



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
BACHARELADO EM AGRONOMIA

FRANCISCO DAVI DA SILVA

DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS DE MELOEIRO POR MEIO DE
MARCADORES RAPD

FORTALEZA - CE

2016

FRANCISCO DAVI DA SILVA

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS DE MELOEIRO POR MEIO DE
MARCADORES RAPD**

Monografia apresentada ao Curso integral de
Agronomia da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do grau de
Bacharel em Agronomia.

Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas.

Orientador técnico: Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão
Orientadora pedagógica: Prof^a. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de
Magalhães Bertini

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S58d Silva, Francisco Davi da.
Divergência genética de acessos de meloeiro por meio de marcadores rapd / Francisco Davi da Silva. –
2016.
46 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão.

Coorientação: Profa. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.

1. Cucumis melo L.. 2. Germoplasma. 3. Variabilidade genética. I. Título.

CDD 630

FRANCISCO DAVI DA SILVA

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS DE MELOEIRO POR MEIO DE
MARCADORES RAPD**

Monografia apresentada ao Curso integral de
Agronomia da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do grau de
Bacharel em Agronomia.

Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 01/07/ 2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão
(Orientador técnico)

Prof. Dr.ª Cândida Herminia Campos de Magalhães Bertini
(Orientadora pedagógica)

Dr. Levi de Moura Barros
(Conselheiro)

Ms. Frederico Inácio Costa de Oliveira
(Conselheiro)

DEDICO

À minha mãe, Maria Joselia da Silva.

A memória de meu pai, Justino Soares da
Silva.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Programa de Residência Universitária por possibilitar a permanência e conclusão do curso de graduação em Agronomia.

À Embrapa Agroindústria Tropical pelo apoio logístico e financeiro.

Ao meu orientador Dr. Fernando Antonio de Souza Aragão, que tenho grande admiração, e que me deu apoio, ajuda e orientação para a realização desse trabalho. Além disso, agradeço pela oportunidade que me ofereceu de trabalhar esses últimos anos com uma equipe maravilhosa, onde criei grandes amigos.

À Dr^a Patrícia do Nascimento Bordallo, pela imensurável ajuda prestada nessa área que acabei me aventurando em um trabalho de monografia. Também agradeço por ter se mostrado uma pessoa tão agradável e prestativa, sempre fui pedir socorro em sua sala, dispensou seu tempo e forneceu valiosas sugestões para a melhoria da escrita desse trabalho.

À Prof^a Cândida H. C. Magalhães Bertini, pelos conselhos e orientação prestada, além de ter sido uma das pessoas responsáveis por despertar minha paixão pela área do melhoramento genético vegetal, quando ministrou parte da disciplina de Melhoramento Vegetal, ainda em um tempo onde estava meio perdido no curso.

À grande amiga, Elaine Facco Celin, por todo o companheirismo, pela motivação e incentivos ao meu crescimento profissional, pela amizade sincera, e ainda mais, pelo exemplo de determinação. Também agradeço pelos conselhos e críticas que foram, sem dúvidas, necessárias; pelos livros emprestados; pela ajuda na escrita; e pela confiança.

Ao grande amigo, Frederico Inácio Costa de Oliveira, que além de ser uma pessoa extraordinária e um grande profissional, colaborou de forma fundamental para o êxito desse trabalho. Também agradeço pelos grandes e bons momentos de descontração.

À Clisneide Coelho de Amorim, que contribuiu de forma essencial na realização desse trabalho.

Ao Prof. Manoel Abílio Queiróz que possibilitou o acesso ao germoplasma, autorizou e prestou apoio financeiro para realização do trabalho.

A todos meus irmãos, Rosinha, Solange, Garoto, Fernanda e Bruna pelo amparo emocional e estímulo.

À Nádylla Régis Xavier de Oliveira pela torcida contínua e apoio, que se fizeram presentes desde as análises no laboratório até a escrita.

Aos Professores que me inspiraram e que contribuíram com a minha formação.

A meus amigos que criei durante essa graduação. Não sei se são poucos ou muitos, mas sei que são os melhores que eu poderia ter. Dentre eles, não posso deixar de citar Jefferson Auteliano Carvalho Dutra e Klênio Bezerra de Sá, tanto pela ajuda prestada, quanto pela preocupação e apoio.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para o êxito desse trabalho, que aqui não foram citados.

Muito Obrigado!

“A ignorância gera mais frequentemente confiança do que o conhecimento: são os que sabem pouco, e não aqueles que sabem muito, que afirmam de uma forma tão categórica que este ou aquele problema nunca será resolvido pela ciência.”

Charles Darwin

RESUMO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma das hortaliças mais importantes para o Nordeste brasileiro. É uma espécie altamente polimórfica, apresentando diversas variações em seus caracteres, os quais podem ser exploradas no melhoramento genético. Esse trabalho teve como objetivo quantificar a divergência genética de 26 acessos de *Cucumis melo* L. do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro por meio do uso de marcadores moleculares RAPD. Foram utilizados 28 *primers* RAPD, para as análises moleculares, os quais geraram 242 (67,41%) marcas polimórficas. O complemento do índice de Jaccard foi usado para gerar a matriz de distâncias dos dados dos marcadores moleculares. Os genótipos foram agrupados por dois métodos: UPGMA e o de Tocher. Os marcadores RAPD permitiram a identificação de distância genética para todos os acessos avaliados. A distância genética média entre os genótipos foi 0,22, com mínima distância entre os acessos BGME 66.0 e BGME 67.0 e a máxima entre BGME 63.0 e BGME 111.0. O acesso BGME 97.2 foi o que mais se distanciou dos demais acessos avaliados. Os métodos de agrupamento de Tocher e o UPGMA concordaram perfeitamente, ao adotar o ponto de corte 0,189 (77,87% de dissimilaridade) no dendrograma, com a formação de sete grupos. O estudo evidenciou a variabilidade genética presente entre os acessos. Também foi observada forte associação entre os grupos formados pelos métodos de agrupamento com base nos marcadores RAPD e a classificação taxonômica dos genótipos estudados, o que não ocorreu ao considerar a procedência dos acessos.

Palavras-chave: *Cucumis melo* L., germoplasma, variabilidade genética.

ABSTRACT

The melon (*Cucumis melo* L.) is one of the most important vegetables for the Brazilian northeast. It is a highly polymorphic species, with several variations in its characteristics, which can be exploited for genetic improvement. The objective of this work is to study the genetic diversity of accessions of *C. melo* L. from the Cucurbitaceae Active Germplasm Bank for the Brazilian Northeast region with the use of RAPD molecular markers. Were used 28 RAPD primers, for the molecular analysis, which create 242 (67,41%) polymorphic markers. The complement to the Jaccard index was used to generate the matrix of genetic distances from the molecular markers data. The genotypes were grouped by two methods: the UPGMA and the Tocher method. The RAPD markers enabled the identification of genetic distance for all studied accessions. The average genetic distance among the genotypes was 0,22, with minimum distance between the accessions BGMEEL 66.0 e BGMEEL 67.0 and maximum between BGMEEL 63.0 e BGMEEL 111.0. The access BGMEEL 97.2 was the most distanced from the other accessions. the UPGMA and Tocher methods perfectly agreed, by utilizing 0.189 as a cut off point (77.87% dissimilarity) at the dendrogram, with formation of seven groups. The study showed the genetic variability among accessions. It was also observed strong association among the groups formed by clustering methods based on RAPD markers and the taxonomic classification of the genotypes, unlike what occurred in the case of geographical origin of accessions.

Keywords: *Cucumis melo* L., germplasm, genetic variability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A. Semeadura das sementes, B. Transplântio e C. Folhas jovens.....	25
Figura 2 – Gel de agarose (1,2%) de verificaçãõ da integridade do DNA extraído	27
Figura 3 - Gel de agarose com fragmentos amplificados pelo primer OPA-02 (RAPD) no DNA dos 26 acessos de meloeiro (<i>Cucumis melo</i> L.) do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro.....	31
Figura 4 - Coeficiente de correlaçãõ e número de bandas obtidas para os 26 acessos de meloeiro avaliados do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro.....	33
Figura 5 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA, com base nas distâncias genéticas entre os 26 acessos de meloeiro, estimadas pelo complemento do índice de Jaccard.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados de passaporte dos acessos de meloeiro (<i>Cucumis melo</i> L.) provenientes do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro.....	24
Tabela 2 - Quantificação do DNA extraído de 26 acessos de meloeiro do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro	27
Tabela 3 - Identificação e sequência dos primers RAPD utilizados nas reações de amplificação	28
Tabela 4- Primer, total de bandas geradas, número de bandas polimórficas e polimorfismo obtidos na caracterização molecular.....	30
Tabela 5 - Matriz de distância genética entre os 26 acessos de meloeiro, gerado pelo complemento do índice de Jaccard, com base no polimorfismo dos marcadores RAPD	32
Tabela 6 - Agrupamento dos acessos pelo método de Tocher, com base na matriz de distâncias genéticas entre os 26 acessos de meloeiro avaliados.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAG	Banco Ativo de Germoplasma
CCC	Correlação Cofenética
cm	Centímetro
CTAB	Brometo de Cetiltrimetilamônio
DAS	Dias Após a Semeadura
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
EDTA	Ácido Etileno Diamono Tetracético
kb	Kilobase
m	Metro
mA	Miliampere
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimol
mm	Milimetro
ng	Nanograma
P.A.	Pró-análise
PVP	Polivinilpirrolidona
RAPD	<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>
rpm	Rotação por minuto
sbsp	Subespécie
UPGMA	Método da Ligação Média entre Grupos
Taq	Enzima DNA Polimerase Retirada da Bactéria <i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tris - HCL
V	Volt
var.	Variedade Botânica
W	Watt
µL	Microlitro
µM	Micromol

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
N ₂	Nitrogênio
pH	Potencial Hidrogeniônico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Importância econômica do meloeiro	17
2.2	Aspectos botânicos do meloeiro	17
2.3	Recursos genéticos vegetais	19
2.4	Estudo da divergência genética por marcadores moleculares	21
3.1	Germoplasma	24
3.2	Obtenção do material vegetal	25
3.3	Análise Molecular	26
3.3.1	<i>Extração de DNA genômico</i>	26
3.3.2	<i>Reações de amplificação e eletroforese</i>	27
3.3.3	<i>Análises dos dados moleculares</i>	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O melão é uma das hortaliças de maior relevância para o Nordeste brasileiro, que foi em 2013, responsável por pelo menos 95% da produção nacional. Essa produção está concentrada nos estados do Ceará e do Rio Grande do Norte, que contribuíram com mais de 87% da produção regional (IBGE, 2016).

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma planta dicotiledônea, da família das Curcubitáceas (JEFREY, 1980). É uma espécie diploide com 12 cromossomos ($2n=24$), altamente polimórfica (KARCHI, 2000), apresentando diversas variações em seus caracteres, principalmente nos frutos (STAUB *et al.*, 2002). Segundo a classificação de Pitrat *et al.* (2000), a espécie *C. melo* L. é dividida em 16 variedades botânicas, sendo cinco designadas à subespécie *agrestis* e 11 à subespécie *melo*.

Apesar do grande número de variedades botânicas, a quantidade de genótipos de meloeiro cultivados no Brasil é pequena, apresentando assim, baixa variabilidade genética (QUEIRÓZ, 1999). Isso causa sérios riscos para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas (FALEIRO, 2008).

Os recursos genéticos de plantas são a fração da biodiversidade que tem valor atual ou potencial (ROCHE e DOURBJEANNI, 1984). E o seu estudo pode ser feito nas etapas de coleta/introdução, multiplicação, preservação/conservação, avaliação/caracterização, e uso (HAWKES, 1982).

A caracterização dos recursos genéticos vegetais é uma etapa importante em programas de certificação, melhoramento e conservação de germoplasma. A caracterização permite monitorar a qualidade genética (IBPGR, 1988) e conhecer a variabilidade presente entre os acessos, possibilitando, assim, a identificação e eliminação de duplicatas, ocasionando uma redução nos custos de manutenção dos bancos e das coleções de germoplasma (MACHADO NETO *et al.*, 2002).

A caracterização pode ser morfológica, reprodutiva, agrônômica, bioquímica, citogenética e molecular (VALOIS *et al.*, 2001), dependendo das condições técnicas existentes e da espécie (ANDRADE *et al.*, 2009).

Entre as vantagens da utilização de marcadores moleculares de DNA, pode-se citar a obtenção de um número quase ilimitado de polimorfismos genéticos, sem a influência do ambiente, além de detectarem esse polimorfismo independente do estágio do desenvolvimento da planta ou a partir de cultura de células ou tecidos. Marcadores do tipo *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) são mais apropriados para utilização em estudos de identidade

genética, teste de paternidade e estudos de variabilidade dentro da mesma espécie (FALEIRO, 2007). A técnica que utiliza marcadores moleculares RAPD é simples, com baixo custo e relativamente menos exigência em mão-de-obra (HUFF; PEAKALL; SMOUSE, 1993). É uma técnica que se baseia na amplificação de DNA genômico utilizando *primers* com 10 pares de bases (pb) e de sequência arbitrária. Os marcadores do tipo RAPD têm uma alta sensibilidade na detecção de polimorfismos (LACERDA *et al.*, 2002).

A divergência genética indica o quanto os indivíduos são similares ou dissimilares geneticamente (CAMPBELL; ATCHLEY, 1981). O conhecimento da divergência genética auxilia na identificação de combinações híbridas de maior efeito heterótico, gerando assim, populações segregantes que se tenha maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ; REGAZZI, 1994). Além disso, permite a identificação de duplicatas e auxilia o curador do banco a selecionar quais os melhores acessos para formação de uma coleção nuclear (CROSSA *et al.*, 1995).

Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho estudar a divergência genética de acessos de *Cucumis melo* L. do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro por meio de marcadores RAPD.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância econômica do meloeiro

A cultura do meloeiro tem grande relevância econômica mundial, sendo cultivado em aproximadamente 100 países, tendo como os cinco maiores produtores China, Turquia, Irã, Egito e Índia. Em 2013, alcançou a produção de 29,46 milhões de toneladas, em área colhida correspondente a cerca de 1,2 milhões de hectares, no mundo (FAO, 2016).

O Brasil ocupa a 11ª posição no *ranking* de maiores produtores de melão, sendo responsável por 1,9% (565.900 toneladas) da produção mundial. A produção de melão no Brasil é concentrada na região Nordeste, a qual responde por 95% da produção nacional (IBGE, 2015), com destaque para os estados do Ceará e Rio Grande do Norte, os quais contribuem com 87,7% da produção regional, e com quase a totalidade das exportações (ALICEWEB, 2016). O sucesso da cultura se deve as condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo do meloeiro, ao nível tecnológico e as práticas de manejo adotadas pelos produtores dessa região (MAIA *et al.*, 2013).

O melão é primeiro em volume exportado (196 mil toneladas) e o segundo em valor nas exportações de frutas frescas no Brasil, superado apenas pela manga (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2015). Portanto, pode-se inferir o importante papel da cultura do meloeiro na economia das regiões produtoras, impulsionando geração de emprego e renda e o desenvolvimento local.

2.2 Aspectos botânicos do meloeiro

O meloeiro é uma planta dicotiledônea, pertencente à família das Cucurbitáceas, do gênero *Cucumis* e espécie *Cucumis melo*, que agrupa as subespécies: *Cucumis melo* subsp. *melo* e *Cucumis melo* subsp. *agrestis* (JEFREY, 1980). É uma planta perene na natureza e é explorada comercialmente como anual. Tem caule herbáceo prostrado; folhas alternadas simples, grandes e pecioladas, sendo divididas dentre três a cinco lobos, apresentando ou não pilosidade de textura veludosa (FONTES; PUIATTI, 2005). O sistema radicular é volumoso, com raízes chegando até a profundidade de 1,2 m (MONTEIRO, 2007). Entretanto, a sua profundidade efetiva está nos 30 a 50 cm da superfície do solo (SILVA *et al.*, 2000).

As plantas têm vários tipos de expressões sexuais, podendo ser andromonoica, ginomonoica, ginoica, monoica, e hermafrodita (MATHEW *et al.*, 1986). Segundo Almeida (2006), a grande maioria das cultivares de melão são andromonoicas, com predominância de

flores masculinas, as quais são axilares, compostas por uma corola, que em sua base apresenta um estilete rudimentar, cercado pelos nectários, e um verticilo simples de cinco estames. Elas são agrupadas em uma inflorescência tipo cacho. A flor hermafrodita é composta por uma corola, terminada com um ovário alongado, anteras e um grande estigma com três lobos, na base dos quais existe o nectário (GÓMEZ-GUILLAMÓN *et al.*, 1985). As flores femininas e hermafroditas aparecem comumente nos ramos secundários ou terciários (ALMEIDA, 2006). As flores masculinas são produzidas antes das flores femininas e/ou hermafroditas (ABREU *et al.*, 2008).

A espécie é diploide, com 12 cromossomos ($2n=24$). Por ser altamente polimórfica (KARCHI, 2000), apresenta muitas variações em seus caracteres, principalmente nos frutos (STAUB *et al.*, 2002), que acabou gerando diversas classificações de variedades botânicas de interesse para a agricultura (McCREIGHT *et al.*, 1993). Segundo a classificação de Pitrat *et al.* (2000), a espécie *Cucumis melo* L. foi dividida em 16 variedades botânicas, estando cinco designadas à subespécie *agrestis* (*conomon* Thunberg, *makuwa* Makino, *chinensis* Pangalo, *momordica* Roxburgh, *acidulus* Naudin) e 11 à subespécie *melo* (*cantaloupensis* Naudin, *reticulatus* Seringe, *adana* Pangalo, *chandalak* Pangalo, *ameri* Pangalo, *inodorus* Jacquín, *flexuosus* Linné, *chate* Hasselquist, *tibish* Mohamed, *chito* Morren, *dudaim* Linné).

O centro de origem da espécie, apesar de ainda não estar elucidado, envolve as regiões tropicais e subtropicais da África (AKASHI *et al.*, 2001), de onde foi levado para todas as regiões do mundo a partir da Índia. Também existem teorias que apontam o Oeste da Ásia (ROBINSON; DECKER-WALTER, 1997; BRANDÃO FILHO; VASCONCELOS, 1998). Pitrat *et al.* (2000), citando estudos baseados na avaliação de 4.500 acessos coletados pelo Instituto de Indústria Vegetal da União Soviética em diferentes partes do mundo, propuseram que o melão cultivado hoje tenha surgido na região do Irã, Transcaucásia, Ásia Menor e Índia. Já a sua domesticação ocorreu, independentemente ou em paralelo, na Ásia e na África (MALLICK; MASSUI, 1986).

Segundo Aragão (2010), as cultivares de melão mais comercializados no Brasil são pertencentes às seguintes variedades botânicas:

- *C. melo* var. *inodorus*, Naud.: Frutos sem aroma, apresentando casca lisa ou levemente enrugada, espessa e firme, de coloração amarela, branca ou verde-escura. Seus frutos têm uma longa vida útil pós-colheita, sendo resistentes ao transporte, à compressão e à perda de água. Quando maduros não se desprendem do pedúnculo. A polpa apresenta elevado teor de açúcares, e tem coloração variando entre branca e verde-clara. O peso médio dos frutos varia de 1 a 1,5 Kg

(MENEZES *et al.*, 2000; SILVA; COSTA, 2002; FRUTISÉRIES, 2003). Os melões do tipo Amarelo, Pele de Sapo e Honey Dew são típicos deste grupo taxonômico (MUNGER; ROBINSON, 1991; ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1997).

- *C. melo* var. *cantalupensis*, Naud.: De modo geral, são frutos aromáticos, mais doces que os inodoros, menor período de conservação pós-colheita, e possuem grande diversidade de coloração da polpa. Os frutos podem ter casca recoberta com rendilhamento corticoso, com uma coloração que varia de ligeiramente amarelada à esverdeada, ou casca verde rugosa com gomos ou suturas características no sentido longitudinal. Os frutos rendilhados e os frutos com suturas têm polpa de coloração variando do amarelo ao salmão, e do laranja ao salmão. Apresentam frutos esféricos, ligeiramente achatados, com polpa espessa (≈ 25 mm). O peso médio dos frutos vai de 1 a 1,5 Kg (COSTA; PINTO, 1977; MENEZES *et al.*, 2000; FRUTISÉRIES, 2003). São geralmente chamados de melão Cantaloupe (MUNGER; ROBINSON, 1991; ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1997).

O tipo comercial mais cultivado no Nordeste brasileiro é o Amarelo, seguido pelos tipos Cantaloupe e Pele de Sapo (ARAGÃO, 2010).

2.3 Recursos genéticos vegetais

Os recursos genéticos de plantas podem ser entendidos como a fração da biodiversidade que tem valor atual ou potencial (ROCHE; DOURBJEANNI, 1984). Ou ainda, são as bases da subsistência humana, suprindo as necessidades básicas e ajudando a combater problemas como a fome e a pobreza (JAMARILLO; BAENA, 2000).

A manutenção dos recursos genéticos é extremamente importante para o melhoramento das espécies. No entanto, tais recursos genéticos estão ameaçados de extinção por várias causas, dependendo da espécie e da localização. De outra forma, para algumas espécies, a pequena variabilidade genética existente nos genótipos cultivados é um risco, como para as cucurbitáceas no Brasil, onde uma reduzida quantidade de genótipos de melancia, melão e abóbora é cultivada (QUEIRÓZ, 1999).

A conservação dos recursos genéticos é, atualmente, uma das questões mais importantes e controversas da humanidade, sendo uma prioridade estabelecida e reconhecida em nível mundial, visto que a erosão genética e perda de diversidade são uma realidade cada

vez mais presente, devido às mudanças climáticas e pressões antropogênicas (DRAPER *et al.*, 2004). A conservação de recursos genéticos pode ser entendida como a utilização racional da variabilidade genética existente das espécies para manutenção da mesma, durante o maior tempo possível e em prol do maior número de pessoas (ROCHE, 1978).

A principal forma de conservação praticada nos bancos de germoplasma é a *ex situ*, onde os acessos ficam protegidos em local fora da área de ocorrência natural, ou seja, do seu centro de origem. Já a conservação *in situ* é aquela praticada no local de ocorrência da espécie e de seus parentes silvestres (ROCHE; DOUROJEANNI, 1984). Devido à presença dos patógenos e pragas da espécie no ambiente da conservação *in situ*, pode ser que sua execução se torne mais trabalhosa em relação à conservação *ex situ*. Entretanto, nestas condições a seleção natural atua de forma ininterrupta, permitindo a evolução contínua da espécie (FRANKEL; SOULÉ, 1981).

O estudo dos recursos genéticos é realizado em várias etapas: coleta ou introdução, multiplicação, preservação/conservação, avaliação/caracterização e uso (HAWKES, 1982). A coleta de recursos genéticos pode ser realizada em lavouras familiares, hortas e pomares caseiros, mercados, feiras e nos habitats silvestres (ARAGÃO, 2010). As principais coletas de germoplasma de meloeiro são feitas em propriedades de agricultores (QUEROL, 1993), sendo inseridas em Bancos de Germoplasma, onde deverão passar por outras atividades, dentre elas a caracterização e avaliação (RAMOS *et al.*, 2007).

A caracterização e a avaliação dos diversos acessos de um banco de germoplasma são baseadas no estudo de descritores morfológicos, e em características de interesse da cultura (produtividade, resistência a pragas e doenças, número de sementes por fruto, dentre outras) (KIRKBRIDE, 1993; LIU *et al.*, 2004; MONFORTE *et al.*, 2004).

Atualmente, a caracterização molecular de germoplasma tem sido uma importante ferramenta utilizada em bancos de germoplasma. Alguns estudos nesse sentido promoveram grandes avanços sobre o conhecimento da herdabilidade de caracteres quantitativos, como, por exemplo, estudos de caracteres dos frutos do meloeiro como tamanho, formato, e conteúdo de sólidos solúveis totais (SZABÓ *et al.*, 2005; MONFORTE *et al.*, 2004; LÓPEZ-SESÉ *et al.*, 2002). Além disso, os marcadores moleculares foram mais eficientes do que as características morfoagronômicas na determinação da distância genética de linhas melhoradas e do comportamento de alguns híbridos (GARCIA *et al.*, 1998).

Adicionalmente, a utilização de marcadores moleculares permite realizar vários estudos com base no polimorfismo do DNA, tais como: mapeamento genético, melhoramento de plantas assistido por marcadores, *fingerprinting* de genomas, proteção de cultivares e

investigação do grau de parentesco genético (DE BENEDETTI *et al.*, 2001).

2.4 Estudo da divergência genética por marcadores moleculares

A divergência genética expressa o grau de distanciamento intra ou interespecífico, ou seja, indica o quanto os indivíduos são similares ou dissimilares geneticamente (CAMPBELL; ATCHLEY, 1981).

São empregados diferentes métodos filogenéticos para o estudo e caracterização da divergência genética dentro e entre espécies vegetais (MOREIRA *et al.*, 1994). Esses métodos variam de acordo com o caráter analisado, seja ele de natureza qualitativa ou quantitativa, podendo ser realizadas a partir de caracteres morfológicos, fisiológicos, ecológicos e genético-moleculares, dentre outros (DINIZ FILHO, 2000).

Os marcadores moleculares são ferramentas poderosas na análise filogenética (BUSO, 2005). Devido sua neutralidade seletiva, são bons indicadores da distância genética entre acessos (GONÇALVES, 2007), contribuindo qualitativa e quantitativamente no entendimento da divergência genética das espécies (SPOONER *et al.*, 2005). Tem como base a análise direta do DNA, que além de eliminar as influências ambientais, permite detectar alto nível de polimorfismo e acesso a grande parte do genoma (VIEIRAL; NODARILL, 2007). A análise de polimorfismos de fragmentos de DNA tem sido uma das principais ferramentas em estudos da biodiversidade (CRUZ *et al.* 2011).

Marcadores moleculares do tipo *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) são usados desde o início da década de 90, em estudos de caracterização de germoplasma (TINGEY *et al.*, 1993). As técnicas de RAPD são realizadas via PCR com o uso de *primers* de sequência arbitrária com 10 nucleotídeos (LACERDA *et al.*, 2002), utilizando apenas um tipo de *primer* por reação (FRITSCH e RIESEBERG, 1996). É uma técnica simples, rápida, de baixo custo, que demanda quantidades mínimas de DNA para as análises, possibilita o estudo de espécies sem necessidade de nenhum conhecimento prévio sobre a genética da mesma e tem alta sensibilidade na detecção de polimorfismo. Como desvantagens, os RAPDs são marcadores de caráter dominante, não permitindo a diferenciação de indivíduos heterozigotos, e tem uma baixa reprodutibilidade de algumas bandas (LACERDA *et al.*, 2002).

Os marcadores RADP foram utilizados em diversos estudos de variabilidade genética em meloeiro (DANTAS *et al.*, 2012; LUAN *et al.*, 2008; STAUB *et al.*, 2004; BUSO *et al.*, 2002; STEPANSKY *et al.*, 1999), obtendo resultados satisfatórios na detecção de

polimorfismos.

No estudo da divergência entre acessos com o uso de marcadores dominantes, como o RAPD, técnicas de agrupamento ou de projeção de medidas de dissimilaridade são utilizadas, sendo necessária a construção da matriz de dissimilaridade entre pares de indivíduos por meio de coeficientes adequados (CRUZ *et al.*, 2011).

As medidas de dissimilaridade podem ser estimadas com base em variáveis quantitativas (distância euclidiana ou de Mahalanobis), binárias e multicategóricas (Cole-Rodgers) (CRUZ, 2008). Os marcadores moleculares geram variáveis qualitativas binárias, usadas na montagem da matriz binária, com 0 e 1 indicando, respectivamente, a ausência e presença de bandas, para avaliar a diversidade genética entre acessos, através de coeficientes como o de coincidência simples, Nei e Li e Jaccard (GONÇALVES, 2007).

Coefficientes que não consideram as coincidências do tipo 0-0 para os pares de populações, são mais recomendados, devido a exclusão da co-ocorrência negativa (DUARTE *et al.*, 1999; EMYGDIO *et al.*, 2003; ARRIEL *et al.*, 2004), uma vez que esse tipo de coincidência não significa necessariamente uma característica em comum. Meyer *et al.* (2004) afirmou ser possível escolher qualquer coeficiente entre Jaccard, Sorensen-Dice, Anderberg e Ochiai para obter resultados satisfatórios em estudos de divergência genética, utilizando marcadores dominantes em milho. Duarte *et al.* (1999), utilizando marcadores RAPD, determinou que os coeficientes de Jaccard e Sorensen-Dice são os mais adequados no estudo de divergência genética em feijão. Segundo Meyer *et al.* (2004), o índice de Jaccard, se destaca por excluir essa coincidência negativa, além de ter sua interpretação facilitada, representando a razão entre o número de coincidências (1-1) e o número total de bandas.

A análise de agrupamento permite classificar os genótipos em grupos, de modo que exista uma homogeneidade dentro e uma heterogeneidade entre os grupos formados (CRUZ; CARNEIRO, 2003). Segundo Cruz e Regazzi (2001), os métodos hierárquicos e de otimização de Tocher são mais usuais em estudos de divergência genética, para fins de melhoramento genético.

O método hierárquico agrupa os genótipos por meio de um processo repetido em vários níveis até que se monte um dendrograma, onde a divergência é estudada pelas ramificações da árvore obtida (CRUZ *et al.*; 2011). O método UPGMA ou método de ligação média entre grupos usa as médias aritméticas (não ponderadas) das medidas de dissimilaridade, evitando caracterizar a dissimilaridade por valores extremos entre os objetos estudados (CRUZ *et al.*; 2004).

Entre os vários métodos de agrupamento de otimização, o método de Tocher é o mais

utilizado (CRUZ, 1990). Esse método consiste na divisão do conjunto de genótipos em subgrupos não vazios e mutuamente exclusivos, por meio da maximização ou minimização de algum parâmetro preestabelecido (CRUZ, 1997).

O conhecimento da divergência genética é importante para a conservação e uso racional e sustentável dos recursos genéticos, sejam eles, selvagens ou domesticados (DANTAS *et al.* 2012). O conhecimento da divergência genética permite identificar e eliminar duplicatas dentro do germoplasma conservado, gerando a redução dos custos de manutenção dos bancos, pela redução do número de acessos a serem conservados (VALOIS *et al.*, 1998), além de auxiliar o curador do banco a selecionar quais os melhores acessos para formação de uma coleção nuclear (CROSSA *et al.*, 1995).

O conhecimento da divergência genética também auxilia na identificação de combinações híbridas de maior efeito heterótico, pelo cruzamento entre genitores que apresentem maior distância genética, gerando assim, populações segregantes com maior variabilidade genética, e que se tenha maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ; REGAZZI, 1994; RAO *et al.*, 1981).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Germoplasma

Foram avaliados 26 acessos de meloeiro do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, situado na Embrapa Semiárido em Petrolina - PE.

Os acessos são provenientes de frutos que foram selecionados por agricultores, e que retiravam as sementes para os plantios no ano seguinte. Assim, esses acessos foram submetidos à seleção natural, por exemplo, seleção para estresses bióticos (doenças e insetos) e abióticos (temperatura, restrição hídrica, etc.), além de seleção artificial dos próprios agricultores. Outra questão interessante a ser considerada é que os agricultores permutavam sementes com outros agricultores.

Os genótipos foram caracterizados taxonomicamente, nos anos de 2014 e 2015, na Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Juazeiro - BA. As informações sobre o germoplasma avaliado são apresentadas a seguir (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados de passaporte dos acessos de meloeiro (*Cucumis melo* L.) provenientes do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro

Nº	Acesso	Subespécie	Variedade botânica	Cidade de origem
1	BGMEL 63.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Colinas - RS
2	BGMEL 66.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas - RS
3	BGMEL 67.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas - RS
4	BGMEL 68.1	<i>agrestis</i>	<i>momordica</i>	Colinas - RS
5	BGMEL 68.3	ND	ND	Colinas - RS
6	BGMEL 68.2	<i>agrestis</i>	ND	Colinas - RS
7	BGMEL 78.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Codó - MA
8	BGMEL 79.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Itapecuru Mirim - MA
9	BGMEL 86.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Codó - MA
10	BGMEL 86.2	<i>agrestis</i>	ND	Codó - MA
11	BGMEL 86.3	<i>melo</i>	ND	Codó - MA
12	BGMEL 87.3	ND	ND	São Luis Gonzaga do Maranhão - MA
13	BGMEL 87.1	<i>agrestis</i>	<i>momordica</i>	São Luis Gonzaga do Maranhão - MA
14	BGMEL 87.2	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	São Luis Gonzaga do Maranhão - MA
15	BGMEL 97.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Caxias - MA
16	BGMEL 97.2	<i>melo</i>	ND	Caxias - MA
17	BGMEL 101.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Caxias - MA
18	BGMEL 103.2	ND	ND	Caxias - MA
19	BGMEL 103.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Caxias - MA
20	BGMEL 108.4	ND	ND	Caxias - MA
21	BGMEL 108.3	<i>agrestis</i>	ND	Caxias - MA
22	BGMEL 108.2	<i>melo</i>	ND	Caxias - MA
23	BGMEL 108.1	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Caxias - MA
24	BGMEL 111.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas - RS
25	BGMEL 112.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas - RS
26	BGMEL 115.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	São Vicente Ferrer - PE

Fonte: QUEIRÓZ, M. A.

No estudo, foram utilizadas duas gerações, parental e as respectivas progênes autofecundadas (S_1), onde se observou segregação ou não. Quando houve segregação entre as gerações, cada segregante foi designado com um número acrescentado ao código do acesso. Por exemplo, o BGMEEL 68 apresentou três segregantes, então ele foi designado em BGMEEL 68.1, BGMEEL 68.2 e BGMEEL 68.3. Quando não foi observado segregação, o genótipo foi designado assim como o acesso BGMEEL 63.0.

3.2 Obtenção do material vegetal

Quinze sementes de cada acesso foram semeadas em bandejas de polietileno de 200 células, preenchidas com substrato HS florestal[®] e pó de fibra de coco na proporção 3:1. As bandejas foram mantidas por 24 horas em câmara úmida após a semeadura. Depois desse período, as bandejas foram levadas para casa de vegetação, onde passaram a ser irrigadas diariamente. No décimo dia após a semeadura (DAS) as mudas foram transplantadas para vasos de 300 mL, preenchidos com substrato HS florestal[®], húmus e areia, na proporção 2:1:1, mantendo uma planta por vaso (Figura 1).

Quinze dias após o plantio, foi coletada uma folha jovem de cada repetição para formação de um *bulk* (em duplicata). As folhas de um mesmo acesso foram enroladas em papel alumínio identificado, o qual foi colocado em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido, evitando a degradação do DNA, no transporte ao Laboratório. Logo após, amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C.

Figura 1 - A. Semeadura das sementes, B. Transplântio e C. Folhas jovens.



Fonte: AMORIM, C. C (A); CELIN, E. F. (B e C).

Essa etapa foi realizada em parceria com AMORIM, C. C, em novembro de 2015.

3.3 Análise Molecular

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agroindústria Tropical, conforme as etapas descritas a seguir.

3.3.1 *Extração de DNA genômico*

As folhas jovens (~150 mg) foram maceradas em nitrogênio líquido e transferidas para microtubos estéreis de 2 mL. Após esse processo, foram adicionados 700 µL de tampão de extração CTAB 2% + PVP 1% pré-aquecido e acrescido de 0,2% de β-mercaptoetanol.

Os microtubos foram vertidos e colocados em banho-maria a 65 °C durante 30 minutos, os quais foram homogeneizados manualmente, invertendo os tubos a cada 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 600 µL de solução de clorofórmio e álcool isoamílico, na proporção 24:1 (v/v) nos microtubos. Esses foram homogeneizados, invertendo cerca de 20 vezes. Logo após foram levados à centrífuga (13.000 rpm por cinco minutos). Ao final da centrifugação, a fase aquosa (superior) foi transferida para outro microtubo de 1,5 mL, no qual foi adicionado 400 µL de isopropanol gelado (-20 °C), para precipitar o DNA. Depois, cuidadosamente, a solução foi homogeneizada e levada à centrifugação com 6000-7000 rpm a 3-5 minutos.

Foi descartado o sobrenadante, ficando apenas o pellet formado no fundo de cada tubo. Para limpeza do pellet, adicionou-se 1 mL de etanol 70% gelado nos microtubos, sendo os mesmos deixados imersos durante 5-10 minutos por duas vezes, sempre descartando o etanol 70%. Em seguida adicionou-se 1 mL de etanol P.A. gelado aos microtubos, os deixando imersos por 2-3 minutos. O sobrenadante foi descartado novamente, conservando apenas o pellet no microtubo. Os tubos com as amostras foram deixadas abertas para o pellet secar, e logo após, ressuspendeu-se o DNA em 50 µL do tampão de extração e adicionou-se 1,2 µL RNase (100 mg/mL) nos microtubos, os quais foram incubados à 37 °C em banho-maria por 30 minutos.

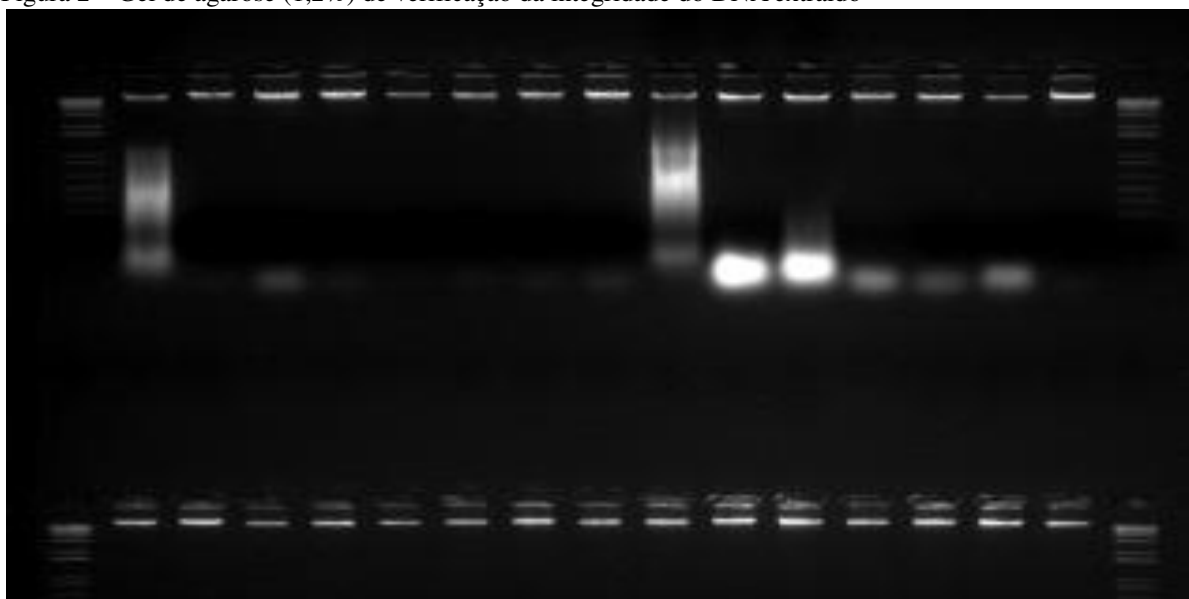
Após a extração, todo o DNA obtido foi quantificado (Tabela 2) por meio do espectrofotômetro NanoDrop® 2000, o qual determina a concentração e pureza do DNA. Também foi feita a verificação da integridade do DNA em gel de agarose (Figura 2). O DNA de todas as amostras foi diluído para a concentração de 10 ng/µL.

Tabela 2 - Quantificação do DNA extraído de 26 acessos de meloeiro do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro

Sample ID	Conc. (ng/μl)	260/280	260/230	Sample ID	Conc. (ng/μl)	260/280	260/230
Branco	0	0.05	-0.07	BGMEL 87.2	2517.2	2.18	2.01
BGMEL 63.0	1970.7	2.21	2.19	BGMEL 97.1	2949.8	2.01	2.13
BGMEL 66.0	2344.6	2.07	2.22	BGMEL 97.2	1940.8	2.12	2.25
BGMEL 67.0	2728.4	2.19	2.18	BGMEL 101.0	2313.2	2.09	2.24
BGMEL 68.1	5825.3	2.02	2.14	BGMEL 103.2	3403	1.94	1.96
BGMEL 68.3	1237	1.86	1.55	BGMEL 103.1	2313.4	2.05	2.19
BGMEL 68.2	2428.6	2.06	2.18	BGMEL 108.4	2787.1	1.98	2.07
BGMEL 78.0	1015.8	2.12	2.18	BGMEL 108.3	1106	2.08	2.15
BGMEL 79.0	2357.3	2.12	2.24	BGMEL 108.2	2591.6	1.9	1.84
BGMEL 86.1	2549.4	2.16	2.09	BGMEL 108.1	2195.9	2.05	2.23
BGMEL 86.2	2303.2	2.21	2.23	BGMEL 111.0	2076.4	2.05	2.18
BGMEL 86.3	2243.5	2.2	2.19	BGMEL 112.0	3027.9	1.97	2.05
BGMEL 87.3	2856.9	2.14	2.11	BGMEL 115.0	2914.4	2.03	2.22
BGMEL 87.1	5805.1	1.98	1.85	-	-	-	-

Fonte: AMORIM, C. C.

Figura 2 – Gel de agarose (1,2%) de verificação da integridade do DNA extraído



Fonte: AMORIM, C. C.

Todo o processo foi desenvolvido por AMORIM, C. C, em dezembro de 2015.

3.3.2 Reações de amplificação e eletroforese

As reações de amplificação com os *primers* RAPD (Tabela 3) foram preparadas para um volume final de 25 μL, com as seguintes concentrações: tampão 1X, MgCl₂ (4mM), dNTP

(0,2 mM), 1 unidade de Taq DNA Polimerase, *primer* (0,8 μ M), 30ng de DNA, e 10,3 μ L água ultrapura para completar o volume.

Tabela 3 - Identificação e sequência dos *primers* RAPD utilizados nas reações de amplificação

RAPD	Sequência (5'-3')	RAPD	Sequência (5'-3')
OPA – 02	TGCCGAGCTG	OPL – 09	TGCGAGAGTC
OPA – 03	AGTCAGCCAC	OPN – 03	GGTACTCCCC
OPA – 08	GTGACGTAGG	OPN – 13	AGCGTCACTC
OPA – 09	GGGTAACGCC	OPN – 14	TCGTGCGGGT
OPAA – 04	AGGACTGCTC	OPO – 10	TCAGAGCGCC
OPAB – 07	GTA AACGCC	OPP – 06	GTGGGCTGAC
OPB – 17	AGGGAACGAG	OPR – 01	TGCGGGTCTCT
OPB – 20	GGACCTTAC	OPW – 03	GTCCGGAGTG
OPD – 02	GGACCCAACC	OPW – 08	GACTGCCTCT
OPD – 20	ACCCGGTCAC	OPW – 09	GTGACCGAGT
OPF – 06	GGGAATTCGG	OPW – 11	CTGATGCGTG
OPF – 12	ACGGTACCAG	UBC – 320	CCGGCATAGA
OPG – 02	GGCACTGAGG	UBC – 322	GCCGCTACTA
OPG – 08	TCACGTCCAC	UBC – 341	CTGGGGCCGT

Fonte: Elaborada pelo autor.

Todas as reações foram conduzidas em termociclador Applied Biosystems, cujo programa de ciclagem foi padronizado para a seguinte programação: pré-desnaturação a 94 °C por cinco minutos, seguido de 40 ciclos a 94 °C por um minuto, 35 °C por um minuto e 72 °C por um minuto, com extensão final de cinco minutos a 72 °C e posterior manutenção da temperatura a 4 °C.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese (140 V, 200 mA, 130 W, 120 min) em gel de agarose a 1,2% (p/v), usando tampão TBE 1X (Tris - Ácido Bórico - EDTA) pH 8,0. Os géis foram corados com brometo de etídio (10 μ L. mL⁻¹) e fotodocumentados em transluminador (Loccus L-PIX CHEMI Molecular Imaging), sob luz ultravioleta. O padrão de peso molecular de 1 kb (Plus DNA Ladder Invitrogen) foi utilizado visando comparação do tamanho dos fragmentos amplificados.

3.3.3 Análises dos dados moleculares

Com os padrões de bandas obtidos com os marcadores RAPD foi montada uma matriz binária de dados, com base na presença (1) e ausência (0) de bandas. Foi calculada a

porcentagem de polimorfismo total e por cada *primer* utilizado, por meio da fórmula:

$$P = \frac{nbp}{ntb}$$

Onde,

P: é o índice de polimorfismo;

nbp: é o número de bandas polimórficas; e

ntb: é o número total de bandas.

Para obtenção da matriz de distâncias genéticas entre os acessos, a dissimilaridade acessos foi calculada utilizando o complemento do coeficiente de Jaccard (S_j), de acordo com a fórmula apresentada abaixo:

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

Em que,

A: presença da mesma banda em ambos os indivíduos (1-1);

B: presença da banda em um indivíduo e ausência no outro (1-0); e

C: ausência da banda em um indivíduo e presença no outro (0-1).

A partir da matriz de dissimilaridade, os acessos foram agrupados por dois métodos: o método de ligação média entre grupos ou UPGMA, em um dendrograma, e pelo método da Otimização de Tocher. Foram estimados a correlação cofenética (CCC) e o estresse para avaliar a eficiência e a confiabilidade da projeção das distâncias genéticas, representadas no dendrograma. Também foi estimado o número ótimo de marcadores para checar se o número de marcadores obtidos era suficiente para realizar o estudo da divergência genética entre os acessos. Todas as análises foram realizadas utilizando o aplicativo computacional GENES (CRUZ, 2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

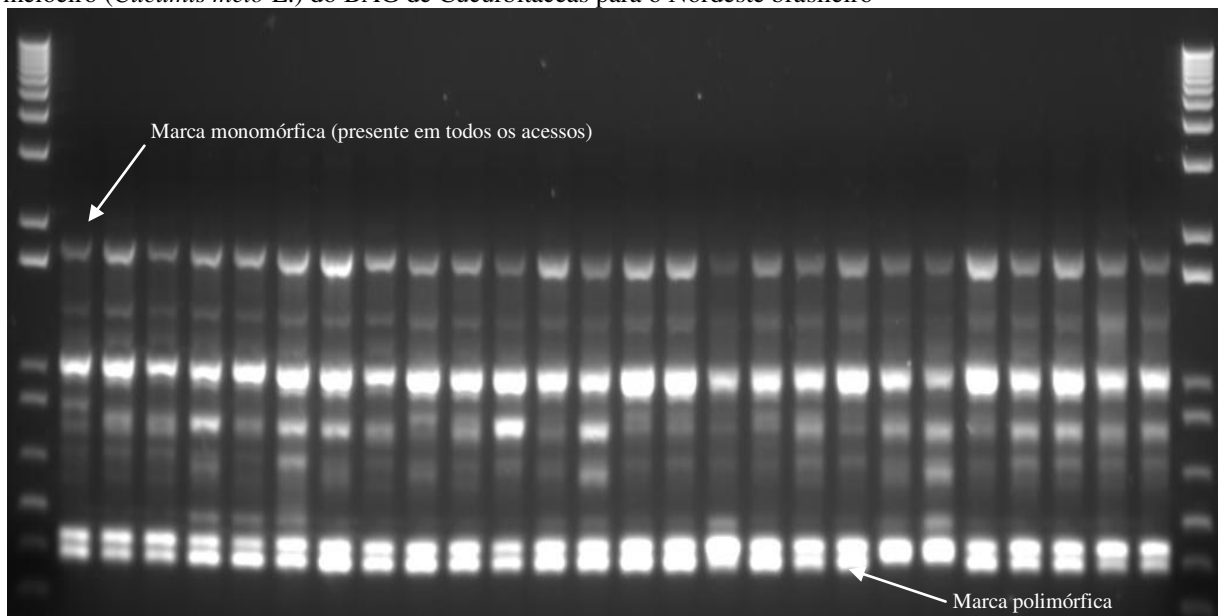
Fragmentos RAPD foram selecionados para análise e detecção de polimorfismo, de acordo com a intensidade da banda no gel (Figura 3). De acordo com as imagens dos géis de eletroforese, foram identificados 359 marcas RAPD, dos quais 242 (67,41%) foram polimórficos, com uma média de 8,64 marcas por *primer*. O maior número de bandas foi gerado pelo *primer* OPD-20, com 22 bandas. O número de bandas polimórficas variou de um (OPAA-04 e UBC-341) a 18 (OPD-02 E OPD-20). Os *primers* que apresentaram maiores índices de polimorfismo foram: OPF-12, OPN-14, OPA-08, OPB-20 e OPD-02 (Tabela 4).

Tabela 4- *Primer*, total de bandas geradas, número de bandas polimórficas e polimorfismo obtidos na caracterização molecular

PRIMER	Nº TOTAL DE BANDAS	Nº DE BANDAS POLIMÓRFICAS	POLIMORFISMO
OPA-02	11	7	0,64
OPA-03	13	4	0,31
OPA-08	13	12	0,92
OPA-09	10	5	0,50
OPAA-04	9	1	0,11
OPAB-07	11	8	0,73
OPB-17	15	10	0,67
OPB-20	16	15	0,94
OPD-02	19	18	0,95
OPD-20	22	18	0,82
OPF-06	13	9	0,69
OPF-12	10	9	0,90
OPG-02	10	4	0,40
OPG-08	10	7	0,70
OPL-09	9	4	0,44
OPN-03	15	13	0,87
OPN-13	17	5	0,29
OPN-14	11	10	0,91
OPO-10	14	11	0,79
OPP-06	11	8	0,73
OPR-01	14	12	0,86
OPW-03	15	10	0,67
OPW-08	14	11	0,79
OPW-09	14	6	0,43
OPW-11	12	6	0,50
UBC-320	10	5	0,50
UBC-322	15	13	0,87
UBC-341	6	1	0,17
Média	12,82	8,64	0,67
Total	359	242	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 3 - Gel de agarose com fragmentos amplificados pelo primer OPA-02 (RAPD) no DNA dos 26 acessos de meloeiro (*Cucumis melo* L.) do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro



Fonte: Elaborada pelo autor.

Dantas *et al.* (2012), em um estudo com 43 genótipos de meloeiro e utilizando 18 *primers* RAPD, geraram 139 marcas polimórficas (96,53%), com uma média de 10,28 marcas polimórficas por *primer*. Luan *et al.* (2008) obtiveram uma média de 1,9 marcas polimórficas em 68 acessos, com emprego de 17 *primers* RAPD. Staub *et al.* (2004) avaliaram 17 acessos de melão com 24 *primers* RAPD, e detectaram 65 marcas polimórficas, com média de 2,4 marcas por *primer*. Buso *et al.* (2002) detectaram 63 marcas polimórficas, com a média de 3 marcas por *primer* (22 *primers*), em 38 acessos. Stepansky *et al.* (1999) obtiveram um polimorfismo de 70% (68 marcas) em 54 acessos de melão, empregando 14 *primers*, que apresentaram a média de 6,9 marcas por *primer*. Assim, pode ser observado que o polimorfismo identificado nos estudos de divergência genética, utilizando marcadores RAPD, em meloeiro é bastante variável, possivelmente, devido ao grupo de genótipos avaliados, que podem apresentar maior ou menor variabilidade genética entre os acessos. Nesse trabalho o nível de polimorfismo identificado pelos *primers* utilizados foi superior ao encontrado pela maioria dos autores citados, mostrando que o grupo de acessos avaliados apresenta grande variabilidade genética.

A matriz binária de dados foi utilizada para construção da matriz de distâncias genéticas (Tabela 5), utilizando o complemento do índice de Jaccard. Esse índice é recomendado para estudos de divergência genética por exclusão da coincidência do tipo (0-0), além de ter sua interpretação facilitada, representando a razão entre o número de coincidências (1-1), e o número total de bandas (1-1, 1-0 e 0-1) (MEYER *et al.*, 2004).

Tabela 5 - Matriz de distância genética entre os 26 acessos de meloeiro, gerado pelo complemento do índice de Jaccard, com base no polimorfismo dos marcadores RAPD

BGMEL																								Acessos	
66.0	67.0	68.1	68.3	68.2	78.0	79.0	86.1	86.2	86.3	87.3	87.1	87.2	97.1	97.2	101.0	103.2	103.1	108.4	108.3	108.2	108.1	111.0	112.0	115.0	
0,27	0,27	0,25	0,21	0,28	0,17	0,27	0,18	0,20	0,16	0,25	0,22	0,19	0,19	0,22	0,14	0,20	0,15	0,24	0,26	0,19	0,28	0,30**	0,27	0,26	BGMEL 63.0
	0,09*	0,23	0,25	0,15	0,26	0,12	0,26	0,19	0,27	0,22	0,24	0,27	0,28	0,25	0,26	0,20	0,24	0,24	0,24	0,25	0,15	0,14	0,14	0,15	BGMEL 66.0
		0,23	0,24	0,18	0,28	0,14	0,27	0,18	0,27	0,24	0,25	0,29	0,28	0,24	0,26	0,22	0,24	0,25	0,22	0,27	0,16	0,13	0,15	0,15	BGMEL 67.0
			0,16	0,17	0,18	0,25	0,23	0,21	0,23	0,19	0,15	0,26	0,24	0,28	0,22	0,22	0,23	0,18	0,17	0,22	0,24	0,23	0,23	0,23	BGMEL 68.1
				0,22	0,18	0,26	0,21	0,19	0,21	0,19	0,18	0,22	0,24	0,25	0,21	0,23	0,20	0,21	0,18	0,19	0,24	0,25	0,24	0,23	BGMEL 68.3
					0,23	0,16	0,25	0,18	0,26	0,18	0,20	0,28	0,24	0,26	0,24	0,19	0,24	0,20	0,21	0,23	0,17	0,14	0,16	0,17	BGMEL 68.2
						0,28	0,20	0,20	0,19	0,20	0,17	0,23	0,18	0,24	0,14	0,22	0,18	0,21	0,22	0,19	0,28	0,29	0,27	0,27	BGMEL 78.0
							0,27	0,20	0,28	0,25	0,26	0,29	0,27	0,26	0,25	0,21	0,23	0,27	0,23	0,27	0,16	0,15	0,16	0,15	BGMEL 79.0
								0,19	0,18	0,21	0,20	0,20	0,17	0,22	0,14	0,22	0,17	0,20	0,25	0,16	0,26	0,26	0,27	0,26	BGMEL 86.1
									0,21	0,19	0,19	0,24	0,22	0,23	0,18	0,18	0,17	0,20	0,22	0,21	0,20	0,21	0,19	0,20	BGMEL 86.2
										0,23	0,20	0,19	0,21	0,24	0,16	0,21	0,19	0,21	0,22	0,20	0,28	0,29	0,28	0,27	BGMEL 86.3
											0,17	0,24	0,23	0,26	0,20	0,22	0,21	0,21	0,21	0,21	0,23	0,23	0,22	0,25	BGMEL 87.3
												0,21	0,22	0,26	0,18	0,22	0,20	0,17	0,19	0,17	0,24	0,25	0,23	0,24	BGMEL 87.1
													0,22	0,24	0,19	0,23	0,21	0,23	0,25	0,19	0,28	0,29	0,26	0,27	BGMEL 87.2
														0,22	0,13	0,22	0,16	0,23	0,25	0,20	0,27	0,26	0,27	0,27	BGMEL 97.1
															0,17	0,24	0,17	0,22	0,26	0,22	0,26	0,26	0,26	0,25	BGMEL 97.2
																0,18	0,13	0,19	0,24	0,17	0,26	0,27	0,25	0,27	BGMEL 101.0
																	0,19	0,22	0,23	0,21	0,18	0,18	0,18	0,20	BGMEL 103.2
																		0,20	0,23	0,18	0,24	0,24	0,25	0,25	BGMEL 103.1
																			0,16	0,19	0,24	0,23	0,22	0,23	BGMEL 108.4
																				0,21	0,22	0,21	0,23	0,22	BGMEL 108.3
																					0,27	0,26	0,25	0,23	BGMEL 108.2
																						0,09	0,11	0,13	BGMEL 108.1
																							0,11	0,10	BGMEL 111.0
																								0,10	BGMEL 112.0

Fonte: Elaborada pelo autor.

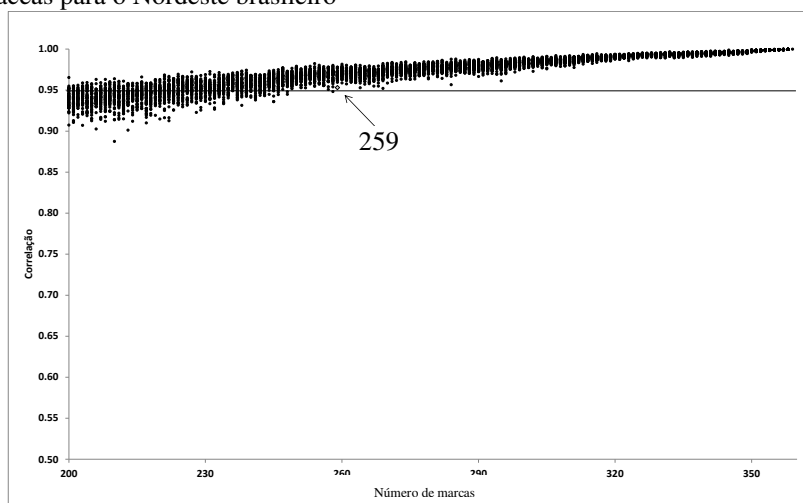
* e ** Mínima e máxima distâncias entre os acessos avaliados, respectivamente.

A partir da matriz de distâncias genéticas, observou-se que os acessos divergem entre si. Tal conhecimento assegura a ausência de duplicatas dentro do germoplasma avaliado. A presença de duplicatas acarretaria o aumento dos custos de manutenção do banco, pelo maior número de acessos a serem conservados (VALOIS *et al.*, 1998). A distância genética média entre os genótipos foi 0,22, com mínima distância entre os acessos BGMEEL 66.0 e BGMEEL 67.0 (0,09) e a máxima entre BGMEEL 63.0 e BGMEEL 111.0 (0,30). O acesso BGMEEL 97.2 foi o que mais se distanciou dos demais acessos avaliados. Os acessos BGMEEL 66.0 e BGMEEL 67.0 são pertencentes ao mesmo grupo taxonômico (sbsp *agrestis* var *makuwa*), evidenciando assim que a semelhança detectada na caracterização molecular pela matriz de distâncias genéticas, também é vista pela classificação taxonômica entre esses dois acessos.

O conhecimento da divergência genética auxilia na identificação de possíveis cruzamentos, que sejam mais adequados no aproveitamento da heterose (OLIVEIRA *et al.*, 1996). Assim, os acessos BGMEEL 63.0 e BGMEEL 111.0 (sbsp *melo* var *cantalupensis* e sbsp *agrestis* var *makuwa* respectivamente) são os mais indicados para um possível cruzamento, que gere alta variabilidade nas populações segregantes e maior efeito heterótico, por apresentarem maior distância genética dentre os acessos estudados.

A correlação entre a matriz gerada a partir das 259 marcas e a matriz de distância genética considerando todas as bandas foi maior que 0,95, considerando 50 simulações (Figura 4). Portanto, 259 é o número ótimo de marcas para esse estudo de divergência genética, mostrando que a quantidade de marcas utilizadas nesse estudo foi mais do que suficiente.

Figura 4 - Coeficiente de correlação e número de bandas obtidas para os 26 acessos de meloeiro avaliados do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro

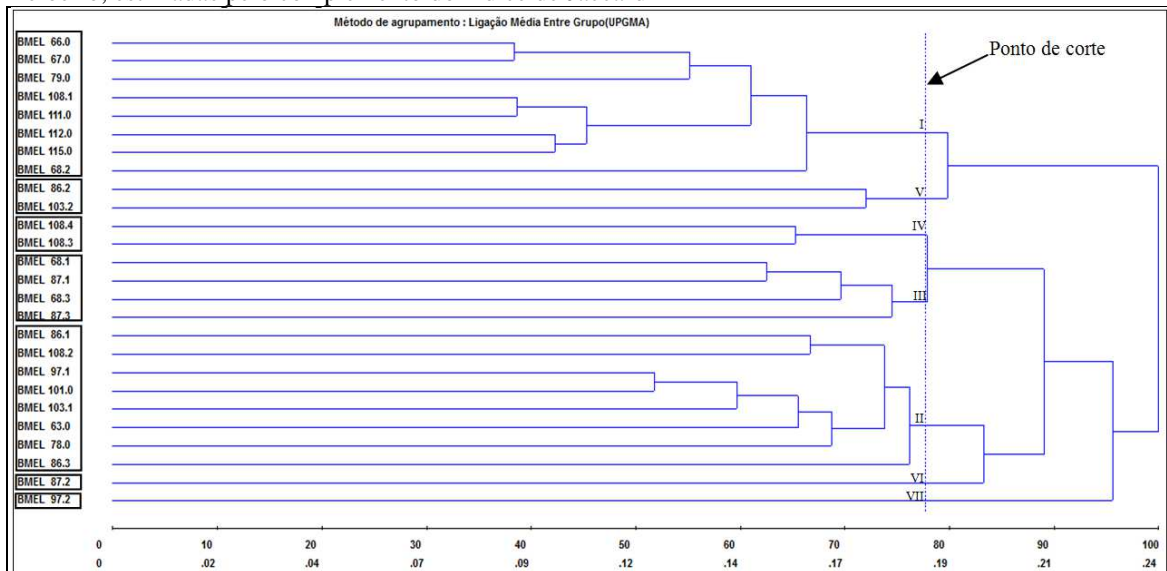


Fonte: Elaborada pelo autor.

Com base na matriz de distâncias genéticas, foi obtido o dendrograma de dissimilaridade dos genótipos, gerado por meio do método UPGMA (Figura 5).

O dendrograma apresentou correlação cofenética (CCC) de 0,83, valor que evidencia a confiável representabilidade entre a matriz de distâncias original e a representação gráfica do dendrograma (ROHFL; FISHER, 1968). Em geral, valores de CCC inferiores a 0,7 indicam a inadequação do método de agrupamento para representar a informação dada pela matriz de distâncias genéticas (ROHFL, 1970). O nível de estresse obtido (10,63%) indica uma boa precisão de ajuste da projeção gráfica da matriz de distâncias genéticas (KRUSHAL, 1964). Os acessos foram agrupados em sete grupos, considerando a distância genética de 0,189 como ponto de corte no dendrograma, correspondendo a 77,87% de dissimilaridade.

Figura 5 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA, com base nas distâncias genéticas entre os 26 acessos de meloeiro, estimadas pelo complemento do índice de Jaccard



Fonte: Elaborada pelo autor.

Ao adotar o ponto de corte de 0,189, os métodos de agrupamento UPGMA e a Otimização de Tocher (Tabela 6) corroboram quanto aos grupos formados, ou seja, agruparam os mesmos acessos nos mesmos grupos.

Nos grupos I e II foram alocados 61,54% dos genótipos, sendo constituído por oito acessos de meloeiro cada um. O Grupo III foi formado por quatro acessos (15,38%); os grupos IV e V por dois acessos cada um (7,7%) e, os grupos restantes (VI e VII) foram formados por acessos únicos (3,84%).

Tabela 6 - Agrupamento dos acessos pelo método de Tocher, com base na matriz de distâncias genéticas entre os 26 acessos de meloeiro avaliados

GRUPO	ACESSOS
I	BGMEL 66.0, BGMEL 67.0, BGMEL 79.0, BGMEL 111.0, BGMEL 115.0, BGMEL 112.0, BGMEL 108.1, BGMEL 68.2
II	BGMEL 97.1, BGMEL 101.0, BGMEL 103.1, BGMEL 63.0, BGMEL 86.1, BGMEL 78.0, BGMEL 108.2, BGMEL 86.3
III	BGMEL 68.1, BGMEL 87.1, BGMEL 68.3, BGMEL 87.3
IV	BGMEL 108.4, BGMEL 108.3
V	BGMEL 86.2, BGMEL 103.2
VI	BGMEL 87.2
VII	BGMEL 97.2

Fonte: Elaborada pelo autor.

Todos os acessos que formaram o grupo I pertencem, a subespécie *agrestis* e a variedade botânica *makuwa*, com exceção do acesso BGMEL 68.2 que não teve sua variedade botânica definida. No grupo II, de forma semelhante, os acessos pertencem à subespécie *melo* e a variedade botânica *cantalupensis*, exceto pelos acessos BGMEL 86.3 e BGMEL 108.2, também sem variedade botânica definida. Os genótipos BGMEL 68.1 e BGMEL 87.1, da subespécie *agrestis* var. *momordica*, foram agrupados no Grupo III. Os outros dois componentes do Grupo III também não foram definidos taxonomicamente. O grupo IV reuniu os acessos BGMEL 108.3 (sbsp. *agrestis*) e BGMEL 108.4 (não definido). O grupo V foi composto pelos genótipos BGMEL 86.2 (sbsp. *agrestis*) e BGMEL 103.2 (não definido). O acesso BGMEL 87.2 (sbsp. *melo* var. *cantalupensis*) formou o Grupo VI e o acesso BGMEL 97.2 (sbsp. *melo*) formou o Grupo VII.

Em estudos anteriores de divergência genética em meloeiro com uso de marcadores moleculares, acessos do mesmo grupo botânico foram reunidos em diferentes grupos com acessos de outros grupos botânicos (STAUB *et al.*, 2000; KAÇAR *et al.*, 2012; ARAGÃO *et al.* 2013).

Em contrapartida, Garcia *et al.* (1998) avaliou a divergência genética, por meio de marcadores RAPD e caracteres agronômicos de 32 linhagens de meloeiro, e obteve os agrupamentos de acordo com o tipo varietal do germoplasma avaliado.

Nesse trabalho, todos os grupos formados apresentam acessos pertencentes à mesma subespécie e a mesma variedade botânica, excetuando aqueles cuja classificação não foi definida. Isso sugere a possibilidade dos acessos não definidos serem da mesma subespécie e/ou variedade botânica dos demais integrantes do grupo. Isso evidencia uma associação dos marcadores RAPD com a classificação taxonômica nesse trabalho.

Outro ponto a ser observado é a relação do local de origem como indicador de

divergência genética, pois genótipos de diferentes procedências geográficas nem sempre indicam maior distância genética (CRUZ; CARNEIRO, 2003). A ocorrência de semelhança entre genótipos coletados em regiões diferentes podem ser explicados pela forte troca de sementes entre agricultores (ROMÃO, 1995) e pelo tipo de agricultura tradicional no Nordeste brasileiro ser um *continuum* (SILVA *et al.*, 2006). Também é importante salientar que no meloeiro, como na maioria das cucurbitáceas, a polinização depende de polinizadores bióticos (KRÍSTKOVA *et al.*, 2003), principalmente abelhas da espécie *Apis mellifera* (SOUSA *et al.*, 2009), o que também favorece o transporte de pólen a longas distâncias. Nesse trabalho, foram observados grupos formados por genótipos de diferentes locais, e genótipos de mesmo local que foram alocados em grupos diferentes.

5 CONCLUSÃO

Há variabilidade genética entre os genótipos estudados;

Os acessos BGMEL 63.0 e BGMEL 111.0 são mais indicados para cruzamentos que visem gerar variabilidade;

Houve forte associação entre a classificação taxonômica e o agrupamento dos acessos por meio de marcadores RAPD;

A procedência geográfica dos acessos não foi um indicador das distâncias genéticas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, T.B.; NUNES, G.H.D E S. DANTAS, M.S.M.; COSTA FILHO, J.H.; COSTA, G.G.; ARAGÃO, F.A.S. **Fenologia floral, viabilidade do grão de pólen e receptividade do estigma do meloeiro**. Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture. v.52, p. 43-46, 2008. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11763/1/PC09012.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.
- AKASHI, Y.; FUKUDA, N.; WAKO, T.; MASUDA, M.; KATO, K. Genetic variation and phylogenetic relationships in East and South Asian melons, *Cucumis melo* L., based analysis of five isozymes. **Euphytica**, v. 125, n. 1, p. 385-396, 2001. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1016086206423>>. Acesso em: 08 maio. 2016.
- ALICEWEB/MDIC - **Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior/Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br//index/home>>. Acesso em: 15 abr. 2016.
- ALMEIDA, D. (2006). **Manual de Culturas Hortícolas – Volume II**. 1st edition. Editorial Presença. Lisboa. Pág 326 ISBN: 9722335685.
- ANDRADE, R.A. *et al.* Caracterização morfológica de plantas de rambutam. **Acta Scientiarum**. Agronomy. v.31, n:4, p. 613-619. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/asagr/v31n4/a10v31n4.pdf>>. Acesso em: 23 maio. 2016.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA: BRAZILIAN FRUIT YEARBOOK 2015. **Porção equilibrada**. Editora Gazeta Santa Cruz Ltda., p. 29-31, 2015. Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/tratadas/eo_edicao/4/2015/03/20150301_106c8c2f1/pdf/4718_2015fruticultura.pdf>. Acesso em: 08 maio. 2016.
- ARAGÃO, F. A. S.; TORRES FILHO, J.; NUNES, G. H. S.; QUEIRÓZ, M. A.; BORDALLO, P. N.; BUSO, G. S. C.; FERREIRA, M. A.; COSTA, Z. P.; BEZERRA NETO, F. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. **Genetics and Molecular Research** 12: 6356-6371, 2013. Disponível: <<http://www.funpecpr.com.br/gmr/year2013/vol12-4/pdf/gmr3481.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2016.
- 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. Disponível em: <http://btd.ufersa.edu.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=109>. Acesso em: 08 maio. 2016.
- ARRIEL, N. H. C.; DI MAURO, A. O.; CRUZ, C. D.; DI MAURO, S. M. Z.; COSTA, M. M.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; CAPELOTO, A. Comparison of similarity coefficients in sesame cultivars clustering using RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, p. 192-199, 2004.
- BRANDÃO FILHO, J. V. T.; VASCONCELLOS, M. A. S. A. Cultura do meloeiro. In GOTO, R.; TIVELLI, S. W. (Ed). **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. São Paulo:Fundação Editora da UESP.1998. Cap 6, p. 161 – 193.

BUSO, G. S. C. **Marcadores Moleculares e Análise Filogenética**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 22 p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355163/2021925/doc137.pdf/deb86efd-2ca9-4b1b-b241-45a719d33729>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

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. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002. 19p. (Boletim de Pesquisa, 35). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355163/2019007/bpd035.pdf/a4ee8a52-23b3-4192-90ae-ad96254db58a>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

CAMPBELL, N. A., ATCHLEY, W. R. (1981). The geometry of canonical variate analysis. **Systematic Biology**, 30(3), 268-280. Disponível em: <<http://sysbio.oxfordjournals.org/content/30/3/268.full.pdf>> Acesso em: 06 jun. 2016.

CELIN, E. F.; PASTORI, P. L.; NUNES, G. H. S.; ARAGÃO, F. A. S. Agronegócio brasileiro do melão na última década. 2014. **Horticultura Brasileira** 31: S0246 – S0253. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/133396/1/ART15024.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

CONTE, R.; REIS, M.S.; VENCOVSKY, R. Effects of management on the genetic structure of *Euterpe edulis* Mart. Populations based on microsatellites. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.72, p.81-88, 2006. Disponível em: <http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/bitstream/handle/123456789/16932/Scientia_Forestalis_n72_p81-88_2006.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 23 maio. 2016.

COSTA, C. P. D.; PINTO, C. A. B. P. **Melhoramento de Hortaliças**. Piracicaba: ESALQ, 1977.

CROSSA, J., DELACY, I. H., TABA, S. (1995) **The use of multivariate methods in developing a core collection**. In: RAMOS, S.R.R.; QUEIRÓZ, M.A. de; CASALI, V.W.D.; CRUZ, C.D. Divergência genética em germoplasma de abóbora procedente de diferentes áreas do Nordeste. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 195-199, Nov. 2000.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO P. C. S. (2003) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV. v.2. 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. (2004) **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa: UFV, v. 1, 3 ed. 480p.

CRUZ, C. D. , REGAZZI, A. J. (2001) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2. ed. rev. 390p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. (1994) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, Imprensa Universitária, 1994. 490 p.

CRUZ, C. D., CARNEIRO, P. C. S. (2003) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, v.2, 585p.

CRUZ, C. D. (1990) **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de**

plantas. Tese (Doutorado) Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 188 p.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F.M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética.** Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 620p.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum.** v.35, n.3, p.271-276, 2013

CRUZ, C. D. **Programa genes:** aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2008.

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

CUI, Z.; CARTER, T. E.; BURTON, J. W.; WELLS, R. Phenotypic diversity of modern Chinese and North American soybean cultivars. **Crop Science**, Saint Paul, v.41, p.1954-1967, 2001. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/41/6/1954?access=0&view=pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

DANTAS, A. C. A.; NUNES, G. H. S.; ARAÚJO, I. S.; ALBUQUERQUE, L. B. Caracterização molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 183-189, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v34n1/v34n1a25.pdf>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

DE BENEDETTI, L.; MERCURI, A.; BRUNA, S.; BURCHI, G.; SCHIVA, T. Genotype identification of ornamental species by RAPD analysis. **Acta Horticulturae**, v. 546, p. 391-394, 2001. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/546/546_49.htm>. Acesso em: 08 maio. 2016.

DINIZ FILHO, J. A. F. **Métodos filogenéticos comparativos.** Ribeirão Preto: Holos, 2000. 120 p.

DRAPER, D.; MARQUES, A.; GRAELL, A.; COSTA, F.; & MARTINS-LOUÇÃO, M. 2004. **Conservação de recursos genéticos: O Banco de sementes António Luís Belo Correia** (on line). Lisboa: Jardim Botânico-Museu Nacional de História Natural. Disponível em: <<http://webpages.fc.ul.pt/~maloucao/ColecoesBS.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

DIAS L.A.S.; Análises multidimensionais. In: **Alfenas AC (Ed.) Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos.** Editora UFV, Viçosa, p. 405-475, 1998.

DUARTE, M. C.; SANTOS, J. B.; MELO, L. C. Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 427-432, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/gmb/v22n3/22n3a24.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

EMYGDIO, B. M.; ANTUNES, I. F.; CHOEL, E.; NEDEL, J. L. Eficiência de coeficientes de similaridade em genótipos de feijão mediante marcadores RAPD. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 38, p. 243-250, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v38n2/v38n2a11.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

EVERITT, B.S. **Cluster analysis**. Cambridge, Edward Arnold, University Press, 1993. 170p.

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 microssatélites. **Agrotropica**, Salvador, v.1, p. 86-88, 2001. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/Agrotropica/volume%2013%20n2/artigo%205.pdf>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

FALEIRO, F. G. **Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p. . Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/download/1368/t>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

FALEIRO, F. G. **Preservação da variabilidade genética de plantas: um grande desafio**. Disponível em: <<http://www.boletimpecuario.com.br/artigos/showartigo.php?arquivo=artigo350.txt&tudo=sim>>. Acesso em: 8 maio. 2016.

FAOSTAT/FAO - **Divisão de Estatística da FAO/Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3º ed. Brasília: EMBRAPA, CENARGEN, 1998, 220p. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Dario_Grattapaglia/publication/264343631_Introducao_ao_uso_de_marcadores_moleculares_em_analise_genetica/links/53e245d90cf2235f352c2ac1.pdf?inViewer=0&pdfJsDownload=0&origin=publication_detail>. Acesso em: 23 maio. 2016.

FRITSCH, P.; RIESEBERG, L. H. 1996. The use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) in conservation genetics. In: SMITH, T. B.; WAYNE, R. K. (Ed.). **Molecular genetic approaches in conservation**, New York: Oxford University Press, pp. 54-73.

FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M. **Cultura do Melão**. In: FONTES, P. C. R. (ed). **Olericultura: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2005. Cap. 26. P 407-428.

FRANKEL, O. H. & SOULÉ, M.E. 1981. **Conservation and Evolution**. Cambridge University Press. Cambridge, 327p. Disponível em: <<http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=4966504>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

FRUTISÉRIES, FrutiSéries 2: **Ceará-Melão**, Brasília, Setembro, 2003. Disponível em: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1497.pdf>. Acesso em: 08 maio. 2016.

GARCIA, E.; JAMILENA, M.; ALVAREZ, J. I.; ARNEDO, T.; OLIVER, J. L.; LOZANO, R. Genetic relationships among melon breeding lines revealed by RAPD markers and agronomic traits. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 96, p. 878-885, 1998. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?rep=rep1&type=pdf&doi=10.1.1.14.4065>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

GÓMEZ-GUILLAMÓN, M. L.; ABADÍA, J.; CUARTERO, J.; CORTÉS, C.; NUEZ, F. Characterization of melon cultivars. **Cucurbits Genetics Cooperative Report**, v. 8, p. 39-40, 1985. Disponível em: <<http://cuke.hort.ncsu.edu/cgc/cgc08/cgc8-15.html>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

GONÇALVES, L. S. A. **Estimativa da divergência genética entre acessos de tomateiro por marcadores RAPD**. 207. 80p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos do Goytacazes-RJ, 2007. Disponível em: <<http://uenf.br/pos-graduacao/gmp/files/2012/01/Tese-de-MS-Leandro-Sim%C3%B5es-A-Gon%C3%A7alves.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

GUIS, M.; ROUSTAN, J. P.; DOGIMONT, C.; PITRAT, M.; PECH, J. C. Biochemical and molecular markers. **Melon Biotechnology**. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, v. 15, 1998, p. 304- 311. Disponível em: <<http://www.nottingham.ac.uk/nmh/documents/bger/volume-15/bger15-10.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

HAWKES, J. G. Germplasm collection, preservation, and use. In: FREY, K. J., ed. **Plant Breeding II**. Ludhiana: Kalyani Publishers, 1982. p. 57-83.

HUFF, D.R.; PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalo grass [*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm]. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 86, p. 927-934, 1993. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00211043>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

IBPGR-International Board for Plant Genetic Resources. **Descriptors for citrus**. Rome, 1988. Disponível em: <http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNABB295.pdf>. Acesso em: 23 maio. 2016.

JARAMILLO, S.; BAENA, M. **Conservación ex situ de recursos fitogenéticos**. Roma: IPGRI, 2000. 209p. Disponível em: <http://www.biodiversityinternational.org/uploads/tx_news/Manual_de_apoio_%C3%A0_forma%C3%A7%C3%A3o_e_treino_em_conserva%C3%A7%C3%A3o_ex_situ_de_recurso_fitogen%C3%A9ticos_915.pdf>. Acesso em 08 maio. 2016.

JEFREY, C. A review of the cucurbitaceae. **Botanic Journal Linneus Society**, v. 81, n. 2., p. 233-247, 1980. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.1980.tb01676.x/pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

KAÇAR, Y. A. *et al.* Genetic diversity among melon accessions (*Cucumis melo*) from Turkey based on SSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 4, p. 4622-4631, 2012. Disponível em: <<http://www.geneticsmr.com/year2012/vol11-4/pdf/gmr2144.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2016.

KARCHI, Z. Development of melon culture and breeding in Israel. Proceedings of 7th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. **Acta Horticulture**, v.510, p. 13-17, 2000. Disponível em: <http://www.actahort.org/members/showpdf?booknr=510_1>. Acesso em: 08 maio. 2016.

KIRKBRIDE, J. H. Jr. 1993. **Biosystematics monograph of the genus Cucumis (Cucurbitaceae)**: botanical identification of cucumbers and melons. North Carolina: Parkway Publishers. 156p. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=->>

6rIPLDYg_4C&oi=fnd&pg=PR9&dq=Biosystematics+monograph+of+the+genus+Cucumis+(Cucurbitaceae):+botanical+identification+of+cucumbers+and+melons.&ots=nG18Gq8TF-&sig=G_2GdKWYCLuVeQk4IgoHeTbB8A#v=onepage&q=Biosystematics%20monograph%20of%20the%20genus%20Cucumis%20(Cucurbitaceae)%3A%20botanical%20identification%20of%20cucumbers%20and%20melons.&f=false>. Acesso em: 08 maio. 2016.

KRISTKOVA, E.; LEBADA, A.; VINTER, V.; BLAHOUSEK, O. Genetic resources of the genus *Cucumis* and their morphological description. **Horticultural Science**, v. 30, n. 1. 2003. Disponível em: <<http://agriculturejournals.cz/publicFiles/51564.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2016.

KRUSKAL J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, Williansburg, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02289565>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

KOTTAPALLI, K.R.; BUROW, M.D.; BUROW, G.; BURKE, J.; PUPPALA, N. Molecular characterization of the U.S. peanut mini core collection using microsatellite markers. **Crop Science**, v.47, p.1718-1727, 2007. Disponível em: <<http://naldc.nal.usda.gov/naldc/download.xhtml?id=11603&content=PDF>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; LEMOS FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. **Lundiana** 3(2):87-92, 2002. Instituto de Ciências Biológicas – UFMG. ISSN 1676-6180. Disponível em: <<http://www2.icb.ufmg.br/lundiana/full/vol322002/1.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2016.

LIU, L.; KAKIHARA, F.; KATO, M. Characterization of six varieties of *Cucumis melo* L. based on morphological and physiological characters, including shelf-life of fruit. **Euphytica**, v. 135, p. 305-313, 2004. Disponível em: <<http://link-springer-com.ez11.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1023%2FB%3AEUPH.0000013330.66819.6f.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

LOARCE, Y., GALLEGO, R., FERRER, E. (1996) A comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. **Euphytica**, Wageningen, 88:107-115. Disponível em: <<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF00032441.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

LÓPEZ-SESÉ, A. I.; STAUB, J. E.; 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. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/226469315_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>. Acesso em: 08 maio. 2016.

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**, Wageningen, v. 164, n. 2, p.445–446, 2008;

MACHADO NETO, N.B. *et al.* Brachiaria access germplasm distinction using SDS PAGE.

Acta Scientarium. Agronomy, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1439-1445, 2002. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/viewFile/2399/1802>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MALLICK, M. F. R.; MASSUI, M. Origin, distribution and taxonomy of melons. **Scientia Horticulture**, v. 28, n. 1, p. 251-261, 1986. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com.ez11.periodicos.capes.gov.br/0304423886900075/1-s2.0-0304423886900075-main.pdf?_tid=d16dd67a-154f-11e6-972e-00000aab0f01&acdnat=1462734504_3ddb241ea49f28aab3e50efe095896d3>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MARIM, B. G.; SILVA, D. J. H.; CARNEIRO, P. C. S.; MIRANDA, G. V.; MATTEDI, A. P.; CALIMAN, F. R. B. Variabilidade genética e importância relativa de caracteres em acessos de germoplasma de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 10, p. 1283-1290, set. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v44n10/v44n10a11.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MATHEW, S. M.; GOPALAKRISHNAN, P. K.; PETER, K. V. Compatibility among *Cucumis melo* varieties inodorus, conomon, flexuosus, momordica and utilissimus. **Cucurbits Genetics Cooperative Report**, v. 9, p. 78-80, 1986. Disponível em: <<http://cuke.hort.ncsu.edu/cgc/cgc09/cgc9-24.html>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

McCREIGHT, J. D.; NERSON, H.; GRUMET, R. Melon, *Cucumis melo* L. In: KALLOS, G.; BERGH, B. O. (eds) Genetics improvement of vegetable crops. **Pergamon Press**, New York, 1993. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=oh1S2zLjAGsC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Genetics+improvement+of+vegetable+crops.+&ots=oT6L5zcQWb&sig=ES6OAVAvr44xWAZ84iWrZtWkk-U#v=onepage&q=Genetics%20improvement%20of%20vegetable%20crops.&f=false>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MENEZES, J.B.; FILGUEIRAS, H.A.C.; ALVES, R.E.; MAIA, C. E.; ANDRADE, G.G.; ALMEIDA, J.H.S.; VIANA, F.M.P. **Características do melão para exportação**. In: ALVES, R.E. (Org.). **Melão: pós colheita**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 2000. p.13-22. (Frutas do Brasil, 10). Disponível em: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1472.pdf>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MEYER, A. S.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P.; SOUZA JÚNIOR, C. L. Comparison of similarity coefficients used for cluster analysis with dominant markers in maize (*Zea mays* L.). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, p. 83-91, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/gmb/v27n1/a14v27n1.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MONFORTE, A. J.; OLIVER, M.; GONZALO, M. J.; ALVAREZ, J. M.; DOLCET-SANJUAN, R.; ARUS, P. Identification of quantitative trait loci involved in fruit quality traits in melon. (*Cucumis melo* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, p. 750-758, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00122-003-1483-x.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MONTEIRO, R. O. C. **Influência do gotejamento subterrâneo e do “mulching” plástico na cultura do melão em ambiente protegido**. 2007. 178 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba. 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11143/tde-26112007-092804/pt-br.php>> . Acesso

em: 08 maio. 2016.

MOREIRA, J. A. N., SANTOS, J. W. DOS, OLIVEIRA, S. R. M. (1994) **Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma**. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 115 p. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/111580>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

MUNGER, H. M.; ROBINSON, R. W. Nomenclature of *Cucumis melo* L. **Cucurbit Genetic Cooperative Report**. v. 14, n. 1, p. 43-44, 1991. Disponível em: <<http://cuke.hort.ncsu.edu/cgc/cgc14/cgc14-14.html>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

OLIVEIRA, L.B.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F. Alternative procedures for parent choice in a breeding program for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brasilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v.19, n.4, p.611-615,1996.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMER, K. Some comments on intraspecific classification of cultivars of melons. Proceedings of 7th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. **Acta Horticulture**, v.510, p. 29-36, 2000. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/510/510_4.htm>. Acesso em: 08 maio. 2016.

QUEIRÓZ, M. A. Os recursos genéticos vegetais e os melhoristas de plantas. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R., (ed) **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste brasileiro**. (on line). Petrolina-PE: Embrapa Semiárido / Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104383/1/Manoel-Abilio.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido: abordagem técnica e econômico-social**. Rio de Janeiro: ASPTA, 1993. 206 p.

RAMOS, S. R. R.; QUEIRÓZ, M. A.; PEREIRA, T. N. S. Recursos genéticos vegetais: manejo e uso. **Magistra**, v.19, p. 265-273, 2007. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/362835/1/Recursos0001.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

RAO, N. K. S.; SWAMY, R. D.; CHACO, E. K. Differentiation of plantlets in hybrid embryo callus of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 15, p. 235-238, 1981. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/0304423881900327/1-s2.0-0304423881900327-main.pdf?_tid=7789e086-1559-11e6-8fa1-00000aacb361&acdnat=1462738648_8ccebcb8dd33ddbc9c6229118f9c9664>. Acesso em: 08 maio. 2016.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D.S A. **Curcubits**. CAB international. Oxon (GB). 1997.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS. **Evolution and Exploitation**. IN: Curcubis. New York: CAB International, Cap. 2, p.35, 1997.

ROCHE, L. R. 1978. Frondosas Tropicales. In: **Metodologia de la Conservacion de lós Recursos Geneticos Forestales**. FAO, Roma, 133p.

ROCHE, L.; DOUROJEANNI, M.;1984. **Manual sobre la conservacion in situ de lós**

recursos genéticos de especies leñosas tropicales. FAO, Roma, 161p.

ROHLF, F.J.; FISHER D.L. Test for hierarchical structure in random data sets. **Systematic Zoology**, Washington, v.17, p.407-412. 1968. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/download/2498/1957>. Acesso em: 14 jun. 2016.

ROMÃO RL. 1995. **Dinâmica evolutiva e variabilidade de populações de melancia [Citrullus lanatus (Thunb.) Matsum & Nakai] em três regiões do Nordeste brasileiro.** Piracicaba: USP-ESALQ. 75p.

SIDRA/IBGE - **Sistema IBGE de recuperação automática/Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/default.asp> . Acesso em: 15 abr. 2016.

SILVA, H. C. *et al.* **Cultivo do meloeiro para o Norte de Minas Gerais.** Brasília: Embrapa SPI, Embrapa Hortaliças, 2000. 20 p. (Circular Técnica, 20). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/107347/1/CNPH-DOCUMENTOS-20-CULTIVO-DO-MELOEIRO-PARA-O-NORTE-DE-MINAS-GERAIS-FL-07830.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

SILVA, M. L.; QUEIRÓZ, M. A.; FERREIRA, M. A. J.; BUSO, G. S. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. **Horticultura Brasileira**, v.24: 405-409. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v24n4/02.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2016.

SILVA, H. R. D.; COSTA, N. D. (Eds.). **Melão: aspectos técnicos.** Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002.

SPOONER, D., VAN TREUREN, R., VICENTE, M.C. (2005) **Molecular markers for genebank management.** IPGRI. Technical Bulletin, n. 10, International Plant Genetic Resources Institute, Italy. Disponível em: <http://www.biodiversityinternational.org/uploads/tx_news/Molecular_markers_for_genebank_management_1082.pdf>. Acesso em: 08 maio. 2016.

SOUSA, R. M.; AGUIAR, O. S.; FREITAS, B. M.; SILVEIRA NETO, A. A.; PEREIRA, T. F. C. 2009. Requerimentos de polinização do meloeiro (*Cucumis melo* L.) no município de Acaraú-CE – Brasil. **Revista Caatinga** 22: 238-242. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/pdf/2371/237117625035.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2016.

STAUB, J.E.; DANIN-POLEG, Y.; FAZIO G.; HOREJSI, T.; *et al.* Comparative analysis of cultivated melon groups (*Cucumis melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. **Euphytica** 115: 225-241, 2000. Disponível em: <<http://link.springer.com/content/pdf/10.1023%2FA%3A1004054014174.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2016.

STAUB, J. E.; LÓPEZ-SESÉ, 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**, Wageningen, v. 136, n. 2, p. 115-166, 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/content/pdf/10.1023%2FB%3AEUPH.0000030667.63614.bd.pdf>>. Acesso em: 23 maio. 2016.

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 Horticulture**, Wageningen, n. 642, p. 41-47, 2002.

STEPANSKY, A.; KOVALSKY, I.; PERL-TREVES, R. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. **Plant Systematic Evolution**, New York, v. 212, n. 2, p. 313-332, 1999. Disponível em: <http://biu.ac.il/LS/People/staff/Perl_Articles/paper1.pdf>. Acesso em: 08 maio. 2016.

SZABÓ, Z.; GYULAI, G.; HUMPHREYS, M.; HORVÁTH, L.; BITTSÁNSZKY, A.; LÁGLER, R.; HESZKY, L. Genetic variation of melon (*C. melo*) compared to an extinct landrace from the Middle Ages (Hungary) I. rDNA, SSR and SNP analysis of 47 cultivars. **Euphytica**, v. 146, p. 87-94, 2005. Disponível em: <<http://mkk.szie.hu/dep/genetika/pdf/Szabo,%20Gyulai%20et%20al.%202005%20Euphytica/%20146,87-94.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

TINGEY, S. V.; RAFALSKI, J. A.; WILLIAMS, J. G. K. Genetic analysis with RAPD markers. In: APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING SYMPOSIUM, 1993, Madison. **Proceedings...** Madison: Crop Science Society of America, 1993. p. 3-8.

UPADHYAYA, H.D.; REDDY, L.J.; GOWDA, C.L.L.; REDDY, K.N.; SINGH, S. Development of a mini core subset for enhanced and diversified utilization of pigeonpea germplasm resources. **Crop Science**, v.46, p.2127-2132, 2006. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/46/5/2127>>. Acesso em: 08 maio. 2016.

VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L.; GOES, M. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADRES-INGLIS, M. C. Recursos genéticos e melhoramento – Plantas. Rondonópolis MT, 2001. Cap. 6, p.123-149.

VIEIRAL, R.L., NODARILL, R.O. Diversidade genética de cultivares de alhos avaliada por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, Santa Maria, 37(1):51-57. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v37n1/a09v37n1.pdf>>. Acesso em: 08 maio. 2016.