-3, A-1. O grupo 5 foi formado pelos acessos A-36, A-37, A-26. Os demais grupos foram formados apenas por um acesso.

Tabela 9 – Grupos de acessos formados pelo critério de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis a partir dos dados de SSR. Mossoró-RN, UFERSA, 2010

Grupo	Acesso									
I	A-2	A-27	A-29	A-44	‘Mandacaru’	A-28	A-45	A-13	A-42	‘Natal’ A-22 A-43 ‘Amaral’
II	A-8	A-24	A-11	A-15	A-9	A-19	A-25	A-34	A-12	
III	A-14	A-23	A-31	A-35	A-30	A-16	A-17			
IV	A-4	A-7	A-5	A-3	A-1					
V	A-36	A-37	A-26							
VI	A-39									
VII	A-18									
VIII	A-6									
IX	A-32									
X	A-33									
XI	A-41									

Nas análises com microssatélite, testaram-se quinze marcadores, destes, onze foram polimórficos, apenas um monomórfico, dois apresentaram padrão de bandas não evidentes e um não gerou produtos de amplificação. Este alto nível de polimorfismo dos marcadores era esperado, haja vista que os mesmos foram escolhidos dentre os marcadores do trabalho de Chiba et al. (2003). Os fragmentos polimórficos SSR foram selecionados para análise de acordo com a intensidade da banda no gel, exemplo de boa amplificação é mostrado na Figura 7, com o primer CMMS 30-3.

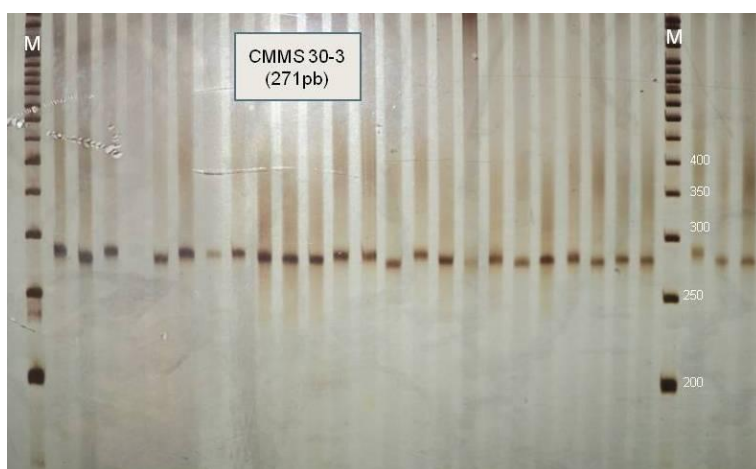


Figura 8 - Gel de poliacrilamida contendo fragmentos de DNA amplificados com o marcador CMMS 30-3, à partir do DNA de alguns acessos de meloeiro. M: marcador de peso molecular de 50 pares de base. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.

A média de alelos polimórficos foi de 4,82 alelos por primer, com tamanho variando de 100 a 495 pb. O maior número de alelos foi gerado pelo *primer* CMMS 4-3 e o menor número de alelos pelo CMMS 34-10. O CMMS 4-3 amplificou oito alelos polimórficos, enquanto que o CMMS 34-10 amplificou dois alelos polimórficos. Lopez-Sesé et al. (2002) analisando 15 acessos de melão com 8 primers SSR, obtiveram uma média de 2,87 alelos por primer. Daning-poleg et al. (2001) analisando 13 acessos obtiveram uma média de 3,5 alelos por primer. Origens diferentes e variações botânicas nos acessos utilizados no trabalho permitiram a detecção de um número elevado de alelos, confirmando o alto grau de variabilidade genética.

O trabalho de Chiba et al. (2003), tomado como base para os primers SSR de melão, também apresentou número de bandas inferior, pois a detecção de polimorfismo foi efetuada em gel de agarose, o que dificulta a discriminação de fragmentos que se diferenciam por poucos pares de bases, diferente do nosso trabalho, o qual foi realizado com gel de poliacrilamida.

O dendograma obtido demonstra coeficientes de dissimilaridade variando de 0% a 100%, formando sete grupos (Figura 9) quando se considerou uma distância relativa de 50 % no ponto de corte. Escribano et al. (2008) analisando 23 acessos com 19 primers SSR observaram 72 alelos polimórficos e coeficiente de similaridade variando de 24% a 98%. Daning-poleg et al. (2001) analisando 13 acessos obtiveram o coeficiente variando de 12,9% a 90%. Lopez-Sesé et al. (2002) obtiveram um coeficiente variando de 0 a 41%. Com isso, mostrando a ampla variabilidade genética dos acessos do banco de germoplasma da UFERSA por meio da diversidade genética molecular.

Dentre os grupos formados, apenas um grupo apresentou somente um acesso, que foi o A-32. O primeiro grupo foi formado pelos acessos: A-1, A-3, A-4, A-5, A-7, coincidindo com o agrupamento de Tocher. O segundo grupo foi formado pelos acessos A-18 e A-4. O terceiro grupo foi formado por dois subgrupos também, um formado apenas pelo acesso A-33 e o outro pelos acessos: A-2, A-27, A-44, A-13, A-29, Mandacaru, A-22, Amaral, A-28, A-45, Natal; O quarto grupo foi formado pelos acessos: A-6, A-12, A-17, A-14, A-23, A-43, A-35, A-31, A-30, A-16, coincidindo com o agrupamento de Tocher, apenas o acesso A-43 não se agrupou; O quinto grupo formado pelos acessos: A-26, A-36, A-37, A-42, A-39, coincidindo com o agrupamento de Tocher apenas os acessos A-26, A-36 e A-37; O sexto grupo formado pelos acessos: A-8, A-24, A-19, A-9, A-15, A-11, A-25, A-34, coincidindo com o agrupamento de Tocher, exceto a o acesso A-12 e o sétimo grupo formado pelo acesso A-32, coincidindo com o agrupamento de Tocher.

Uma observação interessante pode ser visualizada com relação à distância genética entre os acessos, A-2 e A-27, A-29 e A-44, A-8 e A-24, A-11 e A-15, A-13 e 'Mandacaru', A-14 e A-35, A-16, A-23 e A-43, A-28, 'Amaral' e A-45, pois a

mesma foi zero. Esta estimativa é consequência do mesmo padrão de bandas apresentado por ambos os acessos para todos os marcadores polimórficos. Este poderia ser um típico caso de duplicação de acessos, no entanto as plantas são diferentes. Assim sendo, uma nova avaliação, com novos microssatélites, provavelmente possibilitará discriminar os referidos acessos.

Do mesmo modo que o agrupamento com base em descritores do fruto, e com os marcadores RAPD, o dendograma feito a partir de marcadores microssatélites obteve alto valor cofenético de 0,78**, uma boa concordância com os valores de similaridade genética.

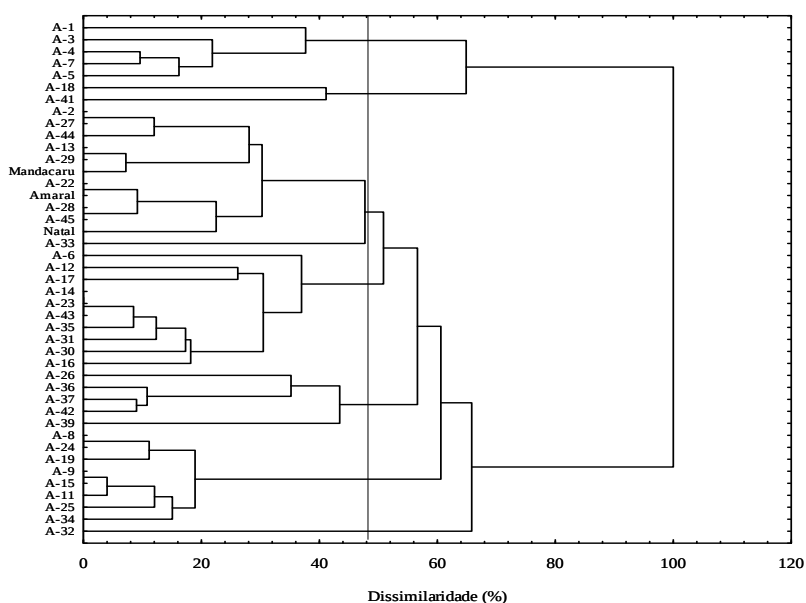


Figura 9- Análise de agrupamento dos 43 genótipos de melão por meio de marcador SSR, obtida pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.

As correlações entre as medidas de divergência genética utilizando o teste de Mantel (MANTEL, 1967), obtidas pelos diferentes estimadores de divergência genética a partir dos caracteres morfológicos e moleculares, encontram-se inseridas na Tabela 10.

Tabela 10: Correlação entre a divergência genética estimada através da caracterização morfológica e molecular (SSR, RAPD) pelo teste Z de Mantel. Mossoró-RN, UFERSA, 2010.

	Morfológica	RAPD	SSR
Morfológica		-0,003 ^{ns}	-0,009 ^{ns}
RAPD			0,170 **
SSR			

ns: não significativo, ** : significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Mantel baseado em 1000 simulações.

A correlação entre as estimativas da divergência genética avaliada por meio de caracteres moleculares RAPD e SSR ($r = 0,170^{**}$) foi significativa. No entanto, devido a sua baixa magnitude, indica que são medidas complementares, sugerindo que os conjuntos de dados obtidos com RAPD e SSR apresentam alguma afinidade. Sendo assim, a utilização de uma estimativa não substitui a necessidade de se avaliar à outra.

Este resultado é condizente com os de vários autores, que também obtiveram coincidências na caracterização da diversidade genética de germoplasma por diferentes marcadores (OLIVEIRA, 2005; SILVA, 2006).

Para Faleiro et al. (2001), o número e a reprodutividade das marcas são os principais fatores que afetam a associação entre marcadores, mas, quando ela ocorre, pode-se esperar que ambos devam ser eficientes na classificação dos acessos. Essas considerações justificam a baixa concordância, uma vez que a comparação foi efetuada com os conjuntos de dados gerados por 53 e 139 bandas polimórficas de SSR e RAPD, respectivamente. Pode-se então supor que esses marcadores sejam complementares, uma vez que o RAPD, um marcador dominante, e o SSR, codominante, conseguiram realizar uma amostragem eficiente da diversidade.

No caso da comparação dos agrupamentos gerados com as dissimilaridades genéticas e as morfológicas para os acessos, não foi observada nenhuma concordância, tanto pelos marcadores RAPD quanto pelos SSR, (RAPD com $r = -0,00252$ e SSR com $r = -0,00986$) como observado também por OLIVEIRA (2005) em germoplasma de açaí e Koehler-Santos et al. (2003) em germoplasma

de *citrus*. Tais resultados permitem sugerir que a diversidade genética como o teste de Mantel demonstrou que o conjunto de informações obtidas entre os marcadores moleculares, seja RAPD ou SSR, e os descritores morfológicos foram plenamente discordantes, não oferecendo suporte para extrapolar os resultados de um conjunto de dados para outro. Tais resultados estão dentro do esperado, pois os marcadores moleculares baseiam-se em fragmentos aleatórios do DNA genômico. Logo, a possibilidade dos fragmentos analisados estarem associados aos caracteres morfológicos estudados é mínima, pois esses caracteres são quantitativos e devem envolver vários genes. Com base neste argumento, pode-se pressupor que a diversidade genética avaliada pelos marcadores moleculares seja mais fácil de ser detectada do que aquela medida por esses caracteres, que neste estudo é representada pelo fenótipo, ou seja, sofre a influência do ambiente e do genótipo, aí a ausência de correlação entre essas dissimilaridades.

5 CONCLUSÕES

- Os marcadores morfológicos, RAPD e SSR foram satisfatórios em permitir a detecção de polimorfismo entre os acessos e cultivares avaliados;
- Os métodos de agrupamento de Tocher e o hierárquico UPGMA concordaram parcialmente nas caracterizações morfológica e molecular;
- O marcador RAPD foi mais discriminante em relação ao microssatélite porque dividiu os acessos em mais grupos;
- Existe alta variabilidade genética entre os acessos do banco de germoplasma da UFERSA.
- As correlações entre os marcadores RAPD e SSR são complementares na explicação da diversidade genética, mas, ambos são discordantes em relação à diversidade fenotípica.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, J. M. Tendencias en la mejora genética del melón. In: VALLESPÍR, A. N. **Melones**. S. L. Reus: Ediciones de Horticultura, p. 25-34, 1997.

ARAGÃO, F. A. S. de. **Divergência genética de acessos e interação genótipo x ambiente de famílias de meloeiro**. 2010. 107p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2010.

ARTÉS, F.; ESCRICHE, A.J.; MARTINEZ, J.A.; MARIN, J.G. Quality factors in four varieties of melons (*Cucumis melo*, L.). **Journal of Food Quality**, v. 16, n. 2, p. 91-100, 1993.

BRAZILIAN FRUIT, Promoção das exportações de frutas brasileiras e derivados. Disponível em: <<http://www.brazilianfruit.org.br/>> Acesso em: 10 nov. de 2010.

BUSO, G. S. C.; TAVARES, H. M. F.; BUSO J. A. **Avaliação da variabilidade genética de acessos de melão tipo Cantaloupe utilizando marcadores moleculares RAPD**. 2002. 19p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Boletim de Pesquisa, 35)

CARMO F. F.; OLIVEIRA O. F. **Mossoró**: um município do semi-árido nordestino características e aspectos florísticos. Mossoró: ESAM, 1989. 62p. (Coleção Mossoroense, B, n.672).

CPTEC/INPE. Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos / Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Disponível em: <<http://bancodedados.cptec.inpe.br/climatologia/Controller>>. Acesso em: 05 de fev. 2011.

CHIBA, N.; SUWABE, K.; NUNOME, T.; HIRAI, M. Development of Microsatellite Markers in Melon (*Cucumis melo* L.) and Their Application to Major Cucurbit Crops. **Breeding Science**, n. 53, p. 21-27, 2003.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; SILVA, S. O.; FIGUEIRA, A. Genetic characterization of banana cultivars (*Musa* spp.) from Brazil using microsatellite markers. **Euphytica**, n. 132, p. 259-268, 2003.

CRUZ, C.D. et al.. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2004. 480p

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: estatística experimental e matrizes. Viçosa: UFV, 2006. 285p.

CURY, R. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone do Sul do Estado de São Paulo**. 1993. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

DANING-POLEG, Y.; REIS, N.; TZURI, G.; KATZIR, N. Development and characterization of microsatellite markers in Cucumis. **Theor Appl Genet**, n. 102, p. 61–72, 2001.

DELWING, A. B.; FRANKE, L. B.; BARROS, I. B. I. Qualidade de sementes de acessos de melão crioulo (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 187-194, 2007.

DEULOFEU, C. Situación y perspectivas del melón en el mundo. In: VALLESPÍR, A. N.(coord.) **Melones**. Reus: Horticultura, 1997. Cap.2, p.21-24. (Compêndios de Horticultura, 10).

DIAS, L. A. dos S. **Divergência genética e análise multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 1994. 94p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1994.

DIAS, R. C. S.; COSTA, N. D.; SILVA, P. C. G.; QUEIRÓZ, M. A. ; ZUZA, F.; LEITE, L. A. S.; PESSOA, P. F. A. P.; TARAO, D. A. Cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; GOEDART, W. J.; FREITAS FILHO, A.; VASCONCELOS, J. R. P. (Eds). **Cadeias produtivas e sistemas naturais: Prospecção tecnológica**. Brasília: SPI, 1998. Cap. 17, p. 440-493.

DOYLE, I.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, p.13-15, 1990.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Embrapa Produções de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412p.

ESCRIBANO, S.; LÁZARO, A.; STAUB, J.E. Genetic diversity of Spanish melons (*Cucumis melo*) of the Madrid provenance. In: EUCARPIA MEETING ON GENETICS AND BREEDING OF CUCURBITACEAE, IX, 2008, France, **Proceedings...**, France: 2008, p. 313-321.

FALEIRO, F. G.; LOPES, U. V.; YAMADA, M. M.; PIRES, J. L.; BAHIA, R. C. S.; SANTOS, R. C.; GOMES, L. M. C.; ARAÚJO, I. S.; FALEIRO, A. S. G.; GRAMACHO, K. P.; MELO, G. R. P.; MONTEIRO, W. R.; VALE, R. R. Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L com base em marcadores RAPD, AFLP e microsatélites. **Agrotrópica**, Bahia, v.13, n.2, p. 79-86, 2001.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2ª ed., Brasília, Embrapa-CENARGEN, 1998, 220p.

FILGUEIRAS, H.A.C.; MENEZES, J.B.; ALVES, R.E.; COSTA, F.V.; PEREIRA, L.S.E.; GOMES JÚNIOR, J. Colheita e manuseio póscolheita. In: ALVES, R.E. (Org). **Melão pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 2000. p. 23-41. (Frutas do Brasil, n.10), 2000.

GONTIJO, S L ; PAIVA, W P ; AMORIM, J C ; AMARAL, Z P de S ; OLIVEIRA, V R ; BUSO, J. A.; BUSO, G S C. Análise da variabilidade genética de diferentes linhagens de melão utilizando marcadores moleculares. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 368-368, 2005.

GUIMARÃES, C. T.; PADILHA, L.; SOUZA, I.R.P.; PAIVA, E. **“Fingerprinting” Molecular de linhagens de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 4p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, n.92).

HAMMER, K.P.; HANELT, P.; PERRINO, P. Carosello and taxonomy of *Cucumis melo* L. especially of its vegetables races. **Kulturpflanze**, v.34, n.1, p. 249-259, 1986.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2009. Disponível em: www.ibge.gov.br/.

IBPGR, **Elsevier's dictionary of plant genetic resources**. Rome: International Board of Plant Genetic Resources, 1991. 197p.

IBRAF, INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/>. Acesso: 10 nov. de 2010.

IPGRI. International Plant Genetic Resources Institute. **Descriptors for melon (*Cucumis melo* L.)**. Rome: IPGRI. 2003, 65p.

JEFREY, C. A review of the cucurbitaceae. **Botanic Journal Linneus Society**, v. 81, n.2., p. 233-247, 1980.

KOEHLER-SANTOS, P.; DORNELLES, A. L. C.; FREITAS, L. B. de. Characterization of mandarin *citrus* germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analyses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p. 747-806, 2003.

LIMA, L. L., NUNES, G. H. S.; BEZERRA NETO, F. Coeficientes de variação de algumas características do meloeiro: uma proposta de classificação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p.14-17, 2004.

LOPES, W. A. R.; FILHO, J. T.; NUNES, G. H. S.; ARAGÃO, F. A. S.; SILVA, J. R.; DANTAS, M. S. M.; GUIMARÃES, I. P.; FERREIRA, H. A. Divergência genética entre acessos de melão coletados no Nordeste brasileiro. **Horticultura Brasileira**, n. 26, p.5762-5765, 2008.

LÓPEZ-SESÉ, A. I.; STAUB, J.; KATZIR, N.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M.L.. Estimation of between and within accession variation in selected Spanish melon germplasm using RAPD and SSR markers to assess strategies for large collection evaluation. **Euphytica**, v. 127, p. 41–51, 2002.

LUAN, F.; DELANNAY, I.; STAUB J. E. Chinese melon (*Cucumis melo* L.) diversity analyses provide strategies for germplasm curation, genetic improvement, and evidentiary support of domestication patterns. **Euphytica**, n. 164, p.445–46, 2008.

KOHPAYEGANI, J.A.; BEHBAHANI, M. Genetic diversity of some populations of Iranian melon using SSR markers. **Biotechnology**, n. 7, p. 19-26, 2008.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and generalized regression approach. **Cancer Research**, Birmingham, v. 27, n.2, p. 209-220, 1967.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

MLIKI, A.; STAUB, J. E.; ZHANGYONG, S.; GHORBEL, A.. Genetic diversity in melon (*Cucumis melo* L.): Anevaluation of African germplasm. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, n. 6, p. 587-597, 2001.

MONFORTE, A. J., GARCIA-MAS, J.; ARU'S, P. Genetic variability in melon based on microsatellite variation. **Plant Breed**, n.122, p.153–157, 2003.

NAUDIN, C.V. Review des cucurbitacées cultivées on Museum. **Annales des Sciences Naturelles: Botanique**. série.4, n.12, p.79-164, 1859.

NAKATA, E. ; STAUB, J. E.; LÓPEZ-SESÉ, A. I. ; KATZIR, N. Genetic diversity of Japanese melon cultivars (*Cucumis melo* L.) as assessed by random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, n. 52, p. 405–419. 2005.

NEITZKE, R. S.; BARBIERI, R. L.; HEIDEN, G.; BÜTTOW, M. V.; OLIVEIRA, C. S.; CORRÊA, L. B.; SCHWENGBER, J. E.; CARVALHO, F. I. F. Caracterização morfológica e dissimilaridade genética entre variedades crioulas de melão. **Horticultura Brasileira**, n. 27, p. 534-538. 2009.

NUNES, G.H.S; SANTOS, JÚNIOR J.J.S.; VALE, F.A.; BEZERRA NETO, F.; ALMEIDA, A.H.B; MEDEIROS, D.C. Aspectos produtivos e de qualidade de híbridos de melão cultivados no agropolo Mossoró-Assu. **Horticultura Brasileira**, n. 22, p. 744-747, 2004.

NUNES, G. H. S; SANTOS JÚNIOR, J. J.; ANDRADE, F. V.; BEZERRA NETO, F.; MENEZES, J. B.; PEREIRA, E. W.L. Desempenho de híbridos do grupo *inodorus* em Mossoró. **Horticultura Brasileira**, n. 23, p.90-94, 2005.

NUNES, G.H.S.; MADEIROS, A.E.S.; GRANGEIRO, L.C.; SANTOS, G.M.; SALES JUNIOR R. Estabilidade fenotípica de híbridos de melão amarelo avaliados no Pólo agrícola Mossoró-Assú. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** n. 41, v.9, p. 1369-1376, 2006.

OUMOULOUD, A.; ARNEDO-ANDRÉS, M. S.; GONZÁLEZ-TORRES, R.; ÁLVAREZ, J. M. Morphological and molecular characterization of melon accessions resistant to Fusarium wilts. **Euphytica**, n.169, p. 69–79, 2009.

PAIVA, W.O. Divergência genética entre linhagens de melão e a heterose de seus híbridos. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.1, p. 34-37, 2000.

PEETERS, J.P.; WILLIAMS, J.T. Towards better use of genebanks with special reference to information. **Plant Genetic Resource Newsletter**, n. 60, p. 22-37, 1984.

PEREIRA, V. A. **Utilização de análise multivariada na caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.)**. 1989. 180 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1989.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido**. Tradução Joselita Wasniewski. Rio de Janeiro: ASPTA, 1993. 206 p.

RITSCHER, P.S.; LINS, T.C. DE L.; TRISTAN, R.L.; BUSO, G.S.C.; BUSO, A.; FERREIRA, M.E. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon *Cucumis melo* L. Br. Med. Chem. **Plant Biol.**, n.14,p. 1-14, 2004.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Cucurbits**. Cambridge: CAB International, 1997. 226p.

ROMÃO, L. R.; QUEIRÓZ, M. A. de; MARTINS, P. S.; CORDEIRO, C. M. T. Caracterização morfológica de acessos de melancia do Banco de Germoplasma (BAG) de cucurbitáceas do Nordeste brasileiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 23-25, 1999.

SENSOY, S.; BÜYÜKALACA, S.; ABAK, K. Evaluation of genetic diversity in Turkish melons (*Cucumis melo* L.) based on phenotypic characters and RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 6, p. 1351-1365. 2007.

SESTILI, S.; DANIELE, A.; ROSA, A.; FERRARI, V.; BELISARIO, A.; FICCADENTI, N.. Molecular characterization of different Italian *inodorus* melon populations based on ISSR molecular markers and preliminary SSR analysis In: EUCARPIA MEETING ON GENETICS AND BREEDING OF CUCURBITACEAE, IX, 2008, France, **Proceedings...**, France: 2008, p. 313-321.

SEYMOUR, G. B.; McGLASSON, W. B. Melons. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (Ed.) **Biochemistry of fruit ripening**. Londres: Chapman e Hall, 1993, p. 273-290.

SILVA, E. M. F. **Estudos sobre o mercado de frutas**. São Paulo: FIPE, 1999. 373p.

SILVA, P. P. da. **Divergência genética em genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) através de caracteres morfoagronômicos e por marcadores moleculares**. 2006. 96f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo-AL, 2006.

OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açaieiro**. 2005. 171p. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2005.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting divergence. **Indian Journal of Genetics and Plants Breeding**, New Deli, v.41, n.2, p. 237-245, 1981.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.

STATISTICA, **Statistica for Windows v. 6.0**: Computer Program Manual. Tulsa, UK: StatSoft Inc., 2002.

STAUB, J.E.; DANING-POLEG, Y.; FAZIO, G.; HOREJSI, T.; REIS, N.; KATZIR, N. Comparative analysis of cultivated melon groups *Cucumis melo* L. using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. **Euphytica**, n. 115, p. 225-241, 2000.

STAUB, J. E.; ROBBINS, M. D.; LÓPEZ-SESÉ, A. I. Molecular methodologies for improved genetic diversity assessment in cucumber and melon. In: J. D. Creight, ed., **Proceedings XXVI IRC. Horticulture: Art and science for life-Advances in vegetable Breeding. Acta Horticulturae**, n. 642, p.41-47, 2002.

STAUB, J.E.; LOPEZ-SESE, A. I.; FANOURAKIS, N. Diversity among melon landraces (*Cucumis melo* L.) from Greece and their genetic relationships with other melon germplasm of diverse origins. **Euphytica**, v. 136, p. 151–166, 2004.

STEPANSKY, A.; KOVALSKI, I; PERL-TREVES, R. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. **Plant Systematic Evolution**, v.217, n.2, p. 313-332, 1999.

SZABÓ, Z.; GYULAI, G. ; TÓTH, Z. ; HESZKY, L. Morphological and molecular diversity of 47 melon (*Cucumis melo*) cultivars compared to an extinct landrace excavated from the 15th century. In: EUCARPIA MEETING ON GENETICS AND BREEDING OF CUCURBITACEAE, IX, 2008, France, **Proceedings...**, France: 2008, p. 313-321.

TORRES FILHO, J. **Caracterização morfo-agronômica, seleção de descritores e associação entre a divergência genética e a heterose em meloeiro**. 2008. 150p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi Árido, Mossoró, 2008.

TRESSLER, D.K.; JOSLYN, M.A. **Fruit and vegetable juice**: processing technology. Westport: Connecticut AVI., 1961. 1028 p.

VALLS, J. F. M. Caracterização de Recursos Genéticos Vegetais. In: NASS, L.L. (Org.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 281-305.

VALOIS, A. C.C.; SALOMAO, A. N.; ALLEM, A.C(Org). **Glossário de recursos genéticos vegetais**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 62p. (EMBRAPA CENARGEM, Documento, n.22).

VICENTE, M.C.; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY, 2005, Turin. **Proceedings...** Turin: 2005. p.121-128.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; BIANCHETTI, L. B. ; VALLS, J. F. M. Coleta de germoplasma vegetal: relevância e conceitos básicos. In: WALTER, B.M.T.; CAVALCANTI, T.B. (Org.). **Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005, p. 27-55.