



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



TIAGO LIMA DO NASCIMENTO

**ESTUDO DE HERANÇA, TRANSFERIBILIDADE DE
PRIMERS, E ANÁLISE DE TRILHA E DE QTL EM
POPULAÇÕES DE MELANCIA (*Citrullus lanatus* var.
lanatus)**

Feira de Santana - BA

2021

TIAGO LIMA DO NASCIMENTO

**ESTUDO DE HERANÇA, TRANSFERIBILIDADE DE
PRIMERS, E ANÁLISE DE TRILHA E DE QTL EM
POPULAÇÕES DE MELANCIA (*Citrullus lanatus* var.
lanatus)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Nataniel Franklin de Melo
Co orientadores: Dr. Flávio de França Souza; Dra. Rita de Cássia Souza Dias

Feira de Santana - BA

2021

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

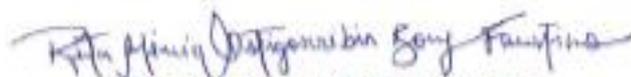
N199e Nascimento, Tiago Lima do,
Estudo de herança, transferibilidade de primers, e análise de
trilhae de QTL em populações de melancia (*Citrullus lanatus var.
lanatus*)

/ Tiago Lima do Nascimento. –, 2021.
90f.

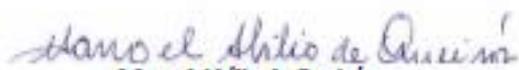
Orientador: Nataniel Franklin de Melo
Coorientadores: Flávio de França Souza; Rita de Cássia Souza Dias
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana,
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2021.

1. Melancia - *Citrullus lanatus var. lanatus*. 2. Cucurbitaceae I.
Melo, Nataniel Franklin de, orient. II. Souza, Flávio de França e Dias,
Rita de Cássia Souza, coorient.. III. Universidade Estadual de Feira de
Santana. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA



Rita Mércia Estigarríbia Borges Faustino
(Embrapa Semiárido)



Manoel Abílio de Queiróz
(Universidade do Estado da Bahia - UNEB)



Prof. Dr. Luiz Cláudio Costa Silva
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Profa. Dra. Adriana Rodrigues Passos
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Prof. Dr. Nataniel Franklin de Melo
(Embrapa Semiárido)
Orientador e Presidente da Banca

*Á minha **mãe** Maria Bernadete, a minha **avó** Efigênia, ao meu **pai** João Francisco, ao meu **irmão** Diego Lima, a minha **cunhada** Lucimara, e ao **meu amigo e companheiro** Ronny Cavalcante, por todo apoio, incentivo e orações.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela sua infinita misericórdia, por estar sempre presente em todos os momentos da minha existência, principalmente naqueles em que mais preciso sentir teus cuidados para comigo.

À toda minha família, especialmente, a minha mãe Maria Bernadete, essencial na minha formação como pessoa e que me ensinou a acreditar e correr atrás dos meus objetivos, pela amizade que temos, pelo amor que me faz sentir todas as vezes que me faz um carinho quando recosto a cabeça em seu colo, por ser a maior riqueza que, alguém pode ter, e DEUS poderia ter me concedido, o amor da minha vida! Ao meu pai, João Francisco, pelos momentos de aprendizado; ao meu irmão, Diego Lima, por ser um irmão de verdade, por me permitir admirar seu gesto, gesto daqueles que tem o coração nobre, sempre a perdoar os outros. Amo você meu irmão! A minha madrinha, Eva Maria, por todo carinho e amor; a minha prima, Maria Beatriz, pela sua garra, e saber usar as pedras do caminho ao seu favor; as minhas sobrinhas, Clarice Victória e Maria Alice, pela alegria nos momentos difíceis e ensinamento, principalmente, que devemos viver como crianças: intensamente, alegres e sempre a perdoar; a minha cunhada, Lucimara Maria, pela amizade, confiança e conversas; aos meus avós, Albino José (*in memoriam*) e Efigênia Maria, exemplos de coragem e fé.

Ao meu amigo, parceiro e companheiro, Ronny Cavalcante, por toda ajuda, incentivo, confiança, principalmente nos momentos mais difíceis, pelas conversas, risadas, pelo carinho, cuidado, por me fazer repensar e rever atitudes, e pela amizade de sempre, de coração almejo sempre a sua felicidade.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais - PPGRGV, da Universidade Estadual de Feira de Santa - UEFS, pelos conhecimentos transmitidos.

À banca examinadora por ter aceito ao convite, e pelas valiosíssimas contribuições para melhoria do trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo incentivo a qualificação profissional e pela bolsa concedida.

À Embrapa Semiárido, pela parceria, oportunidade de ampliar os contatos profissionais e por toda infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Nataniel Franklin de Melo, pela simplicidade de pessoa, pelos ensinamentos, confiança, parceria, amizade e conselhos: “tenha inteligência emocional”.

Aos meus Coorientadores, Dr. Flávio de França Souza e a Dra. Rita de Cássia Souza Dias, que muitas vezes, me acompanharam ao campo, para me ajudarem na condução dos experimentos, pelos anos de ensinamentos, confiança, amizade e incentivo.

Aos trabalhadores do Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido, Manoel Cícero, Chiquinho, Sr. Antônio e Aumério, pelo apoio indispensável na condução dos experimentos de campo, onde, sem eles, talvez os trabalhos nem tivessem acontecido.

Aos estagiários da Embrapa Semiárido Karina Branco, Ingrid Caroline, André Granja, Débora Sobreira, nas avaliações dos experimentos. Meus sinceros agradecimentos, pois foram de grande importância para a condução deste trabalho.

À minha amiga Deisy Aine Lima de Aquino, não só pela amizade, mas pela ajuda na condução deste trabalho, todas as vezes que a procurei sempre esteve disposta a me ajudar. Te agradeço também por me permitir acompanhar suas batalhas diárias e sempre ter a certeza de que desistir sem lutar, não é a melhor escolha a se fazer. Pouco tempo antes da minha defesa, mais uma provação surgiu na sua vida e como sempre demonstrou ser cheia de fé, mas, infelizmente, Deus pegou de volta o bem mais precioso que havia te emprestado (mãe), mas tenha certeza que lá do céu ela se orgulha da mulher que se tornou. Nesse momento e todos os dias, minha amiga, continue com a garra de sempre e quando se sentir cansada, peça sabedoria e proteção a Deus. Tenho muita admiração e amor por você.

Aos meus amigos e colegas Deisy Aiane, Ronny Elisson, Kelly Maia, Juliane, Larisse Laranjeira, Barbara Ramos, Bruno Djavan, Fabrício, Roberta Lane, Lincoln Bagagi, Maria Beatriz, Ângela Katiússia, Viviane e todos aqueles que, durante a escrita dos agradecimentos não me recordei, mas sabem que tenho o sentimento de amizade, pelo apoio nessa conquista, pelas palavras de incentivo, ensinamento e pela amizade de sempre.

À Prof. Dra. e amiga, Joice Simone dos Santos, por todas as risadas, carinho, cuidado, conselhos que tem me dado, por sempre me incentivar a não desistir dos meus sonhos, por então pouco tempo ter decifrado até os meus silêncios, por ser um exemplo de pessoa humilde, generosa, forte, resiliente, sábia e principalmente justa, alguém para se espelhar, todas as palavras são poucas para demonstrar o quanto eu a admiro e torço por você “coleguinha”, sempre dou risada lembrando disso: “corte esse cachinho” rrsrs.

À Dra. Maria Aldete, pela primeira oportunidade de estágio na área de melhoramento genético, algo que já tinha em mente e só me fez reforçar essa certeza.

Ao Prof. Dr. Carlos António, por ter disponibilizado as cubas verticais para realização da parte molecular deste trabalho.

À técnica do laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, Ângela Katiussia, pela sua simplicidade de pessoa, pela profissional competente, e principalmente pela sua empatia pelo próximo. Dádivas como ela, nos fazem retomar a esperança de que no mundo ainda existem pessoas de coração bom e generoso, e feliz daqueles que a tem por perto, seja como colega ou amiga.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho, meu

Muito obrigado!

“Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois eu, o Senhor, o teu Deus, estarei com você por onde você andar”

Josué 1

RESUMO

A melancia (*Citrullus lanatus*) é bastante apreciada no mundo, possivelmente, pelo seu sabor adocicado, fácil consumo etc. Contudo, o mercado tem requerido genótipos com novas características de planta e fruto, a exemplo da redução no tamanho dos frutos, fazendo-se pensar em um seguimento paralelo a redução desses frutos, o da redução do tamanho das sementes nesses novos genótipos comerciais, mas a demanda por esses novos genótipos é de maneira rápida o que dificulta a obtenção, por meio dos métodos de melhoramento clássico, desse modo a seleção assistida por marcadores moleculares pode ser utilizada em consonância com esses métodos buscando acelerar a obtenção de novos genótipos. Diante ao exposto, os objetivos do presente trabalho foram disponibilizar informações sobre a herança do comprimento de semente; estimar parâmetros genéticos, as correlações e os efeitos diretos e indiretos de características morfoagronômicas de melancia, além disso testar a transferibilidade de primers SSR de melão para a cultura da melancia; e a possível identificação de QTL utilizando primers SSR próprios para a cultura da melancia. Essas informações serão úteis para subsidiar os programas de melhoramento da espécie no desenvolvimento de novos genótipos. Foram fenotipadas as populações: P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁ e RC₂, buscando estudar a herança do comprimento de semente, bem como foram empregados descritores de frutos para se estimar parâmetros genéticos, correlações e a análise de trilha; além da fenotipagem foi realizada a genotipagem das populações P₁, P₂, F₁, F₂, para a possível identificação de QTL para o comprimento da semente; e a genotipagem de seis materiais armazenados no banco ativo de germoplasma de melancia, buscando testar a transferibilidade de primers de melão. Os resultados do estudo de herança para o comprimento de semente evidenciaram que, o caráter é controlado por um gene com dois alelos exibindo dominância incompleta, porém esse comportamento pode variar a depender da população estudada, além disso a seleção de indivíduos superiores pode ser realizada com base no fenótipo; com base nos parâmetros genéticos foi possível observar que, a maioria das características tiveram maior contribuição genotípica na expressão fenotípica, além disso as altas herdabilidades evidenciaram maiores chances de sucesso com a seleção, as correlações indicaram que para a melhoria do tamanho da semente podem ser utilizadas, como variáveis resposta, o comprimento ou a largura da semente, enquanto que análise de trilha evidenciou a melhoria do tamanho de semente com base no tipo de listras do fruto; das 31 sequências de primers SSR de melão testados para melancia foi possível observar que, 100% das sequências amplificaram para melancia indicando a possibilidade de uso dessas sequências nos programas de melhoramento para melancia em estudos de diversidade, possivelmente, na confirmação de paternidade etc. Dos 159 iniciadores SSR de melancia utilizados no estudo de QTL, apenas o MCPI-12 foi associado ao caráter, porém antes da exploração dessa sequência nos programas de melhoramento é necessário realizar a validação desse marcador em outras populações.

Palavras-chave: *Cucurbitaceae*, Controle genético, MAS, Melhoramento genético.

ABSTRACT

Watermelon (*Citrullus lanatus*) is quite appreciated in the world, possibly for its sweet taste, easy consumption etc. However, the market has required genotypes with new characteristics of plant and fruit, such as the reduction in fruit size, making it possible to think of a parallel follow-up to the reduction of these fruits, the reduction of the size of seeds in these new commercial genotypes, the demand for these new genotypes is fast, which makes it difficult to obtain, by means of classical breeding methods, so the selection assisted by molecular markers can be used in line with these methods, seeking to speed up the obtainment of new genotypes. In view of the above, the objectives of the present study were to provide information on the seed length inheritance; estimate genetic parameters, correlations and direct and indirect effects of watermelon morpho-agronomic characteristics, in addition to testing the transferability of melon SSR primers to watermelon culture; and the possible identification of QTL using SSR primers suitable for the cultivation of watermelon. This information will be useful to subsidize the breeding programs of the species in the development of new genotypes. The populations were phenotyped: P1, P2, F1, F2, RC1 and RC2, seeking to study the seed length inheritance, as well as fruit descriptors were used to estimate genetic parameters, correlations and trail analysis; in addition to the phenotyping, genotyping of the P1, P2, F1, F2 populations was carried out, for the possible identification of QTL for the seed length; and the genotyping of six materials stored in the active watermelon germplasm bank, seeking to test the transferability of melon primers. The results of the inheritance study for the seed length showed that the character is controlled by a gene with two alleles exhibiting incomplete dominance, however this behavior can vary depending on the population studied, in addition the selection of superior individuals can be carried out with based on the phenotype; based on the genetic parameters it was possible to observe that, most of the characteristics had a greater genotypic contribution in the phenotypic expression, in addition the high heritabilities evidenced greater chances of success with the selection, the correlations indicated that for the improvement of the seed size they can be used, as response variables, the length or width of the seed, while trail analysis showed an improvement in the seed size based on the type of fruit stripes; of the 31 sequences of melon SSR primers tested for watermelon, it was possible to observe that 100% of the sequences amplified for watermelon indicating the possibility of using these sequences in watermelon breeding programs in diversity studies, possibly in confirming paternity etc. Of the 159 SSR watermelon primers used in the QTL study, only MCPI-12 was associated with the character, however, before the exploration of this sequence in breeding programs, it is necessary to validate this marker in other populations.

Keywords: *Cucurbitaceae*, Genetic control, SAM, Genetic improvement.

SUMÁRIO

1. Introdução Geral	14
1.1 Classificação botânica e aspectos morfológicos da melancia.....	16
1.2 Importância socioeconômica da melancia	18
1.3 Melhoramento genético da melancia	19
1.4 Herança de características.....	21
1.5 Análise de trilha	22
1.6 Seleção Assistida por Marcadores (MAS)	23
1.7 Transferibilidade de marcadores moleculares	25
1.8 <i>Quantitative Trait Loci</i> (QTL).....	26
1.9 Referências.....	28
2. ESTUDO DE HERANÇA ASSOCIADO AO TAMANHO DE SEMENTE EM POPULAÇÕES DE MELANCIA	34
2.1 Introdução	35
2.2 Material e Métodos	36
2.3 Resultados e Discussão	39
2.4 Conclusões	45
2.5 Referências.....	46
2.6 ANEXOS	49
3. PARÂMETROS GENÉTICOS, CORRELAÇÕES E EFEITOS DIRETOS E INDIRETOS EM CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS DE MELANCIA	54
3.1 Introdução	55
3.2 Material e Métodos	56
3.3 Resultados e discussão.....	59
3.4 Conclusões	68
3.5 Referências.....	69
4. TRANSFERIBILIDADE DE PRIMERS MICROSSATÉLITES DO TIPO SSR DESENVOLVIDOS PARA A CULTURA DO MELOEIRO EM MELANCIA....	75
4.1 Introdução	76
4.2 Material e Métodos	77
4.3 Resultados e Discussão	80
4.4 Conclusões	85
4.5 Referências.....	87
4.6 ANEXOS	90

5. MARCADORES MICROSSATÉLITES NA IDENTIFICAÇÃO DE QTL PARA O TAMANHO DE SEMENTE EM UMA POPULAÇÃO F2 DE MELANCIA	94
5.1 Introdução	95
5.2 Material e Métodos	96
5.3 Resultados e Discussão	100
5.4 Conclusões	104
5.5 Referências.....	105
5.6 ANEXOS	109
6. APÊNDICES	116

1. Introdução Geral

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai] é originária da África, e foi introduzida no Brasil, primeiramente, pelos escravos africanos tornando-se uma Cucurbitácea de grande importância econômica, sendo cultivada em vários países do mundo, incluindo o Brasil, onde no ano de 2019, a área plantada foi de 100.117 hectares com uma produção total em torno de 2.278.186 toneladas de frutos (IBGE, 2020). Uma das características de importância da cultura é a sua capacidade de gerar empregos no campo, devido a demanda de grande quantidade de mão de obra para realização dos tratamentos culturais (BINDA, 2013).

Toda essa produção é consequência do mercado brasileiro de comercialização dos frutos da melancia. Adicionalmente, parte da produção pode ser destinados à exportação, sendo preferido frutos sem sementes, e devido ao mercado interno onde a preferência é por frutos com sementes e de maior tamanho, o que garante lugar de destaque para o cultivar ‘Crimson Sweet’ e tipos semelhantes (SOUZA, 2008). Para os produtores, genótipos resistentes ou tolerantes a diferentes patógenos recebem uma maior aceitação, enquanto que para os consumidores genótipos com características relacionadas à aparência e propriedades nutricionais da fruta são mais atraentes, o que implica em dizer que os programas de melhoramento genético da espécie devem levar em consideração esses atributos (QUEIRÓZ et al., 1999), podendo ser citado a redução do tamanho do fruto nos genótipos comerciais, esses por sua vez destinados a famílias pouco numerosas (SOUZA et al., 2004).

Considerando a vertente da redução no tamanho dos frutos, é de grande relevância pensar em um novo segmento destinado a redução do tamanho das sementes nesses novos genótipos, o que garantiria maior aproveitamento da polpa, bem como a complementação nutricional, desde que essas sementes sejam facilmente consumidas junto da polpa, visto que são ricas em proteínas, carboidratos, fibras, minerais etc. (SOUZA et al., 2019), e são fontes de albumina, ácido aspártico, glutâmico e serina (BISWAS et al., 2016), compostos que ajudam no bom funcionamento do organismo.

Vale lembrar que, antes de se explorar uma cultura dentro do programa de melhoramento, é de grande importância o conhecimento do sistema reprodutivo da espécie, sendo a melancia uma espécie alógama com plantas monoicas ou andromonoicas (DIAS et al., 2010). Outra característica de extrema importância é o conhecimento do controle genético do caráter de interesse, que estimado com base nos parâmetros

genéticos, possibilitam concluir a respeito do padrão predominante da segregação, ou seja, se controlada por poucos ou muitos genes e com isso determinar qual a melhor estratégia de melhoramento a ser adotada até se chegar ao genótipo melhorado (LIU, 1997). Quando o caráter em questão é controlado por um ou dois genes, métodos de melhoramento mais simples, a exemplo da seleção massal, são eficazes. Contudo, quando controlado por vários genes, a análise de correlações, que busca melhorar um caráter de interesse de baixa herdabilidade com base em outro de alta herdabilidade, pode ser utilizada. Entre tanto, é mais indicada a exploração da análise de trilha, pois além dessa associação obtém-se informações do comportamento das demais características quando se utiliza uma buscando melhorar a outra. Porém, mesmo com as informações sobre a herança do caráter em questão, bem como do comportamento das demais quando se utiliza o melhoramento indireto, as fases do melhoramento até alcançar o objetivo final tornam o processo laborioso, e o principal entrave é o largo espaço de tempo até alcance do genótipo melhorado, o que exige um investimento financeiro a longo prazo e mão de obra qualificada (CAIXETA e BORÉM, 2016).

Considerando as etapas laboriosas do melhoramento até chegar ao objetivo final, a utilização de métodos clássicos de melhoramento, individuais ou combinados, associados à Seleção Assistida por Marcadores moleculares (MAS), pode reduzir o espaço de tempo até se obter o genótipo melhorado, e assegurar maiores chances de sucesso, por se tratar a SAM de um estudo a nível de DNA, e não existir a influência do ambiente sobre os resultados (TOPPA e JADOSKI, 2013), isso possibilita o desenvolvimento de novos genótipos de melancia, com características desejáveis, de maneira mais rápida. Porém, vale lembrar que a SAM não vem para substituir os métodos clássicos, uma vez que são empregados na recombinação de indivíduos contrastantes, com o objetivo de identificar dentro das populações segregantes, indivíduos promissores com o maior número de características desejáveis para a cultura (MELO, 1987).

Para identificar antecipadamente indivíduos de interesse para um programa de melhoramento, a utilização de marcadores moleculares se apresenta como uma ferramenta auxiliar útil, visto que os oligonucleotídeos são desenvolvidos a partir de definidas características de DNA, que podem diferir em dois ou mais grupos os indivíduos avaliados, e que são herdadas geneticamente pela sua descendência (CAIXETA et al., 2016). Entretanto, devido ao elevado custo para construção, manutenção e enriquecimento de bibliotecas genômicas de algumas espécies vegetais, bem como a aquisição de equipamentos específicos para realização do procedimento, a técnica da

transferibilidade pode ser empregada (BORÉM e CAIXATA, 2016). A transferibilidade consiste em testar a amplificação, buscando aproveitar, de oligonucleotídeos entre espécies aparentadas, uma vez obtido êxito na transferibilidade as sequências podem ser exploradas para os mais variados estudos, seja estimar diversidade entre genótipos, confirmação da pureza em lotes de sementes, ou até mesmo associação destas sequências com características morfológicas de interesse para a cultura.

Quando ocorre associação de um marcador molecular a um caráter morfológico, existe a possibilidade de seleção de indivíduos de interesse, ainda, na fase juvenil, essa associação é denominada de *Quantitative Trait Loci* (QTL). Quando se utiliza marcadores SSR, a identificação da possível associação ao gene de interesse é realizada por meio do mapeamento, a partir da posição das bandas em cada região no gel. Para a melancia a maioria desses estudos são realizados para resistência dos genótipos a patógenos.

Diante ao exposto, os objetivos do presente trabalho foram disponibilizar informações sobre a herança do comprimento de semente; estimar parâmetros genéticos, as correlações e os efeitos diretos e indiretos de características morfoagrônomicas de melancia, além disso testar a transferibilidade de primers SSR de melão para a cultura da melancia; e a possível identificação de QTL utilizando primers SSR próprios para a cultura da melancia, porém utilizados para se estimar diversidade genética, buscando disponibilizar informações relevantes para subsidiar os programas de melhoramento genético da espécie no desenvolvimento de novos genótipos.

1.1 Classificação botânica e aspectos morfológicos da melancia

A família Cucurbitaceae é dividida em duas subfamílias: a Cucurbitoideae e a Zanonioidea que, juntas, representam 120 gêneros e 820 espécies, sendo as mesmas distribuídas nas mais diferentes regiões tropicais e subtropicais do mundo, tendo a maioria das espécies constituintes da subfamília das Cucurbitoideae (JOSBT et al., SILVA, 2004). Do total de representantes da família Cucurbitaceae, só no Brasil, foram identificados 30 gêneros e 200 espécies (BARROSO, 1978). Desses, 30 espécies e 9 gêneros são destinados ao cultivo, incluindo jerimums (*Cucurbita* spp.), pepino e melão (*Cucumis* spp.) e melancia (*Citrullus* spp.) (ESQUINAS-ALCAZAR e GULICK, 1983; SILVA, 2004).

O gênero *Citrullus*, é constituído por quatro espécies diploides ($2n=22$): *C. colocynthis* (L.) Schard; *C. erirrhosus* Cogn, *C. rehmii* Winter, e *C. lanatus* Mansf.;

(WHITAKER e BEMIS, 1976). Os representantes dessa última espécie são classificados como plantas de caules rastejantes, angulosos em forma de zigue-zague, com ramificações longas que podem alcançar de 3 a 5 metros de comprimento; os caules são flexíveis e cilíndricos, com estrias em forma de sulco no sentido longitudinal, cobertos por fina pilosidade, apresentam gavinhas emitidas na base das axilas de todas as folhas. As folhas da melancieira são mais macias nas pontas, porém mais ásperas na base proveniente de uma pilosidade curta e resistente, além disso, as folhas apresentam lóbulos variando de intensidade a depender da cultivar (CARVALHO 2016).

Quanto as flores da melancieira, elas surgem unicamente na base axial da folha, de forma aleatória, ou seja, nem todas as folhas terão uma flor e nem em todas as bases axiais apresentam flores (CARVALHO 2016). Ainda com base nesses mesmos autores, as flores da melancieira são de cor amarelada, pequenas e compostas por cinco pétalas lembrando uma corola. Entretanto, as flores masculinas (Figura 1a) são solitárias, nascem de forma aleatória ao longo dos ramos ou caules na base axial da folha enquanto que, as flores femininas (Figura 1a) são caracterizadas por apresentarem em sua base um ovário minúsculo semelhante a um embrião do próprio fruto da melancia.

Considerando o tipo de reprodução da melancia, a mesma é classificada como espécie alógama com 95% de taxa de polinização cruzada e 5% de autofecundação (FEIRRERA et al., 2006), porém a melancia é uma cultura que sofre muito pouco com a depreciação das características morfoagrômicas, por decorrência do processo de endogamia, possivelmente, por se apresentar como uma espécie de reprodução mista. As plantas podem ser monoicas (Figura 1a) quando, na mesma planta, é possível observar flores femininas e masculinas, ou andromonoica, quando as plantas emitem flores masculinas e hermafroditas (Figura 1b). Na melancia, plantas andromonoicas aparecem em apenas 5% das variedades comerciais (DIAS et al., 2010).



Fotos: Nascimento, T. L. do. 2017.

Figura 1. Tipos de plantas quanto à expressão sexual (‘a’ monoica e ‘b’ andromonoica) em melancia (*Citrullus lanatus*)

1.2 Importância socioeconômica da melancia

A melancia é uma cucurbitácea de grande importância econômica, e por esse motivo vem sendo cultivada em vários países do mundo. Por exemplo, no Brasil, em 2019, a área plantada foi de 100.117 hectares e a produção total ficou em torno de 2.278.186 toneladas de frutos (IBGE, 2020). Outro atributo que caracteriza a importância dessa cultura é a sua capacidade de gerar empregos no campo, devido a demanda da grande quantidade de mão de obra para realização dos tratos culturais (PEDROSA, 1997). Além disso, por ser uma olerícola de alto valor nutricional, sabor refrescante e apresentar propriedades nutricionais associadas ao baixo teor calórico a melancia é bastante apreciada em diferentes partes do mundo, sobretudo nas regiões tropicais e subtropicais, fazendo-a uma excelente alternativa para os adeptos dos mais variados regimes alimentares (GAMA e VIZA, 2008).

Essas propriedades, associadas à excelente adaptação da cultura às condições edafoclimáticas do país, fazem do Brasil um dos quatro maiores produtores e exportadores dessa olerícola, onde o mercado de comercialização destinado à exportação, tem preferido frutos sem sementes e para o mercado interno, a preferência é por frutos de maior tamanho, o que garante lugar de destaque para as cultivares “Crimson Sweet” e tipos semelhantes (SOUZA, 2008). Contudo, os frutos sem sementes são oriundos do cruzamento entre plantas triploides e tetraploides, ambas apresentando dificuldade de germinação em condições de campo, o que exige estruturas apropriadas para a produção

dessas mudas, o que dificulta a produção desses frutos (ARAGÃO et al., 2006). Além disso, existem outros atributos que elevam o preço de mercado desses frutos, a exemplo da dificuldade de identificar plantas totalmente tetraploides (NASCIMENTO et al., 2018) o que contribui ainda mais para elevar o custo das sementes desses genótipos, e como consequência, o preço de mercado desses frutos.

No entanto, um novo segmento de mercado para genótipos com tamanho de sementes reduzidas pode ser uma alternativa viável. Inicialmente, esses genótipos podem ganhar espaço no mercado interno, desde que essas sementes sejam facilmente consumidas junto da polpa. Além disso, outro benefício é a ampliação das propriedades nutraceuticas, uma vez que, essas sementes são ricas em proteínas, carboidratos, fibras, minerais (SOUZA et al., 2019), bem como são fontes de albumina, ácido aspártico, glutâmico e serina (BISWAS et al. 2016), compostos que ajudam no bom funcionamento do organismo.

No que diz respeito aos frutos de maior tamanho, estes são destinados ao mercado interno na venda em fatias e no abastecimento de grandes redes de supermercados e hotéis. Porém, a falta de genótipos com frutos de menor tamanho representa uma problemática para as famílias brasileiras atuais, pois são famílias caracterizadas por apresentarem poucos integrantes. Com isso o desenvolvimento de novos genótipos de melancia com tamanho de fruto reduzido pode atender a essas pequenas famílias, visto que frutos de menor tamanho facilitam o transporte, o acondicionamento e o consumo de uma só vez (SOUZA et al., 2004).

1.3 Melhoramento genético da melancia

Durante o desenvolvimento de um novo genótipo, programas de melhoramento genético para melancia devem levar em consideração características relacionadas à aparência e propriedades nutricionais da fruta, por serem mais atraentes aos consumidores, enquanto que para os produtores, genótipos resistentes ou tolerantes a diferentes patógenos se revestem de maior importância (QUEIRÓZ et al., 1999) visto que diversas doenças atacam a cultura da melancia causando prejuízos aos produtores. As mais conhecidas são: Antracnose (*Colletotrichum orbiculare*), fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*), oídio (*Podosphaera xanthii*), míldio (*Pseudoperonospora cubensis*), cancro das hastes (*Didymella bryoniae*), nematoide das galhas das raízes (*Meloidogyne incognita*), mosaico da melancia (“*Papaya ringspot vírus*” – PRSV-W) entre outras doenças (MÍLEO, 2013).

Para a maioria dessas doenças já foram desenvolvidos genótipos comerciais resistentes, porém para as condições irrigadas do semiárido brasileiro, antes de 2007, ainda não se tinha genótipo resistente a doença fúngica do oídio. Nesse mesmo ano, a EMBRAPA Semiárido, em parceria com a Universidade do Estado da Bahia (UNEB) e EMBRAPA Rondônia, apresentaram a cultivar “BRS Opara”, resistente a esse patógeno (DIAS et al., 2007). Contudo, essa cultivar não foi registrada.

Além dos estudos voltados para o desenvolvimento de genótipos tolerantes ou resistentes a doenças e patógenos, podem ser citados os programas de melhoramento que trabalham com características relacionadas à aparência e propriedades nutricionais da fruta, buscando atender as exigências dos consumidores que continuam requerendo frutos com alto teor de sólidos solúveis e aparência agradável, bem como exigências que implicam em atributos adicionais como, por exemplo, frutos sem sementes ou apireno, reduzido tamanho de fruto, sendo que, para essa última exigência, é necessário um segmento de melhoramento paralelo visando reduzir o tamanho das sementes.

Pensando nessas novas exigências de mercado, em 2002 a EMBRAPA Rondônia iniciou um programa de melhoramento que tinha por objetivo desenvolver variedades comerciais de melancia com cor de polpa amarela, com ciclo reduzido em 20 dias, menor tamanho de fruto, e alto teor de sólidos solúveis. Como resultado, no ano de 2007, foram lançadas duas variedades: “BRS Soleil” e “BRS Kuarah” com essas novas características comerciais (SOUZA e DIAS, 2011).

Vale lembrar que antes de iniciar um programa de melhoramento genético é importante a existência de variabilidade genética para a espécie alvo. Para a melancia, Silva (2004) evidenciou que, apesar da existência de variabilidade genética da espécie no Brasil, é necessário o estudo do germoplasma em diferentes partes do país, destacando-se a região Nordeste, com variabilidade da espécie para diversos caracteres de planta, frutos e resistência a doenças (QUEIRÓZ, 1993; DIAS et al., 1996; ROMÃO, 2000; DIAS et al., 2010). Diversidade esta utilizada para formação de um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido no município de Petrolina – PE (SILVA et al., 2010). Além do Banco de Germoplasma de Melancia (BG CIA), o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) é formado pelo Banco de Germoplasma de Melão (BGMEL) e por outras espécies como, Cucurbita spp.; outras espécies de Cucumis e bucha (Luffa spp.), sendo esse criado para conservar os recursos genéticos das Cucurbitáceas da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro.

Além da existência de variabilidade é necessária a utilização das melhores estratégias para se chegar ao objetivo final de um programa, bem como os métodos de melhoramento mais adequados, ou a utilização das ferramentas biotecnológicas ou ainda a utilização de ambos de forma simultânea, buscando alcançar resultados de maneira rápida e precisa.

1.4 Herança de características

Dentro dos programas de melhoramento genético, as características mais fáceis, rápidas e com maiores chances de se obter êxito são aquelas controladas por poucos genes. Quando controlada por um ou dois genes a herança do caráter é denominada como simples. Porém, alguns melhoristas utilizam o termo ‘herança simples’ para casos em que os genitores diferem em apenas uma característica, controlada por um gene, enquanto outros melhoristas utilizam esse mesmo termo para qualquer cruzamento em que somente uma característica é controlada por um gene ou está sendo considerada, não interessando se os genitores diferem em outros caracteres (RAMALHO et al., 2012).

Antes de se estudar a herança de um caráter, é necessário levar em consideração alguns pré-requisitos básicos, buscando maiores chances de se chegar ao genótipo melhorado. O primeiro passo é identificar se existem expressões contrastantes ou formas alternativas entre os possíveis genitores, ou seja, variabilidade genética (CRUZ et al., 2012). Também é de fundamental importância conhecer o sistema de reprodução da espécie em estudo. Casos em que a cultura é autógama, o processo de endogamia, que antecede o cruzamento entre os genitores, se torna mais fácil. Porém, quando se tem uma espécie alógama é necessário elevar o nível de endogamia até a sexta geração de auto fecundação (BUENO et al., 2013). As metodologias utilizadas para aumentar o nível de homozigose são as mais variadas, porém, o princípio do método é o mesmo: isolar as estruturas reprodutoras femininas e masculinas de uma mesma planta e durante a antese depositar os grãos de pólen no estigma (RAMALHO et al., 2012).

Durante o estudo de herança devem ser obtidas as gerações parentais (P_1 e P_2), bem como a F_1 e as segregantes F_2 , RC_1 , RC_2 , em seguida todas essas populações são avaliadas, simultaneamente, para o caráter de interesse buscando observar a segregação fenotípica. Com o resultado da segregação, emprega-se o teste do Qui-quadrado (X^2) buscando avaliar as hipóteses dessa segregação, e verificar se os desvios entre as frequências observadas e esperadas são significativos (RAMALHO et al., 2012). Segundo Liu (1997), a importância de se empregar o teste do X^2 está na possibilidade de concluir

a respeito do padrão predominante da segregação: se governada por um, dois ou mais genes e o tipo de interação predominante.

Devido a praticidade e eficiência em se testar as hipóteses dos padrões de segregação, o teste do X^2 vem sendo amplamente utilizado (RAMALHO et al., 2008), bem como em estudos de herança, uma vez que, as hipóteses são testadas levando em consideração os desvios ocorridos entre as frequências esperadas e observadas. Porém, por se tratar de um teste sensível, sua precisão está relacionada ao tamanho amostral da população, podendo resultar na impossibilidade de discriminar as hipóteses genéticas, quando o número de indivíduos é muito reduzido (SCHUSTER e CRUZ, 2004). Evidenciando que o método é eficiente, porém deve ser levado em consideração o tamanho amostral da população.

1.5 Análise de trilha

A análise de trilha é um método complementar às estimativas das correlações, visto que as correlações estimam a relação direta de um caráter com outro, desconsiderando os efeitos e magnitudes dessa seleção, ocasionadas por essa relação direta, sobre as demais características (CRUZ et al., 2012). Isso implica em dizer que, a melhoria de um caráter, tendo como base as avaliações de outro, sem levar em consideração o comportamento das demais, pode ocasionar consequências indesejáveis para as demais características de interesse na cultura em estudo. Pensando nessa relação de causa-efeito, por consequência da seleção, foi desenvolvido um método conhecido como análise de trilha (WRIGHT, 1921), onde o método baseia-se em regressão, no qual as variáveis são previamente padronizadas (COSTA NETO, 2009).

A análise de trilha, quando se considera um único modelo causal, é conhecida como análise de regressão parcial padronizada, sendo eficiente no desdobramento das correlações em efeitos diretos e indiretos, enquanto que a relação de uma variável dependente com mais de uma independente, caracterizando-se uma inter-relação complexa, ou vários diagramas causais, é denominada de regressão linear múltipla (CHARNET et al., 2008). Essa última é mais utilizada dentro dos programas de melhoramento, visto a possibilidade de se trabalhar com mais de um caráter de maneira simultânea, principalmente relacionados à produção de grãos e frutos (CRUZ et al., 2012). Contudo, algumas particularidades devem ser levadas em consideração antes de proceder com a regressão linear múltipla. Dentre esses pressupostos, pode-se destacar a multicolinearidade entre as características que compõem o digrama causal, que acontece

como consequência das elevadas variâncias associadas aos estimadores (KLINE, 1991), de modo que, quanto maior a multicolinearidade, menor é a precisão da estimação de causa e efeito entre as características.

Para solucionar os erros causados pela multicolinearidade, algumas estratégias são sugeridas. Dentre elas, a remoção do caráter que está ocasionando a multicolinearidade (*método Stepwise*), apesar de ser um procedimento, em alguns casos, questionável (KOSACK e AZEVEDO, 2011). Outra alternativa é a utilização da regressão em componentes principais, onde remove-se as variáveis correspondentes aos autovalores dos componentes, quando elas apresentam valores próximos de zero, e o método dos mínimos quadrados, que é aplicado aos componentes restantes (CRUZ et al., 2014). Também é indicada a utilização da estratégia da análise em crista ou em cumeeira, um método que busca obter estimativas do coeficiente de regressão a partir de uma versão pouco modificada das equações normais (CRUZ e CARNEIRO 2003), sendo que, nesse método, não ocorre a exclusão de característica, mas sim um ajuste no modelo inserindo uma constante *K*. Por esse motivo esse último é o método mais empregado.

1.6 Seleção Assistida por Marcadores (MAS)

Melhoristas de diversas culturas realizam o melhoramento das espécies com base no fenótipo, método conhecido como seleção fenotípica (SF), na qual os indivíduos visualmente superiores são selecionados e recombinados, buscando originar populações híbridas ou populações segregantes. Nesta última população o principal objetivo é identificar indivíduos com o maior número de caracteres de interesse, para serem exploradas dentro dos programas de melhoramento. No entanto, em alguns casos, o fenótipo sofre forte influência ambiental, inclusive devido à presença da interação genótipo x ambiente (CRUZ et al., 2014). Esse efeito também interfere na SF, principalmente se o caráter de interesse for expresso, apenas, em certas condições de estresse biótico ou abiótico, ou em casos que o controle genético é governado por vários genes.

Diante dessa influência ambiental nas características de interesse nas plantas, melhoristas tem buscado desenvolver métodos e tecnologias que aumentem e acelerem a eficiência em se obter genótipos melhorados. Pensando nisso foram desenvolvidos estudos que utilizam o DNA dos indivíduos, por meio de marcadores moleculares. Existem vários tipos de marcadores moleculares, bem como diferentes métodos para

serem utilizados, sendo que cada um é empregado a depender dos objetivos que são almejados, bem como da infraestrutura, disponibilidade de recursos financeiros, experiência da equipe, etc. Dentre os diversos marcadores existentes, os baseados em *Polymerase Chain Reaction* (PCR) são os mais utilizados, destacando-se os microssatélites: *Inter Simple Sequence Repeat* - ISSR (dominante), e o *Simple Sequence Repeats* - SSR (codominante), devido à alta repetibilidade, simplicidade da técnica, menor quantidade de DNA genômico requerido, menor custo, maior poder de resolução e elevados níveis de polimorfismo (CAIXETA et al., 2016), sendo um dos mais comuns encontrados em estudos de melhoramento.

Vale lembrar que as fases do melhoramento até se obter um genótipo melhorado, com o maior número de características de interesse para a cultura, são um processo laborioso, e o principal entrave é o largo espaço de tempo até o objetivo final, o que exige um investimento financeiro, à longo prazo e mão de obra qualificada (CAIXETA e BORÉM, 2016), além de continuidade das atividades na mesma direção. Desse modo, uma das alternativas viáveis, é a utilização de métodos clássicos de melhoramento, individuais ou combinados associados à SAM, o que pode reduzir o espaço de tempo até se obter o genótipo melhorado e assegurar maiores chances de sucesso aos programas de melhoramento.

Os métodos clássicos de melhoramento são empregados na recombinação de indivíduos contrastantes, objetivando, dentro das populações segregantes, a obtenção de indivíduos com o maior número de caracteres de interesse para a cultura (MELO, 1987), enquanto que as ferramentas biotecnológicas, podem ser empregadas para antecipar a identificação dos indivíduos mais promissores que serão recombinados. Para a cultura da melancia, Silva et al. (2006) obtiveram sucesso ao combinarem as avaliações fenotípicas junto com a molecular, buscando caracterizar acessos de melancia pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de melancia (BG CIA) da Embrapa Semiárido, e como resultado foi possível observar variações entre os indivíduos do BAG, possibilitando a escolha dos melhores acessos para serem explorados dentro dos programas de melhoramento da espécie.

Ainda, em melancia, os resultados obtidos por Gama et al. (2015b) que ao avaliarem a resistência em genótipos de melancia ao oídio, compararam o padrão de resistência fenotípico das plantas com o padrão molecular, nos quais encontraram marcadores associados à resistência ao patógeno. Por meio desses resultados foi possível inferir que, a recombinação dos indivíduos resistentes com susceptíveis, buscando transferir essa

resistência, poderia ser antecipada, bem como a identificação e seleção dos indivíduos resistentes dentro das populações segregantes com a utilização desses marcadores.

Desse modo, fica evidente que a integração das técnicas clássicas com as da biologia molecular, visto à ampliação do conhecimento genético e da aceleração dos programas de melhoramento, pode ser utilizada para identificar os recombinantes com maior número de caracteres favoráveis para a cultura, ainda, na fase juvenil, o que pode aumentar as chances de sucesso, devido à não influência ambiental na expressão dos caracteres em estudo, e proporcionar maior rapidez e eficiência na fase de obtenção dos genótipos melhorados dentro de um programa de melhoramento.

1.7 Transferibilidade de marcadores moleculares

Marcadores moleculares são desenvolvidos a partir de sequências do DNA das espécies e, que são capazes de diferenciar dois ou mais indivíduos, sendo que essas características presentes na genética dos indivíduos são herdadas pelos seus descendentes (CAIXETA et al., 2016). Esses marcadores também podem ser utilizados na MAS, como ferramentas úteis na detecção de variações no genoma entre espécies aparentadas, aumentando o poder de análise nas plantas (SILVA et al., 2019). A técnica da transferibilidade, tem por objetivo testar a amplificação de oligonucleotídeos sintetizados para determinada espécie em outra aparentada, buscando o aproveitamento dessas sequências. Uma vez amplificado, estes oligonucleotídeos podem ser analisados buscando identificar se estão associados a características de importância comercial para a espécie alvo.

A técnica da transferibilidade pode ser utilizada buscando reduzir o investimento na construção, manutenção e enriquecimento de bibliotecas genômicas da espécie em estudo, bem como a aquisição de equipamentos específicos (BORÉM e CAIXETA, 2016). A técnica tem se mostrado eficiente para diferentes famílias, como relatado em estudos anteriores com a cultura do maracujá por Silva et al. (2019); coco (MISTURA et al., 2012) e outro bem-sucedido realizado por Priori et al. (2013), no qual foi estudado a transferibilidade para a *Cucurbita argyrosperma* e *C. ficifolia* empregando marcadores microssatélites de *C. pepo*.

Também são encontrados na literatura trabalhos bem-sucedidos de transferibilidade para a família das *Cucurbitaceae*, a exemplo daqueles realizados por Jarret et al. (1996); e Lamas et al. (2007) que testaram a transferência de primers de melão para melancia.

Além desses trabalhos, pode ser citado o de Lira et al. (2008), que testou a transferibilidade de primers de melão para bucha vegetal (*Luffa cylindrica*). Estes trabalhos evidenciaram que a técnica da transferibilidade é uma ferramenta biotecnológica auxiliar útil na identificação de oligonucleotídeos entre culturas aparentadas, podendo ser utilizados em estudos de diversidade, caracterização de acessos, bem como na associação dessas sequências a características de interesse na espécie alvo.

1.8 *Quantitative Trait Loci (QTL)*

Segundo Toledo et al. (2008), regiões do genoma responsáveis pela expressão fenotípica dos caracteres com distribuição contínua, ou seja, caracteres quantitativos, recebem o nome de QTLs. Com o surgimento da tecnologia dos marcadores moleculares é possível mapear essas regiões cromossômicas próximas ou que exerçam interferência nessas características. A MAS pode auxiliar na realização desse mapeamento, visto que é fundamentada no mapeamento e associação de marcadores a genes de interesse. Suas etapas envolvem a identificação de marcadores associados aos genes de interesse, confirmação da ligação e estimação da distância genética entre marcadores e genes em centimorgan (cM), e a construção de um mapa genético (RESENDE et al., 2013). Os marcadores empregados no mapeamento de QTL a genes de interesse podem ser os mesmos utilizados em estudos de variabilidade genética nas espécies.

Porém, antes de se estimar um marcador associado a um caráter de interesse, é necessário buscar dividir a população de interesse em classes genotípicas diferentes levando em consideração os fenótipos do loco marcador. Uma vez separados os indivíduos das populações, o próximo passo é a utilização de métodos estatísticos para determinar se os indivíduos que formam as diferentes classes genotípicas diferem significativamente. Para isso, deve-se levar em consideração o caráter em questão (TANKSLEY, 1993). O teste de segregação de Mendel, utilizando o X^2 , testa se as classes genotípicas observadas nas populações diferem das que foram observadas no marcador. Em seguida, pode ser realizado o mapeamento, quando observada diferença significativa, possivelmente, os genes que controlam a característica de interesse estão ligados ao loco marcador. Para verificar a significância dessas associações são, comumente, utilizadas a razão de verossimilhança (LR) ou LOD score, onde os seus valores são estimados para cada posição do cromossomo e então expressos em figuras, buscando facilitar a visualização (SCHUSTER e CRUZ, 2008).

Considerando estudos de marcadores associados a características morfológicas para a cultura da melancia, a maioria dos trabalhos encontrados estão relacionados a resistência dos genótipos a diferentes patógenos, a exemplo do trabalho de Gama et al. (2015b) que encontraram marcadores SSR associados a loci de resistência ao ódio. Além de marcadores associados à resistência às doenças, apesar de serem incipientes, existem estudos que tratam da associação de marcadores à aparência dos frutos de melancia, a exemplo do trabalho de Gama et al. (2015a), que identificou dois marcadores relacionados ao padrão de listras em melancia.

Além desses marcadores, são encontrados na literatura *primers* desenvolvidos para a cultura: aqueles desenvolvidos por Cheng et al. (2016); Jarret et al. (1996); Guerra-Sanz (2002); Joobeur et al. (2004); e Ren et al. (2012), utilizados em estudos de diversidade, mas que podem ser utilizados dentro dos programas de melhoramento para a melancia buscando identificar aqueles que estejam associados a características de interesse, a exemplo, do tamanho de semente.

1.9 Referências

- ARAGÃO, C. A.; IGNA DEON, M. D.; QUEIRÓZ, M. A. de.; DANTAS, B. F. Germinação de sementes de melancia com diferentes ploídias submetidas a tratamentos pré-germinativos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 82-86, 2006.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Livro técnico e científico. EDUSP: São Paulo, 255pp. 1978.
- BINDA, M. R. A. Aspectos econômicos da produção de melancia. In: Guimarães, M. de A. (ed) **Produção de melancia**. UFV, Viçosa, 2013. p. 17-26.
- BISWAS, R.; DEY, T.; DATTA, S. A comprehensive review on watermelon seed- the spitted one. **International Journal of Current Research**, v. 8, n. 8, p. 35828-35832, 2016.
- BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016. 384 p.
- BUENO, L. C. de S. **Melhoramento genético de plantas: Princípios e procedimentos**. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013. 319 p.
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B. de; BRITO, G. G. de; SAKUYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (ed) **Marcadores moleculares**. UFV, Viçosa, 2016. p. 11-94.
- CARVALHO, R. N. de. **Cultivo de melancia para a agricultura familiar**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2016. 175 p.
- CHARNET, R.; FREIRE, C. A. de L.; BONVINO, H.; CHARNET, E. M. G. **Análise de modelos de regressão linear**. Campinas: Unicamp, 2008. 357 p.
- CHENG, Y.; LUAN, F.; WANG, X.; GAO, P.; ZHU, Z.; LIU, S.; ABDUL, M. B.; ZHANG, Y. Construction of a genetic linkage map of watermelon (*Citrullus lanatus*) using CAPS and SSR markers and QTL analysis for fruit quality traits. **Scientia Horticulturae**, v. 202, n. 1, p. 25-31, 2016.
- COSTA NETO, P. L. O. **Estatística**. 2. ed. São Paulo: E: Blucher, 2009. 280 p.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. v.2, 585 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. vol. 2. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012, 668 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. vol. 1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2014, 514 p.

DIAS, R. de C. S.; QUEIROZ, M. A. de; COSTA, N. D.; SOUZA, F. de F.; ALMEIDA, M. C. B. de; ARAUJO, H. M.; LIBERALINO FILHO, J.; PEREIRA, A. B.; BAHIA, J.; LIMA, R. N. dos S.; ANJOS, J. B. dos; PEREIRA, F. A.; ALVES, D. da C.; ARAÚJO, J. P. de. **BRS Opara: melancia resistente ao oídio**. Petrolina: EMBRAPA Semiárido, 2007. 1 Folheto.

DIAS, R. de C. S.; QUEIROZ, M. A. de; MENEZES, M. Fontes de resistência em melancia a *Didymella bryoniae*. **Horticultura Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 15-18, 1996.

DIAS, R. de C. S.; RESENDE, G. M. Socioeconomia. In: DIAS, R. de C. S.; RESENDE, G. M. (Ed.). **Sistema de produção de melancia**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. (Embrapa Semiárido. Sistemas de Produção, 6). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/socioeconomia.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2021.

ESQUINAS-ALCAZAR, J. T.; GULICK, P. J. **Genetic resources of Cucurbitaceae**. Rome: IBPGR, (IBPGR-82/84), 101PP. 1983.

FERREIRA, M. A. J da F.; VENCOSKY, R.; QUEIRÓZ, M. A. de.; BORGES, R. M. E. Depressão endogâmica em uma população de melancia. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS**, 1., 2001, Goiânia. Anais... Goiânia: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2006. p.1-4. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/9077/1/OPB961.pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2021.

GAMA, F. C.; VIZA, R. Uso culinário. In: NETO, C. R.; TEIXEIRA, C. A. D.; FERNANDES, C. F.; GAMA, F. de C.; SOUZA, F. de F.; FRANDERSON, J. E.; COSTA, J. N. M.; QUEIRÓZ, M. A. de; DIAS, R. de C.; VIZA, R.; HOLANDA FILHO, Z. F. (Ed. 21). **Cultivo da melancia em Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p.96-103.

GAMA, R. N. C. de S.; SANTOS, C. A. F.; DIAS, R. C. S.; ALVES, J. C. S. F.; NOGUEIRA, T. O. Microsatellite markers linked to the locus of the watermelon fruit stripe pattern. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 1, p. 269-276, 2015. (a)

GAMA, R. N. C. S.; SANTOS, C. A. F.; DIAS, C. S. D.; SOUZA, R. R. C.; QUEIROZ, M. A. Microsatellite markers linked to powdery mildew resistance locus in watermelon. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 1, p. 92-97, 2015. (b)

GUERRA-SANZ, J. M. Citrullus simple sequence repeats markers from sequence databases. **Molecular ecology notes**. v. 2, n. 3, p. 223-225, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes/SIDRA. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/5457>>. Acesso em: 24 fev. de 2020.

JARRET, R. L.; MERRICK, L. C.; HOLMS, T.; EVANS, J, ARADHYA, M. K. Simple sequence repeats in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). **Genome**, v. 40, n. 4, p. 433-441, 1996.

JOBST, J.; KING, K.; HEMLEBEN, V. Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family Cucurbitaceae. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 9, p. 204-219, 1998.

JOUBEUR, T.; KING, J. J.; NOLIN, S. J.; THOMAS, C. E.; DEAN, R. A. The fusarium resistance locus From-2 of melon contains a single resistance gene with complex features. **Journal Plant J**, New York, v. 39, n. 1, p. 283-297, 2004.

KLIN, R. B. Latent variable path analysis in clinical research: a beginner's tour guide. **Journal of Clinical Psychology**, v. 47, n. 4, p. 471-484, 1991.

KOSACK, M.; AZEVEDO, R. A. Does using stepwise variable selection to build sequential path analysis models make sense. **Physiologia Plantarum**, v. 141, n. 3, p. 197-200, 2011.

LAMAS, N. S.; FERREIRA, M. A.; AMARAL, Z. P. S.; VIEIRA, J. V.; FERREIRA, M. A. J. F.; BUSO, G. S. C. Detecção de polimorfismo em melancia com primers microssatélites de melão. In: **47 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA**, 2007, PORTO SEGURO.

LIRA, M. T. R.; PEIXOTO, A. A. P.; FERREIRA, M. A.; FERREIRA, M. A. J. F.; AMARAL, Z. P. S.; BUSO, G. S. C. Transferibilidade, otimização e caracterização de marcadores microssatélites de melão para bucha. In: **II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS**, Brasília, 2008.

LIU, B. H. **Statistical Genomics: linkage mapping and QTL analysis**. Boca raton, Florida, USA: CRC Press, 1997, 610 p.

MELO, P. C. T. **Heterose e capacidade combinatória em um cruzamento dialélico parcial entre seis cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 1987, 108 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1987.

MÍLEO, L. de J. Principais doenças da cultura. In: GUIMARÃES, M. de A. ed. **Produção de melancia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013. p. 106-112.

MISTURA, C. C.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; PRIORI, D.; VILLELA, J. C. B. Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*). **Magistra**, v. 24, n. 4, p. 360-369, 2012.

NASCIMENTO, T. L. do.; SOUZA, F. de. F.; DIAS, R. de C. S.; SILVA, E. F. da. Agronomic characterization and heterosis in watermelon genotypes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 2, p. 170-177, 2018.

PEDROSA, J. F. **Cultivo da melanciaira**. Mossoró: DEA/ESAM, 1997. 50 p.

PROTHRO, J.; SANDILIN, K.; ABDEL-HALEEM, H.; BACHLAVA, E.; WHITE, V.; KNAPP, S.; MCGREGOR, C. Main and epistatic quantitative trait loci associated with seed size in watermelon. **Journal American Society for Horticultural Science**, v. 137, n. 6, p. 452-457, 2012.

PRIORI, D.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; OLIVEIRA, A. C.; VILELA, J. C. B.; MISTURA, C. C. Diversidade genética de *Cucurbita pepo*, *C. argyrosperma* e *C. ficifolia* empregando marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 361-368, 2013.

QUEIRÓZ, M. A. de. Potencial do germoplasma de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. **Horticultura Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 7-9, 1993.

QUEIRÓZ, M. A. de; DIAS, R. de C. S.; SOUZA, F. de F.; FERREIRA, M. A. J. da F.; ASSIS, J. G. A.; BORGES, R. M. E.; ROMÃO, R. L.; RAMOS, S. R. R.; COSTA, M. S. V. CRUZ, M. da; MOURA, C. L. Recursos genéticos e melhoramento de melancia no Nordeste brasileiro. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos Genéticos e Melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. Embrapa Semiárido/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 1999. Embrapa Semiárido, Disponível em: <http://www.cpatia.embrapa.br/catalogo/livrorg/melancia.pdf>. Acesso em: 24 out. 2019.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos. **Genética na agropecuária**. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008, 464 p.

REN, Y.; ZHAO, H. Q.; JIANG, J.; GUO, S.; ZHANG, H.; HOU, W.; ZOU, X.; SUN, H.; GONG, G.; LEVI, A.; XU, Y. A high resolution genetic map anchoring scaffolds of the sequenced watermelon genome. **PLoS one**, v. 7, n. 4, p. 1-10, 2012.

RESENDE, M. D. V de.; SILVA, F. F.; JÚNIOR, M. F. R. R. Genética de associação (GWAS). In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. (ed). **Biotecnologia aplica ao melhoramento de plantas**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013. p. 118-150.

ROMÃO, L. R. Northeast Brazil: a secondary center of diversity for watermelon (*Citrullus lanatus*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 47, n. 1, p. 207-213, 2000.

ROMÃO, R. L. **Dinâmica evolutiva e variabilidade de populações de melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] em três regiões do Nordeste Brasileiro**. 1995, 71 p. Tese (Mestrado em Agronomia), ESALQ, USP, Piracicaba.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C. D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004. 568 p.

SILVA, A. F.; SANTOS, C. A. F.; ARAUJO, F. P. de; LIMA NETO, F. P.; MOREIRA, J. N.; FERREIRA, M. A. J. F.; LEÃO, P. C. de S.; DIAS, R. de C. S.; ALBUQUERQUE, S. G. de. Recursos genéticos vegetais conservados na Embrapa Semiárido. In: SA, I. B.; SILVA, P. C. G. da. (Ed.). **Semiárido brasileiro: pesquisa, desenvolvimento e inovação**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. cap. 8, p. 274-315.

SILVA, L. da S.; MAROSTEGA, T. N.; GILIO, T. A. S.; SERAFIM, M. E.; ARAÚJO, K. L.; NES, G. L. Transferibilidade de marcadores microssatélites para espécies silvestres de maracujazeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 62, n. 1, p. 1-6, 2019.

- SILVA, M. L. da. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia** [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]. 2004, 72 f. Dissertação (Mestrado em genética) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.
- SILVA, M. L.; QUEIROZ, M. A.; FERREIRA, M. A. J. F.; BUSO, G. S. C. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 405-409, 2006.
- SOUZA, A. V. de C.; OLIVEIRA, B. S.; HEY, G. B. S.; WITT, S. H.; BALBI, M. E.; CAMPOS, F. R. Análise química e bromatológicas de semente e de óleo fixo de melancia (*Citrullus lanatus*, cucurbitaceae). **Visão Acadêmica**, v. 20, n. 1, p. 18-28, 2019.
- SOUZA, F. de F.; DIAS, R. de C. S. **BRS Soleil e BRS Kuarah: melancias de polpa amarela**. Petrolina: EMBRAPA Semiárido, 2011. Folheto.
- SOUZA, F. F. Cultivares. In: NETO, C. R.; TEIXEIRA, C. A. D.; FERNANDES, C. F.; GAMA, F. de C.; SOUZA, F. de F.; FRANDERSON, J. E.; COSTA, J. N. M.; QUEIRÓZ, M. A. de; DIAS, R. de C.; VIZA, R.; HOLANDA FILHO, Z. F. (Ed. 21). **Cultivo da melancia em Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p.34-44.
- SOUZA, F. F.; GAMA, F. C.; QUEIRÓZ, M. A. Análise da capacidade de combinação em cruzamentos dialélicos de três genótipos de melancia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 789-793, 2004.
- TANKSLEY, S. D. Mapping poligenes. **Annual Review of Genetics**, v. 27, n. 1, p. 205-233, 1993.
- TOLEDO, E. R.de.; LEANDRO, R. A.; SOUZA JUNIOR, C. L. de.; SOUZA, A. P. de. Mapeamento de QTLs: Uma abordagem Bayesiana. **Revista Brasileira de Bioma**, v. 26, n. 2, p. 107-114, 2008.
- TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2013.
- WHITAKER, T. W.; BEMIS, W. B. Cucurbits. In: **Simmonds**, N. W.(eds.) Evolution of crop plants. Longman, London, pp.64-69. 1976.
- WRIGHT, S. Correlation and causation. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 20, n. 7, p. 557-585, 1921.

2. CAPÍTULO I

ESTUDO DE HERANÇA ASSOCIADO AO TAMANHO DE SEMENTE EM POPULAÇÕES DE MELANCIA

2. ESTUDO DE HERANÇA ASSOCIADO AO TAMANHO DE SEMENTE EM POPULAÇÕES DE MELANCIA

RESUMO: Sementes de melancia são ricas em nutrientes, mas seu tamanho grande é um obstáculo para consumi-las junto com a polpa da fruta. O tamanho das sementes é um traço agrônômico importante, uma vez que cultivares de sementes pequenas facilitam o consumo junto da polpa aumentando o aproveitamento das propriedades nutraceuticas da fruta, o que objetivou neste trabalho estudar a herança do tamanho das sementes em populações de melancia, buscando fornecer suporte técnico para seleção de tamanho de semente no desenvolvimento de novos genótipos da espécie. Foram mensurados o comprimento de sementes de seis populações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁ e RC₂, utilizando o procedimento de gerações segregantes e não segregantes do software GENES, por meio deste, foi possível concluir que a herança para o tamanho de semente nas populações estudadas é controlada por um gene com dois alelos, exibindo dominância incompleta. Além disso, dependendo das populações estudadas, a herança para o caráter em questão pode se comportar de maneira diferente. A seleção de indivíduos superiores, dentro das populações pode ser realizada com base no fenótipo, o que possibilita a exploração desses indivíduos dentro dos programas de melhoramento para compor linhas ou híbridos.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus*, melhoramento genético, semente pequena.

ABSTRACT: Watermelon seeds are rich in nutrients, but their large size is an obstacle to consuming them along with the pulp of the fruit. The size of the seeds is an important agronomic trait, since small seed cultivars facilitate consumption with the pulp, increasing the use of the nutraceutical properties of the fruit, which aimed in this study to study the seed size inheritance in watermelon populations, seeking provide technical support for seed size selection in the development of new species genotypes. The seed length of six populations P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁ and RC₂ were measured, using the procedure of segregating and non-segregating generations of the GENES software, by means of this, it was possible to conclude that the inheritance for the seed size in the studied populations is controlled by a gene with two alleles, exhibiting incomplete dominance. In addition, depending on the populations studied, the inheritance for the character in question may behave differently. The selection of superior individuals, within the populations can be carried out based on the phenotype, which allows the exploration of these individuals within the breeding programs to compose lines or hybrids.

Keywords: *Citrullus lanatus*, genetic improvement, small seed

2.1 Introdução

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] é uma das olerícolas mais produzidas no Brasil e, considerando o *ranking* mundial, de 2016, foi o 4º maior país produtor de melancia, com 2.090.432t da fruta ficando atrás apenas da China (79.043.138t), Turquia (3.928.892t) e Irã (3.813.850t) (FAO, 2018). O desenvolvimento de novos genótipos com atributos comerciais diferentes dos que já existem no mercado, a exemplo do reduzido tamanho das sementes, pode tornar a produção de melancia brasileira mais expressiva, visto que o mercado consumidor tem requerido, cada vez mais, frutas nutritivas e saudáveis (FARIAS et al., 2014).

Para o consumo *in natura*, quanto menor o tamanho da semente mais fácil se torna o consumo da fruta, enquanto que, para a produção de farinhas e semeio no campo, quanto maior o tamanho da semente, maior será a produção e mais fácil o plantio. Desse modo, compreender o controle genético das características é importante para o desenvolvimento de genótipos destinados às mais variadas aptidões (LI et al., 2018). Entretanto, vale ressaltar que as informações sobre o comportamento genético das características em melancia são escassas, e em se trata do tamanho das sementes, além de raros, são bastante antigos, o que caracteriza como sendo um dos principais entraves para melhoristas.

Em estudos anteriores Poole et al. (1941) citado por Li et al. (2018), descreveram que o controle genético do tamanho de semente foi conferido por dois genes ‘s’ e ‘l’, sendo ‘s’ epistático para ‘l’. Alguns anos depois foram descritos os genes ‘Ti’ para semente minúscula e ‘ti’ para semente tomate (TANAKA et al., 1995; LI et al., 2018). De acordo com Yong et al. (2009), o tamanho de semente em melancia pode ser classificado em: gigante, grande, média, pequena, micro e tomate. Além do tamanho de semente são relatados estudos de herança para outras características na melancia, como o rendimento de fruto (KUMAR e WEHNER, 2013), massa de semente (ADJUMAN et al., 2016), resistência ao vírus PRSV-W (Alves et al., 2014), semente Egusi (GUSMINI et al., 2004), sugerindo que antes de realizar o melhoramento de um caráter é necessário o conhecimento do controle genético dentro das populações de interesse.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi estudar a herança do caráter tamanho de semente em populações de melancia.

2.2 Material e Métodos

Obtenção das populações

Os experimentos foram conduzidos entre 2017 e 2018 no Campo Experimental de Bebedouro na Embrapa Semiárido em Petrolina-PE. Foram utilizadas duas linhagens de melancia, contrastantes para o tamanho de semente: a linhagem 31715.001 “P₁” (semente pequena) e a linhagem 31717.005 “P₂” (semente grande), para obtenção das populações F₁, F₂, RC₁ e RC₂. Para isso, foram realizados cruzamentos, com polinização manual controlada (PMC), seguindo a metodologia utilizada por Nascimento et al. (2018).

Para obtenção da população F₁, entre janeiro e abril de 2017, as sementes das linhagens foram semeadas em bandejas de poliestireno, contendo substrato comercial para hortaliças e mantidas em casa de vegetação por 12 dias. Após esse período, efetuou-se o transplântio das mudas para o campo.

Na geração seguinte, cinco sementes dos genitores (P₁ e P₂) e da população F₁, foram semeadas, durante os meses de maio a agosto de 2017, e, utilizando-se a PMC, o F₁ foi autofecundado, e simultaneamente cruzado com os genitores P₁ e P₂, originando as sementes das populações F₂, RC₁ e RC₂, respectivamente. Em seguida, todas as populações obtidas foram avaliadas em campo, durante os meses de maio a agosto de 2018, com polinizações livres.

Para a PMC na fase de florescimento, as flores masculinas e femininas das linhagens e do híbrido F₁, foram isoladas na pré-antese, utilizando saquinho de papel alumínio. No dia seguinte, as flores masculinas abertas foram destacadas das plantas, suas pétalas afastadas para expor suas anteras, e, em seguida, os grãos de pólen foram depositados suavemente sobre os estigmas das flores femininas. Após esse procedimento, as flores submetidas à PMC foram identificadas com etiquetas de cartolina, contendo informações dos cruzamentos parentais, planta e a data da PMC. Posteriormente, essas flores foram isoladas novamente pelo período de 72 horas. Entre 30 e 35 dias após a polinização, os frutos foram colhidos, suas sementes extraídas, lavadas e postas para secar a sombra.

A adubação de plantio foi realizada com base na análise de solo e recomendação de Mendes et al. (2010), sendo colocado em fundação 30 kg ha⁻¹ de N, 80 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e 30 kg ha⁻¹ de K₂O, mais 15 kg ha⁻¹ de ZnSO₄ e 10 kg ha⁻¹ de CuSO₄. A adubação de cobertura foi realizada via água de irrigação, utilizando-se 50 kg ha⁻¹ de N, na forma de Ca (NO₃)₂ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O, sendo utilizado KCl, aplicados até 50 e 60 dias após o semeio, respectivamente.

A irrigação foi por gotejamento, e a lâmina diária de água aplicada conforme necessidade da cultura, em função das condições climáticas, monitorada por estação meteorológica localizada próxima à área experimental. Os coeficientes da cultura (Kc's), utilizados para cálculo da evapotranspiração da cultura (ETc), foram os obtidos por Freitas & Bezerra (2004) na região de Canindé-CE, em melancia 'Crimson Sweet' e os valores correspondentes foram: 0,46 a 0,70 na fase vegetativa, 0,89 a 1,22 na floração e 1,14 a 0,74 na frutificação.

Os tratos fitossanitários foram realizados pela aplicação de agroquímicos registrados para a cultura junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), e o manejo de plantas daninhas por capina manual.

Fenotipagem associada ao tamanho de semente em populações F₁, F₂, RC₁, RC₂ e genitores de melancia

Durante os meses de abril a agosto de 2018, e suas sementes de todas as populações foram postas para germinar em bandejas de poliestireno expandido, contendo substrato comercial para hortaliças. Aos 12 dias após o semeio, efetuou-se o transplântio das mudas em fileira contínua, para o Campo Experimental de Bebedouro, em solo previamente preparado e coberto com *mulching* plástico de coloração cinza, no espaçamento de um metro entre plantas e 2,5 entre fileiras. Após o transplântio, as mudas foram cobertas com manta agrotêxtil até o período de floração, ocasião em que esta foi removida para que houvesse a polinização. As sementes de cada população foram oriundas de um único fruto.

Aos 70 dias após o plantio realizou-se a colheita dos frutos, as sementes foram extraídas, lavadas e postas para secar à sombra. Foram avaliadas oito, dez, sete, 271, 95 e 94 plantas das populações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁ e RC₂, respectivamente.

Para investigar a herança do tamanho de sementes em melancia, foi mensurado seu comprimento devido esse carácter apresentar-se altamente correlacionado com a largura e peso (Hawkins & Dane, 2001). O comprimento de 10 sementes foi determinado com auxílio de paquímetro digital, seguindo a metodologia utilizada por Nascimento et al. (2018), escolhidas de forma aleatória em um fruto de cada planta.

Em seguida, foram estimadas a média e a variância: [P₁ ($\sigma_{f(P_1)}^2 = \sigma_{m(P_1)}^2 = \sigma_{P_1}^2$); P₂ ($\sigma_{f(P_2)}^2 = \sigma_{m(P_2)}^2 = \sigma_{P_2}^2$); F₁ ($\sigma_{f(F_1)}^2 = \sigma_{m(F_1)}^2 = \sigma_{F_1}^2$); F₂ ($\sigma_{f(F_2)}^2 = \sigma_{g(F_2)}^2 + \sigma_{m(F_2)}^2$), RC₁

($\sigma_{f(RC_1)}^2 = \sigma_{g(RC_1)}^2 + \sigma_{m(RC_1)}^2$) e RC_2 ($\sigma_{f(RC_2)}^2 = \sigma_{g(RC_2)}^2 + \sigma_{m(RC_2)}^2$)] nas populações. Sendo: σ_f^2 a variância fenotípica; σ_m^2 a variância média; e σ_g^2 a variância genética

Estimou-se também o Grau Médio de Dominância (GMD) do caráter com base nas variâncias, pelo modelo: $GMD = 2 \bar{F}_1 - (\bar{P}_1 + \bar{P}_2) / \bar{P}_1 - \bar{P}_2, \dots$, a herdabilidade no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2):

$$h_a^2 = \frac{\sigma_{g(F_2)}^2}{\sigma_{f(F_2)}^2} = \frac{\sigma_{f(F_2)}^2 - (\sigma_{P_1}^2 + 2\sigma_{F_1}^2 + \sigma_{P_2}^2) / 4}{\sigma_{f(F_2)}^2}$$

$$h_r^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_{f(F_2)}^2} = \frac{2\sigma_{f(F_2)}^2 - [\sigma_{f(RC_1)}^2 + \sigma_{f(RC_2)}^2]}{\sigma_{f(F_2)}^2}$$

Foram estimados os valores de k_1 (com base na variância) e de k_2 (baseado na média), em que $k = 0$ determina a ausência de dominância ($k=0$ =aditiva), $0 \leq k \leq 1$ indica dominância parcial, $k > 1$ indica sobredominância, enquanto que $k=1$, indica dominância completa (CRUZ et al., 2012).

Estimou-se também o número mínimo de genes (NMG) que controlam o caráter, pela formula: $n = (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)^2 / 8[\sigma_{g(F_2)}^2]$. Utilizaram-se os recursos computacionais do software Genes, por meio do procedimento “gerações segregantes e não segregantes” (Cruz, 2016).

Em seguida, empregou-se o teste do Qui-quadrado (X^2) (RAMALHO et al., 2008) a 5% de probabilidade para verificação do padrão mendeliano dentro da população F_2 . Seguindo o modelo:

$$x^2 = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(\text{Obs}_i - \text{Esp}_i)^2}{\text{Esp}_i} \right]$$

onde:

X^2 é valor de qui-quadrado calculado;

i Obs e i Esp, são as frequências observadas e esperadas, para a i -ésima classe fenotípica ($i= 1, 2, \dots, n$), respectivamente.

O índice de seleção também foi estimado (CRUZ et al., 2012). Seguindo o modelo $GS = DS \frac{C\hat{v}(X,Y)}{\sigma_{fx}^2}$. Sendo: GS= ganho por seleção; DS= diferencial de seleção; $C\hat{v}(X,Y)$ = estimador da covariância genética entre os indivíduos testados e os indivíduos da população melhorada; e σ_{fx}^2 = estimador da variância fenotípica entre as unidades testadas.

2.3 Resultados e Discussão

A média, a variância e o desvio padrão para o comprimento de semente dos genitores utilizados, para originar as populações segregantes (Tabela 1), apresentaram valores contrastantes entre si, evidenciando a existência de variabilidade genética entre os mesmos, adequando-se à pressuposição de Cruz et al. (2014), que preconizam, para se obter melhor precisão nas análises genéticas é necessário que os genitores sejam contrastantes para o caráter em estudo, fato ocorrido no presente estudo. Ainda segundo esses mesmos autores, a estimativa de parâmetros genéticos permite identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle do caráter, essas informações podem ser utilizadas como ferramenta auxiliar útil na condução dos programas de melhoramento genético de melancia da Embrapa Semiárido.

Tabela 1. Número de plantas, médias, variâncias e desvios padrões do tamanho de semente, avaliadas em seis populações de melancia (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*).

Gerações (semente)	Nº de Indivíduos	Médias (mm)	Variâncias	Desvios padrões
P ₁ (pequena)	8	5,90	0,0286	0,17
P ₂ (grande)	10	11,63	0,0934	0,31
F ₁ (média)	7	6,89	0,0214	0,15
F ₂ (¼ pequena, ½ média e ¼ grande)	271	7,71	5,4044	2,32
RC ₁ (½ pequeno e ½ médio)	95	6,24	0,2474	0,50
RC ₂ (½ médio e ½ grande)	94	9,68	5,4711	2,34

As variâncias e os desvios padrões expressos pelos genitores e o híbrido, apresentaram baixos valores, enquanto que as populações F₂ e RC₂ apresentaram valores

elevados o que era esperado, visto que o fenótipo dos indivíduos que compõem as populações P_1 , P_2 serem na grande maioria e origem genética, uma vez que foram autofecundadas sete vezes. Desse modo, toda e qualquer variação dentro dessas populações são de origem ambiental, esse mesmo comportamento é esperado na população F_1 , por ter sido originada a partir desses genitores. Resultados similares foram relatados por Kumar e Wehner (2013), que ao estudarem a herança de rendimento de frutos em gerações de melancia, também observaram altos valores para a variância dentro das populações F_2 e RC_2 . Os maiores valores em ambos os estudos, possivelmente, sejam atribuídos a segregação gênica dentro dessas populações ser maior que nas demais.

Apesar da melancia ser uma espécie alógama, os baixos valores para a variância nas populações P_1 , P_2 e F_1 , do presente estudo, se devem, principalmente, a fatores ambientais, visto que os genitores utilizados para originar as populações segregantes são linhagens levadas a sete ciclos de autofecundações. Desse modo, considera-se que cada uma das plantas dessas gerações corresponde a um mesmo genótipo, enquanto que espera-se maiores valores para a variância das populações F_2 e de retrocruzamentos, devido à interação dos fatores genéticos, pois são populações, acrescida das variações ambientais (CRUZ et al., 2014).

A população F_2 apresentou a quarta menor média. Segundo Zewdie e Bosland (2000), a depender da interação para o caráter, a média para essa população pode aumentar ou diminuir, sinalizando que os genitores estão contribuindo com alelos para aumentar ou diminuir a característica em estudo. Com base nessa informação, a média da F_2 , possivelmente, se deve a maioria dos indivíduos ter sido classificada como sendo de tamanho de sementes pequeno e tamanho médio, que juntas, representam aproximadamente 75% do total de indivíduos.

Com base nas estimativas de parâmetros genéticos da população F_2 (Tabela 2), quando comparadas à variância ambiental, a variação genética apresentou maior influência. Resultado semelhante foi observado por Nascimento et al. (2016) que, ao avaliarem características relacionadas à produtividade em melancia, também encontraram variância genética superior à ambiental. Esses resultados evidenciam que o ambiente exerce pouca influência na expressão fenotípica do caráter avaliado nas populações, e que o fenótipo observado foi, na sua grande maioria, de origem genética.

As estimativas das variâncias fenotípica, genotípica, aditiva e ambiental mostraram que a contribuição dos genes de efeito aditivo em relação aos de dominância para o tamanho de semente foi expressivo (Tabela 2), caracterizando possível interação alélica

aditiva. Corroborando o presente trabalho, Tanaka et al. (1995), ao estudarem a herança do formato de fruto e tamanho de semente em duas populações contrastantes de melancia, também observaram que o tamanho de semente era governado predominantemente por interação alélica aditiva, sendo o fenótipo semente pequena um caráter de fácil melhoria.

Contudo, Adjoumani et al. (2016), ao estudarem a genética de características de sementes resultantes do cruzamento intraespecífico de variedades distintas de melancia, observaram que os efeitos dos genes para o caráter em questão tiveram interação alélica de dominância. O contraste de resultados observados entre os autores pode ser atribuído à diferença genética das populações avaliadas nos diferentes trabalhos, uma vez que a herança pode se comportar de maneira diferente nas populações.

Tabela 2. Parâmetros genéticos relacionados ao comprimento de semente em uma população F₂ de melancia, obtida mediante o cruzamento de linhas contrastantes.

Parâmetro	Valor
Variância fenotípica (σ_p^2)	5,404
Variância ambiental (σ_e^2)	0,041
Variância genotípica (σ_g^2)	5,363
Variância aditiva (σ_{ad}^2)	5,090
Variância dos desvios de dominância (σ_d^2)	0,273
Herdabilidade no sentido amplo (h_a^2)	99,237
Herdabilidade no sentido restrito (h_r^2)	98,189
Grau médio de dominância (GMD)	0,327
Número mínimo de genes que controlam o carácter (NMG)	1,816
Valor máximo (mm)	12,8
Valor mínimo (mm)	4,2

Vale ressaltar que a predominância da interação alélica aditiva facilita as etapas de seleção, visto que indivíduos superiores também apresentam descendência superior (CRUZ et al., 2014). No caso de interação alélica de dominância, a mesma pode ser explorada dentro dos programas de melhoramento na composição de híbridos.

Foi observado dentro da F₂, um indivíduo promissor para o menor tamanho de semente (4,2 mm) (Tabela 2). O mesmo pode ser explorado para dar origem a uma cultivar de polinização aberta com tamanho de semente pequena, bem como apresenta

aptidão para originar uma linhagem de menor tamanho de semente, podendo ser utilizada para compor combinações híbridas que resultarão em genótipos com tamanho de semente reduzida, visto que o menor tamanho de semente é dominante em relação a grande e o tamanho médio, dominante ao pequeno e grande (GUNER e WEHNER, 2004).

A exploração desse transgressivo (quando apresenta comportamento fora dos extremos) para compor híbridos com tamanho de semente reduzida pode ser bastante promissor, uma vez que produtores irão adquirir sementes híbridas com tamanho maior, facilitando o plantio, enquanto que os frutos desses híbridos apresentarão sementes menores, aumentando a facilidade de consumo das sementes junto da fruta e oferecendo um diferencial de mercado se comparado aos demais genótipos.

No presente estudo, os indivíduos da população F_2 apresentaram, aproximadamente, as seguintes porcentagens fenotípicas para o tamanho de semente: pequena (25%), média (50%) e grande (25%). Estudos de herança anteriores para características de semente em melancia, a exemplo do peso, evidenciaram que a segregação monogênica de 3:1, não se ajustou conforme o esperado, sendo, contudo, bastante próxima para sugerir que a menor massa de semente era monogênica e dominante sobre a maior massa de semente (WEETMAN, 1937).

Resultado semelhante foi observado no presente estudo para o tamanho de semente, em que o menor tamanho, apesar de não ter se ajustado conforme o esperado, na proporção de 3:1, apresentou-se bastante próximo, na proporção de 1:2:1, sugerindo que o caráter é controlado por um gene com dois alelos.

O caráter tamanho de semente apresentou alta herdabilidade no sentido amplo, bem como no sentido restrito (Tabela 2). Resultados semelhantes foram observados por Amburani, (2018) que, ao estudar a herdabilidade em características morfoagronômicas em 30 genótipos de melancia, obteve estimativas de herdabilidade superior a 80% para sete das 13 características avaliadas, entre elas o peso de 100 sementes e o número de sementes por fruto. Segundo Cruz et al. (2014), a herdabilidade no sentido restrito representa a variância do tipo aditiva fixada nas populações como resultado do avanço das gerações. Com base nessas informações, considera-se alta a correlação do valor fenotípico com o genético para o caráter em questão, sendo possível selecionar indivíduos com menor tamanho de semente tendo como base o fenótipo dos mesmos.

Para se fazer inferência do grau médio de dominância e determinar a melhor estratégia a ser adotada para se chegar ao melhoramento do caráter, foram calculados os valores de k_1 (0,33) e k_2 (0,66) e ambos apresentaram concordância entre si, indicando a

existência de dominância incompleta para o tamanho de semente nas populações estudadas. Adjoumani et al. (2016), ao estudarem a genética de características de sementes resultantes do cruzamento intraespecífico de variedades distintas de melancia, encontraram esse mesmo resultado. Os resultados do presente estudo reforçam a eficiência na seleção de plantas de melancia com semente pequena, visto que a variância aditiva para o fenótipo foi predominante.

O valor mínimo quantificado para o número de genes envolvidos no controle do caráter foi de 1,82 (Tabela 2). Contudo, biologicamente e com base no fenótipo, foi verificado o controle genético regido por um gene. Essa informação é importante para se estimar o tipo de herança que controla um caráter quanto à sua natureza (LOBO et al. 2005). No presente trabalho, o tamanho de semente é controlado por um gene com dois alelos, indicativo de que métodos de melhoramento mais simples, a exemplo, da seleção massal, podem ser utilizados para a obtenção de cultivares com menor tamanho de sementes.

Quando observado o teste do Qui-quadrado para as populações (Tabela 3), observou-se que não houveram diferenças significativas para quase todas as populações, com exceção da RC₂, para as frequências observadas e esperadas, associada a segregação fenotípica da população RC₁, que deveria apresentar todos os indivíduos com tamanho de semente pequena, considerando um caráter monogênico com dominância completa. No entanto, foi observado que os indivíduos foram divididos em semente pequena e média, confirmando a hipótese de um gene com dois alelos controlando o caráter e de dominância parcial.

Tabela 3. Teste do Qui-quadrado em populações de melancia para investigação da segregação para um *loci* com dominância parcial seguindo a proporção de 1:2:1.

Geração	Observado			Esperado			¹ X ²	GL	P
	Pequeno	Médio	Grande	Pequeno	Médio	Grande			
P ₁	8	0	0	8,0	0	0	-	-	-
P ₂	0	0	10	0	0	10,0	-	-	-
F ₁	0	7	0	0	7,0	0	-	-	-
F ₂	64	130	49	67,75	135,5	67,75	5,62 ^{ns}	2	0,05
RC ₁	45	50	0	47,5	47,5	0	0,263 ^{ns}	1	0,05
RC ₂	0	33	54	0	47,0	47,0	5,213*	1	0,05

^{1 ns}, * não significativo e significativo, respectivamente, ao nível de 5% de probabilidade (P) pelo teste do Qui-quadrado (X^2). GL= graus de liberdade

Resultados divergentes foram observados por Poole et al. (1941), que ao estudarem a herança para o comprimento da semente por meio da avaliação do cruzamento entre sementes de tamanho pequeno e grande, pequeno e médio, e médio e grande, propuseram que o caráter era controlado por dois genes, devido as sementes de tamanho médio serem dominante sobre o tamanho pequeno e grande. Baseado nesses resultados, os autores propuseram que os genes recessivos *l* e *s*, condicionavam os fenótipos de sementes grandes e pequenas, respectivamente. Ainda, segundo os mesmos autores, entre os genótipos avaliados o gene *s* foi epistático para *l*, e que as designações *LL SS* foram atribuídas para o tamanho médio, *ll SS* para o tamanho grande e *LL ss* ou *ll ss* para semente pequena.

Entretanto, resultado semelhante foi observado no presente estudo com os que foram reportados por Tanaka et al. (1995), onde propuseram que em uma população de melancia descrita como "Sweet Princess", o tamanho de semente minúscula fosse monogênico, controlado pelo gene *Ti* e dominante sobre o médio, sendo, possivelmente, um caráter de herança simples.

A diferença de resultados observada no presente trabalho, possivelmente, evidencia que para o caráter em questão, e dependendo das cultivares envolvidas nos cruzamentos, a herança pode se comportar de maneira distinta e que a herança de um caráter diz respeito a população estudada, não sendo possível extrapolar a outras populações. Além disso, a metodologia adotada para a mensuração do tamanho de sementes foi quantitativa, expressa em mm, enquanto que o trabalho de Polle (1941) categorizou em classes, sendo uma avaliação qualitativa e que desconsidera diferenças mínimas de tamanho entre os indivíduos.

Os resultados obtidos pela predição do ganho pela seleção (Tabela 4), reforçam que para a melhoria do caráter em estudo o emprego de métodos de melhoramento mais simples podem ser eficientes, visto que o ganho com a seleção foi de 59% para os indivíduos de maior comprimento de semente e uma redução de pouco menos de 30% para os de menor tamanho, ou seja, é possível selecionar e recombinar os indivíduos de maior e menor comprimento de semente, buscando originar combinações híbridas com tamanho intermediários. Bem como explorar esses indivíduos separadamente buscando originar novas cultivares com diferentes aptidões.

Tabela 4. Predição do ganho de seleção para o tamanho de semente em uma população F₂ de melancia, obtida mediante o cruzamento de linhas contrastantes.

Parâmetros	Seleção	
	Maiores valores	Menores valores
MIS	12,577	5,285
DS	4,870	-2,422
GS (%)	59,516	-29,605
MP 1° S	12,294	5,425

¹MIS= Média dos indivíduos selecionados, DS= diferencial de seleção, GS (%) = ganho com a seleção em porcentagem e MP1°S= média predita para um ciclo de seleção.

2.4 Conclusões

- 1- A herança para o menor tamanho de semente nas populações estudadas é controlada por um gene com dois alelos, exibindo dominância incompleta;
- 2- Dependendo da população em estudo o comportamento da herança para o caráter, tamanho de semente, pode se comportar de maneira diferente;
- 3- A seleção de indivíduos superiores, para o menor tamanho de semente, dentro da população F₂, pode ser realizada com base no fenótipo;
- 4- Os indivíduos superiores podem ser explorados dentro dos programas de melhoramento para compor linhas ou híbridos.

2.5 Referências

ADJOURMANI, K.; BONY, S. B.; KOFFI, G. K.; KOUONON, L. C.; BROU, F. K.; SIE, R. Genetic evaluation of seed traits from intraspecific crossing of genetically distinct watermelon varieties. **African Crop Science Journal**, v. 24, n. 2, p. 143-154, 2016.

AMBURANI, A. Studies on genetic variability and genetic advance for yield parameters in watermelon (*Citrullus lanatus* Thumb.). **The Asian Journal of Horticulture**, v. 13, n. 2, p. 39-44, 2018.

ALVES, A. F.; NASCIMENTO, I. R. DO.; TICONA-BENAVENTE, C. A.; FARIA, M. V.; SARMENTO, R. DE A.; FIGUEIRA, A. DOS R.; MALUF, W. R. Herança da resistência do acesso de melancia PI 595201 a isolado de PRSV-W do Estado do Tocantins. **Bragantia, Campinas**, v. 73, n. 2, p.138-142, 2014.

CRUZ, C. D: Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

CRUZ, C. D.; REGAZI, A. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012, 668 p.
FARIAS, R. M.; BARRETO, C. F.; ZANDONÁ, R. R.; ROSADO, J. P.; MARTINS, C. R. Comportamento do consumidor de frutas na região da fronteira Oeste do Rio Grande do Sul com Argentina e Uruguai. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 872-883, 2014.

FREITAS, A. A.; BEZERRA, F. M. L. Coeficientes de cultivo para melancia nas suas fases fenológicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, n. 2, p. 319-325, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). FAOSTAT: Production crops. Available at: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Access on: 20 out 2019.

GATUT_WAHYU, A. S.; MANGOENDIDJOJO, W.; YUDONO, P.; KASNO, A. Mode of inheritance of genes control maturity in soybean. **Journal of Agricultural and**

Biological Science, v. 9, n. 5, p. 178-182, 2014.

GUNER, N.; WEHNER, T. C. The genes of watermelon. **Hortscience**, v. 39, n. 6, p. 1175-1182, 2004.

GUSMINI, G.; WEHNER, T. C.; JARRET, R. L. Inheritance of Egusi seed type in watermelon. **Journal of Heredity**, v. 95, n. 3, p. 268-270, 2004.

HAWKINS, L. K.; DANE, F. Molecular markers associated with morphological traits in watermelon. **Hortscience**, v. 36, n. 7, p. 1318-1322, 2001.

KUMAR, R.; WEHNER, T. C. Quantitative Analysis of Generations for Inheritance of Fruit Yield in Watermelon. **Hortscience**, v. 48, n. 7, p. 844-847, 2013.

LOBO, V. L. S.; GIORDANO, L. de B.; LOPES, C. Herança da resistência à mancha bacteriana em tomate. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 343-349, 2005.

MENDES, A. M. S.; FARIA, C. M. B.; SILVA, D. J. Adubação. In: DIAS, R. de C. S. et al. (Eds.). **Sistema de produção de melancia**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. Available at: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/adubacao.htm>>. Access em: 20 out. 2019.

NASCIMENTO, I. R.; SANTOS, L. B.; SILVA, E. H.; TAVARES, A. T.; FERREIRA, T. A.; OLIVEIRA, G. I. de S. Componentes de médias e variância para caracteres produtivos em melancia. **Revista Agri-Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 25-32, 2016.

NASCIMENTO, T. L.; SOUZA, F. F.; DIAS, R. C. S.; SILVA, E. F. Agronomic characterization and heterosis in watermelon genotypes. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 48, n. 2, p. 170-177, 2018.

POOLE, C. F. Inheritance of seed characters in watermelon. **Journal of Agricultural Research**, v. 63, n. 3, p. 433-456, 1941.

TANAKA, T.; WIMOL, S.; MIZUTANI, T. Inheritance of fruit shape and seed size of watermelon. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 64, n. 3, p. 543-548, 1995.

WEETMAN, L. M. Inheritance and correlation of shape, size, and color in the watermelon, *Citrullus vulgaris* Schrad. **Agricultural experiment station iowa state college of agriculture and mechanic arts**, v. 20, n. 228, p. 222-256, 1937.

YONG, J. K.; TAEJIN, Y.; HOON, P. Y.; JIK, L. Y.; CHEOL, K. S.; KWON, K. Y.; LAI, C. J. Development of near isogenic lines with various seed sizes and study on seed size-related characteristics in watermelon. **Korean Journal of Breeding Science**, v. 41, n. 4, p. 403-411, 2009.

ZEWDIE, Y.; BOSLAND, P. Capsaicinoid inheritance in an interspecific hybridization of *Capsicum annum* 9 *C. chinense*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 125, n. 4, p. 448-453, 2000.

2.6 ANEXOS

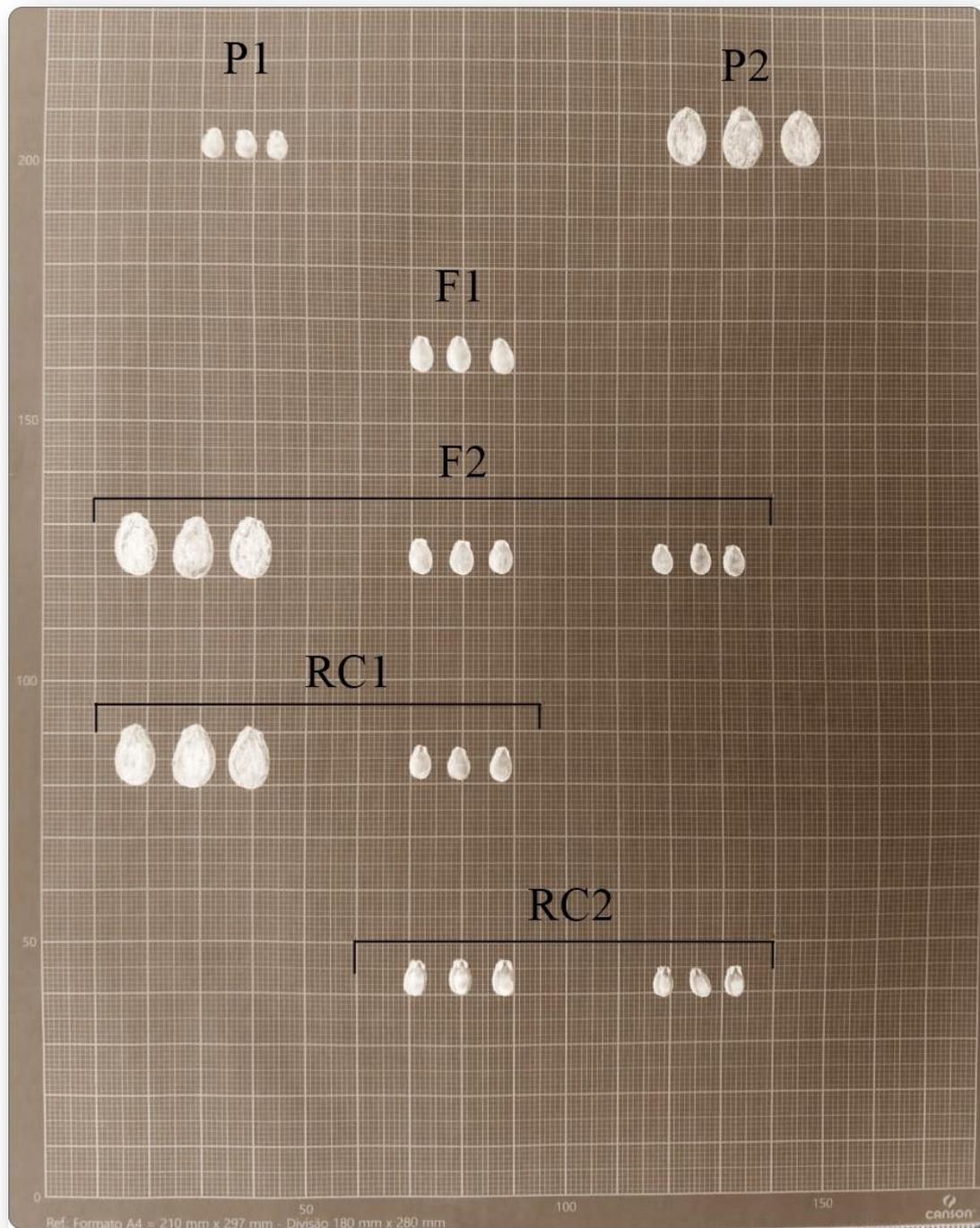


Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 1. Fenótipo do tamanho de semente em populações de melancia. P_1 =Genitor 1, P_2 = Genitor 2, F_1 = Híbrido, F_2 = Segregante, RC_1 = Retrocruzamento 1 ($F_1 \times P_1$) e RC_2 = Retrocruzamento 2 ($F_1 \times P_2$). A leitura é feita da esquerda para a direita e de cima para baixo.

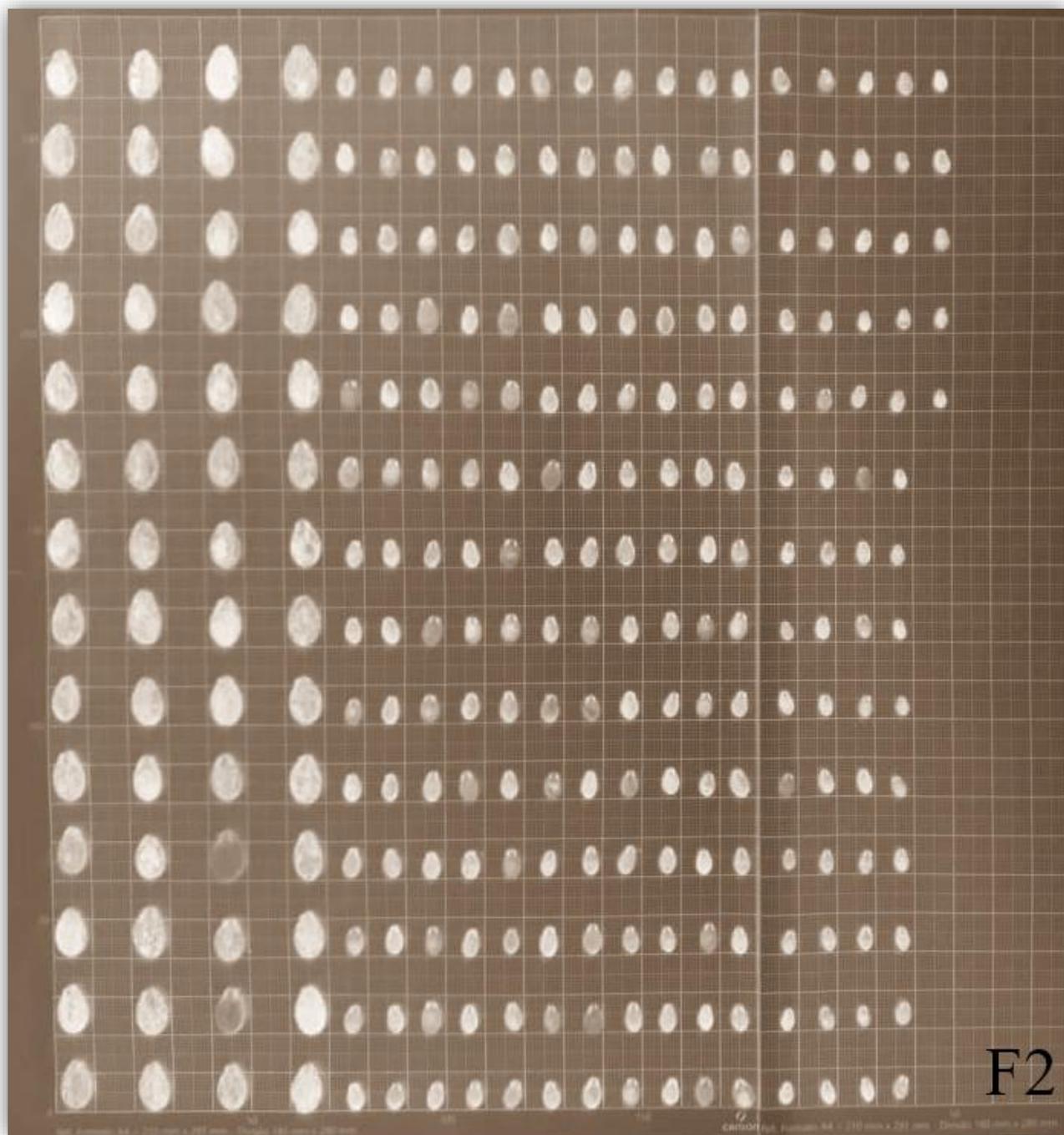


Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 2. Representação fenotípica do padrão de tamanho de semente em uma população segregante de melancia.

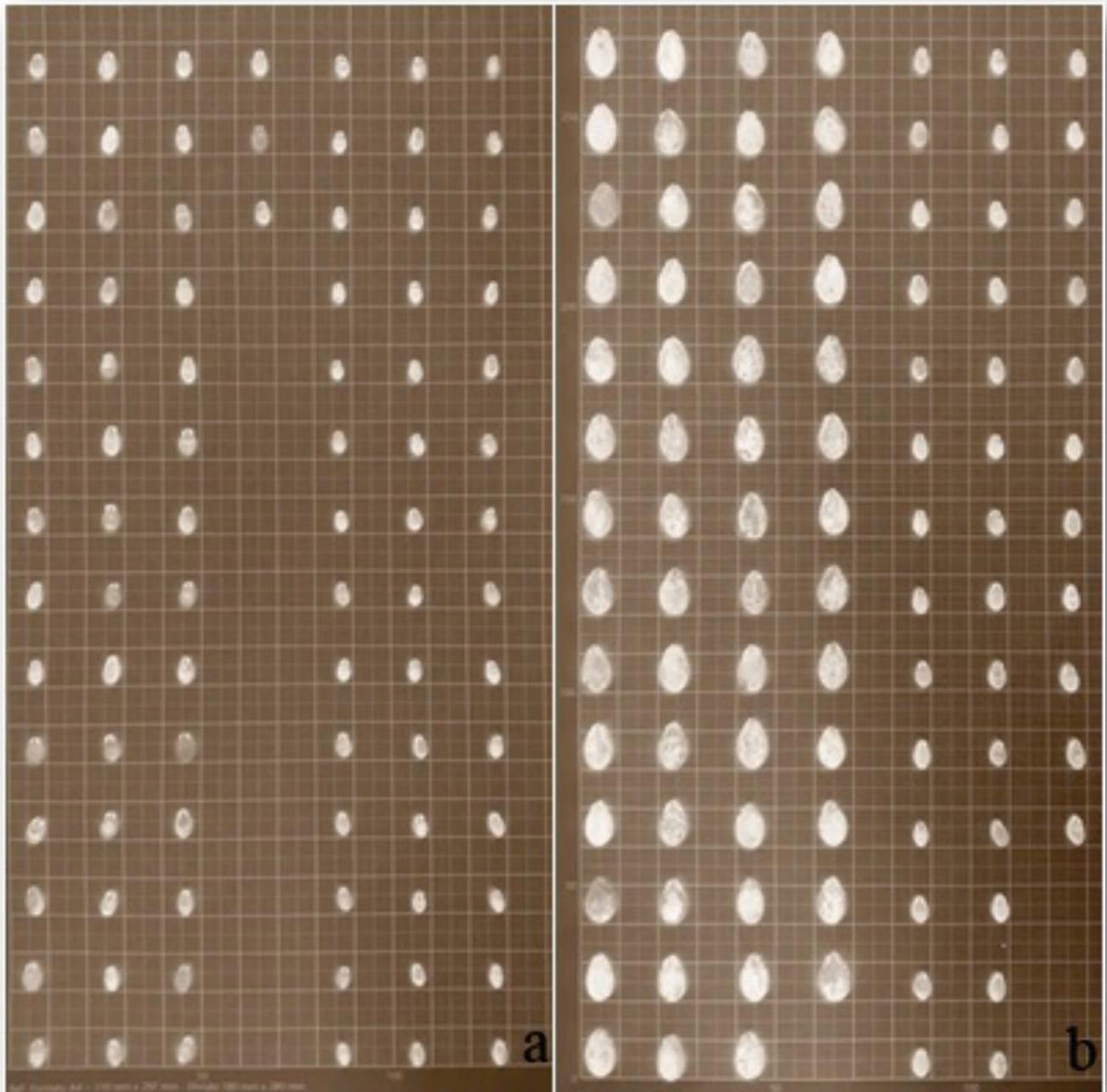


Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 3. Representação fenotípica do tamanho de semente em duas populações de retrocruzamentos de melancia. “a” RC₁= Retrocruzamento 1 (F₁ x P₁) e “b” RC₂= Retrocruzamento 2 (F₁ x P₂), respectivamente. A leitura é feita da esquerda para a direita e de cima para baixo.

3. CAPÍTULO II

**PARÂMETROS GENÉTICOS, CORRELAÇÕES E EFEITOS
DIRETOS E INDIRETOS EM CARACTERÍSTICAS
MORFOAGRONÔMICAS DE MELANCIA**

3. PARÂMETROS GENÉTICOS, CORRELAÇÕES E EFEITOS DIRETOS E INDIRETOS EM CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS DE MELANCIA

RESUMO: A atratividade em cultivar a melancia está intimamente ligada às características de planta (resistência ou tolerância a patógenos) e fruto (polpa vermelha, elevado teor de sólidos solúveis) presentes nos genótipos, inseridas por meio do melhoramento. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi estimar parâmetros genéticos, bem como observar as correlações e seus efeitos diretos e indiretos sobre características morfoagronômicas de melancia. Foram avaliadas seis populações de melancia em delineamento de blocos casualizados, empregando-se descritores associados à planta e fruto. Os dados coletados foram analisados quanto à normalidade e homogeneidade das variâncias, seguidos de análise de variância, correlações de Pearson, e análise de trilha em cumeeira. Os parâmetros genéticos evidenciaram maiores chances de sucesso com a seleção das características, devido a maior contribuição genotípica na expressão do fenótipo, bem como os altos valores da herdabilidade; além disso, o comprimento ou a largura de semente pode ser utilizada como variável resposta para o melhoramento do tamanho de semente; as correlações de Pearson evidenciaram que o tipo de listras no fruto pode ser utilizada como variável indireta promissora para o melhoramento do tamanho de semente, estando em consonância com os resultados da análise de trilha.

Palavras chave: *Citrullus lanatus*; associação; causa-efeito; análise de trilha

ABSTRACT: The attractiveness of cultivating watermelon is closely linked to the characteristics of plant (resistance or tolerance to pathogens) and fruit (red pulp, high content of soluble solids) present in the genotypes, inserted through breeding. Thus, the objective of the present work was to estimate genetic parameters, as well as to observe the correlations and their direct and indirect effects on morpho-agronomic characteristics of watermelon. Six watermelon populations were evaluated in a randomized block design, using descriptors associated with the plant and fruit. The collected data were analyzed for normality and homogeneity of variances, followed by analysis of variance, Pearson correlations, and trail analysis on the ridge. The genetic parameters showed greater chances of success with the selection of the characteristics, due to the greater genotypic contribution in the expression of the phenotype, as well as the high values of heritability;

in addition, the seed length or width can be used as a response variable for improving the seed size; Pearson's correlations showed that the type of stripes in the fruit can be used as a promising indirect variable for the improvement of seed size, being in line with the results of the trail analysis.

Keywords: *Citrullus lanatus*, association; cause-effect; track analysis

3.1 Introdução

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai] é uma espécie originária das regiões quentes da África, e foi introduzida no Brasil por decorrência do processo migratório (CARVALHO, 2016). Seus frutos são bastante consumidos, não só no Brasil, mas em todo o território mundial, possivelmente, devido ao sabor agradável e refrescante, atributos que interessam aos consumidores. Essa apreciação pelos frutos da melancia, no ano de 2018, destacaram a China (63.024.631t), Irã (4.113.711t), Turquia (4.031.174), Índia (2.520.000) e o Brasil (2.240.796t) como sendo os cinco países que mais produziram essa hortaliça (FAO, 2019). No caso do Brasil, em relação a área produzida a produção brasileira foi distribuída em uma área de 102.412 hectares (IBGE, 2019).

As melancias produzidas no Brasil são destinadas ao consumo interno, bem como para a exportação. Além disso, a aceitação dessa hortaliça dentro e fora do país, possivelmente, é atribuída aos diferentes caracteres de planta (tolerância/resistência a estresses bióticos) e fruto (polpa vermelho intenso, alto teor de sólidos solúveis etc.), características estas que são inseridas nos genótipos por meio dos programas de melhoramento genético da espécie, que buscam atender a máxima das exigências dos consumidores (FARIAS et al., 2014), bem como, levam em consideração atributos que interessam aos produtores a exemplo da resistência a estresses bióticos e maior prolificidade.

Desse modo, levando a concluir que melhoristas devem utilizar estratégias que possibilitem trabalhar com mais de um caráter de forma simultânea, garantindo a obtenção de genótipos melhorados com maior número de características de interesse no menor espaço de tempo possível, a exemplo do trabalho de Souza et al. (2014,) que concluíram existir a possibilidade de selecionar precocemente e simultaneamente genótipos de melancia com um maior número de características.

Pensando nessa redução de tempo e melhoria de vários caracteres simultâneos, a estimativa de parâmetros genéticos associada às correlação de Pearson podem ser

exploradas buscando acelerar a obtenção de novos genótipos, visto que, por meio do primeiro método é possível fazer inferência da magnitude dos efeitos, ambientais ou genéticos, sobre as características, bem como a inferência sobre a herança genética (RAMALHO et al., 2012), enquanto que as correlações possibilitam estimar a relação entre duas características, possibilitando melhorar um carácter de baixa herdabilidade ou de difícil mensuração, tendo como base outro carácter de alta herdabilidade.

Essas metodologias vêm sendo empregadas em diferentes culturas: melão (VALADARES et al., 2017); abóbora (NACHBAR e SOUZA, 2017), (FERREIRA et al., 2016); açaizeiro (TEIXEIRA et al., 2012; YOKOMIZO et al., 2016) entre outras espécies. Porém, a correlação linear entre duas características pode desencadear efeitos indesejáveis para as demais características de interesse, efeitos estes que não são observados quando empregada a correlação de Pearson, que acontecem por consequência de pleiotropia ou ligação dos genes (ENTRINGER et al., 2014).

Desse modo, a utilização da análise de trilha é uma alternativa viável, pois possibilita estimar as consequências da seleção de um carácter, com base em outro, sobre as demais características, um fornecendo informações sobre os efeitos, sendo eles positivos ou negativos, (CRUZ et al., 2012). A análise de trilha pode ser considerada eficiente quando confirmada a relação de causa-efeito entre as variáveis, associada à correta interpretação do desdobramento da relação entre as características de maior importância agrônômica ou de interesse (Cruz et al., 2012) ou de interesse. Recentemente, esses efeitos tem sido amplamente estimados no estudo de diversas culturas: couve (AZEDO et al., 2016), pepino (OLIVOTO et al., 2015), mamoeiro (SILVA et al., 2016), milho (SANTOS et al., 2018) entre outras. Porém, ainda são incipientes trabalhos dessa natureza envolvendo a cultura da melancia.

Diante ao exposto, o objetivo do presente trabalho foi estimar parâmetros genéticos, bem como as correlações e os efeitos diretos e indiretos de características morfoagronômicas de melancia associadas à planta e ao fruto.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre abril e agosto de 2018 no Campo Experimental da Embrapa Semiárido, localizado no perímetro irrigado do projeto Bebedouro, no município de Petrolina-PE. Foram utilizados seis genótipos (G) de melancia (G1: 17.31715, G2: 17.31717, G3: 17.31721, G4: 17.31716, G5: 17.31719 e G6: 17.31720) em delineamento de blocos casualizados (DBC) com três repetições.

As sementes dos genótipos foram postas para germinar em bandejas de poliestireno expandido, contendo substrato comercial para hortaliças. Aos 12 dias após o semeio, efetuou-se o transplântio das mudas para o Campo Experimental de Bebedouro, em solo previamente preparado e coberto com *mulching* plástico de coloração cinza, no espaçamento de um metro entre plantas e 2,5 m entre fileiras. Com base nas análises de solo e recomendações de Mendes et al. (2010) foram colocados em fundação 30 kg ha⁻¹ de N, 80 kg ha⁻¹ de P₂O₅, e 30 kg ha⁻¹ de K₂O, mais 15 kg ha⁻¹ de ZnSO₄ e 10 kg ha⁻¹ de CuSO₄. Enquanto que a adubação de cobertura foi realizada via água de irrigação, utilizando-se 50 kg ha⁻¹ de N, na forma de Ca (NO₃)₂ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O, sendo utilizado KCl, aplicados até 50 e 60 dias após o semeio, respectivamente.

A irrigação foi por gotejamento e a lâmina diária de água aplicada conforme necessidade da cultura, em função das condições climáticas, monitorada por estação meteorológica localizada próxima à área experimental. Os Coeficientes da Cultura (Kc's) utilizados para cálculo da Evapotranspiração da Cultura (ETc) foram os obtidos por Freitas e Bezerra, (2004) na região de Canindé-CE, em melancia 'Crimson Sweet' e os valores correspondentes foram: 0,46 a 0,70 na fase vegetativa, 0,89 a 1,22 na floração e 1,14 a 0,74 na frutificação. Os tratos fitossanitários foram realizados pela aplicação de agroquímicos registrados para a cultura junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), e o manejo de plantas daninhas por capina manual.

Após o transplântio, as mudas foram cobertas com manta agrotêxtil até o período de floração, ocasião em que esta foi removida para que houvesse a polinização. 70 dias após o plantio realizou-se a colheita dos frutos. Foram avaliadas as seguintes características: Comprimento (CFC) e largura (LFC) das folhas cotiledonares em cm, medidas com auxílio de régua milimetrada (Waleu); a massa de fruto (MF) em quilogramas (kg), obtido por meio de balança digital com capacidade para 50 kg (Big Star Plus: bsp-2001); o tipo de listra no fruto (TLF), em escala de notas (1- definida, 2- difusa); largura da listra nos frutos (LL) em cm, mensurado com régua milimetrada (Waleu); forma do fruto na seção longitudinal (FSL) em escala de notas (1- circular, 2- elíptica larga, 3- elíptica, e 4- elíptica alongada); a forma do fruto na sessão apical (FFA) em escala de notas (1- plana, 2- plana arredondada, 3- arredondada, 4- arredondada à cônica e 5- cônica); o teor de sólidos solúveis (TSS) em °Brix, utilizando refratômetro portátil de bancada (Instrutherm: RTD-95); relação do comprimento/largura do fruto (CFR/LFR) em cm, utilizando régua milimetrada (Waleu); a espessura da casca (EDC) em cm, mensurado com auxílio de régua milimetrada (Waleu); a firmeza da polpa (FP) em

Newton (N), utilizando um penetrómetro manual (Instrutherm: PTR-300), com ponteira de 8 mm de diâmetro; comprimento (CS), largura (LS), espessura (ES) em cm, medido com auxílio de paquímetro digital (Stainless Hardened: JL-YB5474), e massa (MS), mensurada com auxílio de balança de precisão (Bel: S2202H), em dez sementes/fruto;

Foram feitos os testes de homogeneidade das variâncias (BARTLETT, 1937), bem como o teste de normalidade dos dados, utilizando o teste do qui-quadrado (X^2). Para as variáveis que não atenderam às pressuposições de homogeneidade e normalidade (LS, CFC, TLF, LL e FFA) foram realizadas transformações utilizando a fórmula: $\frac{1}{(x+k)}$, sendo x = valor da variável, e k = constante. Repetiu-se a análise para verificar se a transformação foi eficiente.

Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância. Posteriormente, foi realizado o cálculo dos coeficientes de correlação de Pearson entre os caracteres, estimada pela expressão:

$$r_{XY} = \frac{Cov(X, Y)}{\sqrt{V(X)} \cdot \sqrt{V(Y)}} = \frac{\sigma_{X,Y}}{\sigma_X \cdot \sigma_Y}$$

Em que: $\sigma_{X,Y}$ é a covariância entre as variáveis aleatórias X e Y; σ_X é o desvio padrão da variável aleatória X; e σ_Y é o desvio padrão da variável aleatória Y.

Em seguida as correlações foram desdobradas para se estimar os efeitos diretos e indiretos sobre as características avaliadas (variáveis independentes) sobre o comprimento de semente (variável básica, escolhida buscando acompanhar o novo segmento de mercado, na redução do tamanho dos frutos), por meio da análise de trilha (WRIGHT, 1921, 1923; CRUZ et al., 2012).

A verificação de multicolinearidade entre as variáveis independentes foi realizada pela análise dos autovalores da matriz ($X'X$), conforme descrito por Carvalho et al. (2002) e utilizada por (SALLA et al., 2015).

Além disso, foi estimado o grau de multicolinearidade tendo como base o número de coincidência (NC), que é a razão entre o maior e o menor autovalor da matriz, em que: se $NC < 100$, a colinearidade é fraca; se $100 < NC < 1.000$, a colinearidade é de moderada a forte; e se $NC > 1.000$, a colinearidade é severa (MONTGOMERY e PECK, 1982). Após a constatação de multicolinearidade, de forte a severa, entre ao menos um par de variáveis, utilizou-se o método de análise de regressão em crista ou em cumeeira (CARVALHO,

1995) pelo qual, adicionou-se uma constante (k) à diagonal da matriz de correlação $X'X$, buscando reduzir a variância associada ao estimador de mínimos quadrados da análise de trilha. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software Genes, versão 3.0, (CRUZ, 2016).

3.3 Resultados e discussão

Houve diferença significativa para quase todas as características avaliadas, exceto para o formato de fruto na sessão longitudinal (Tabela 1). Esses resultados evidenciam que os genótipos avaliados apresentam variações morfológicas entre si. Santos et al. (2018), ao avaliarem, parcialmente essas mesmas características também obtiveram diferenças significativas para a maioria delas. Entretanto, Souza et al. (2013), ao utilizarem, parcialmente os mesmos descritores do presente estudo para avaliarem a capacidade de combinação entre genótipos de melancia, não encontraram diferenças significativa para dois descritores empregados. A diferença de resultados dos que foram encontrados no presente estudo para os demais citados, possivelmente, pode ser atribuída ao maior efeito do ambiente na expressão fenotípica das características, bem como a diferença genética entre as populações, uma vez que os genótipos utilizados nos três estudos são contrastantes.

Os coeficientes de variação experimental (CVe), para quase todas as características, foram inferiores a 17% (Tabela 1) evidenciando boa precisão experimental, bem como a mínima influência do ambiente sobre a expressão genotípica, representada pelo fenótipo. Carmo et al. (2015), ao avaliarem o desempenho agrônomico de cultivares de melancia no cerrado de Boa Vista (RO), também observaram baixos valores para os CVe. Esses baixos valores podem estar associados à boa precisão experimental, visto que o caráter produtividade, influenciado por vários genes, obteve baixo valor.

Ainda, com base no CVe do presente estudo, a MS apresentou o maior valor (37,86%) (Tabela 1). Resultado diferente foi observado por Nascimento et al. (2016) ao avaliarem genitores e híbridos (9,10%) no estudo da capacidade de combinação. Muitos trabalhos associam altos valores de CVe à baixa precisão experimental. Contudo, Garcia (1989) e Scapim et al. (1995) defendem que essa conclusão é bastante ampla e não considera as especificidades da cultura estudada, e, principalmente, não faz distinção entre a natureza da característica avaliada. Desta forma, vale ressaltar que além da

precisão experimental este parâmetro também é utilizado para estimar a existência de variabilidade entre genótipos, o que justifica o alto valor do presente estudo para o caráter em questão, visto que é possível observar variação da média entre os genótipos de 0,14 a 0,90 (Tabela 1).

O coeficiente de variação genético (CVg) foi superior ao CVe para a maioria das características avaliadas (Tabela 1), indicativo de que o fenótipo mensurado foi, na sua grande maioria, de origem genética. Por outro lado, com o FFA e o TSS aconteceu o inverso. A possível explicação para o comportamento desse último caráter seja a sua complexidade em relação ao controle genético. Segundo Ramalho et al. (2008), características com herança complexa são expressos devido à interação de mais de dois genes, caracterizando-se como poligênico e, conseqüentemente, sofrendo forte influência do ambiente.

Foram observados valores elevados da relação entre o CVg/CVe para a maioria das características com valores acima da unidade, com exceção da FFA e do TSS que expressaram valores abaixo de um (Tabela 1). Esses resultados evidenciam que a maioria dessas características, podem ser exploradas dentro dos programas de melhoramento, buscando desenvolver novas cultivares, visto que, segundo Vencovsky (1987), quanto maior o valor dessa relação maiores são as chances de sucesso, pois valores iguais ou superiores a um indicam maiores chances de ganho genéticos durante a seleção. Esses resultados são reforçados pelas variações genéticas (S^2g) e ambientais (S^2a) que se apresentam em consonância, dos quais o primeiro parâmetro se mostrou superior ao segundo para quase todas as características. Porém, a FFA e o TSS apresentaram comportamento contrário em relação aos parâmetros anteriores, nos quais os fatores ambientais superaram os genéticos.

A herdabilidade (h^2) das características avaliadas nas populações está apresentada na Tabela 1, sendo possível observar que variou de 64,07% a 99,76% para a FFA e para o TLF, respectivamente. Esse mesmo resultado para a h^2 , foi observado por Souza et al. (2014) ao estimarem parâmetros genéticos em uma população F_3 de melancia. Estudos nos quais são verificados valores elevados de herdabilidade refletem a grande chance de sucesso em se melhorar o caráter, devido ao fenotípico mensurado ser, na sua grande maioria, de origem genética (RAMALHO et al., 2012). Ainda segundo Ramalho et al. (2012), durante a seleção indireta, é necessário que o caráter utilizado como indiretamente para se melhorar outro apresente alta herdabilidade, possivelmente, devido

aos indícios de ser uma característica de herança simples, o que facilita as fases de melhoramento das características.

Tabela 1. Resumo da análise de variância, com as médias, erro padrão, os coeficientes de variação experimental (CVe), genético (CVg), relação entre o (CVg/CVe), variância genética (S^2_g), ambiental (S^2_a), herdabilidade (h^2) e os valores mínimos e máximos das características morfoagronômicas avaliadas nos genótipos de melancia.

Característica ¹	QM	Média ± erro padrão	CVe (%)	CVg (%)	CVg/CVe	S^2_g	S^2_a	h^2 (%)	Mínimo	Máximo
CS	14,68**	8,01 ± 0,98	15,31	26,18	1,71	4,395	1,498	89,80	5,69	11,89
LS	0,01**	0,22 ± 0,03	16,03	23,72	1,48	0,003	0,001	86,78	0,12	0,30
ES	0,03**	1,94 ± 0,05	3,63	5,15	1,42	0,010	0,005	85,83	1,72	2,11
MS	0,23**	0,41 ± 0,12	37,86	62,85	1,66	0,068	0,025	89,20	0,14	0,90
CFC	0,04**	0,45 ± 0,04	4,51	25,67	5,69	0,013	0,004	98,98	0,27	0,59
LFC	0,74**	1,53 ± 0,19	4,85	32,14	6,63	0,243	0,006	99,25	1,07	2,23
TLF	0,46**	1,76 ± 0,08	2,76	32,5	11,77	0,154	0,001	99,76	1,00	2,00
ICL	30,13**	6,40 ± 1,22	5,19	49,4	9,52	10,01	0,110	99,63	1,00	9,00
LL	0,26**	2,62 ± 0,12	3,50	18,49	5,28	0,09	0,003	98,82	1,00	1,81
FSL	3,25**	2,73 ± 0,41	7,97	37,85	4,75	1,068	0,047	98,55	1,00	4,00
FFA	0,01 ^{ns}	0,41 ± 0,03	16,01	12,33	0,77	0,002	0,004	64,07	0,27	0,60
C/D	0,45**	1,56 ± 0,16	9,41	24,29	2,58	0,144	0,022	95,23	1,05	2,41
EC	0,04**	1,09 ± 0,05	5,90	9,38	1,59	0,011	0,004	88,30	0,90	1,33
FP	15,43**	6,87 ± 0,92	13,33	32,12	2,41	4,865	0,836	94,58	4,13	12,75
TSS	0,74*	10,24 ± 0,24	4,60	4,05	0,88	0,172	0,220	70,09	9,40	11,46

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

¹ CS= comprimento, LS= largura, ES=espessura, e a MS= massa de dez semente/fruto; CFC= comprimento, e a LFC=largura de folhas cotiledonares, MF= massa de fruto, TLF= tipo de listra nos frutos, ICL= intensidade de coloração da listra, LL= largura de listas, FSL= forma do fruto na sessão longitudinal, FFA= forma do fruto na sessão apical, C/D= relação do comprimento largura de fruto, EC= espessura de casca, FPC= firmeza da polpa, e TSS= teor de sólidos solúveis.

Na tabela 2 são apresentados os resultados das correlações entre os pares de características. No entanto antes de realizar as interpretações dessas correlações devem ser levados em consideração alguns aspectos: a magnitude, e a direção dos valores (CRUZ et al., 2012). Quanto mais próximo de um for o valor, maior é a relação entre o par de características ou vice versa, e quando os valores entre os pares apresentarem sinais positivos indica o aumento simultâneo entre o par de características, ao passo que valores negativos indicam que um caráter aumenta enquanto o outro reduz.

Considerando os aspectos mencionados, para as correlações de Pearson do presente estudo, foi observado que o CS se apresentou altamente correlacionado com a LS e a MS (Tabela 2), evidenciando que, durante a melhoria do tamanho de semente utilizando o CS como variável resposta ela aumenta a LS e MS. Esse mesmo resultado foi observado por Hawkins e Dane (2001), quando estudaram a associação de marcadores

moleculares com características morfológicas. Corroboraram, parcialmente, esses mesmos resultados os relatados por Sari et al. (2017), que também encontraram altos valores para a relação entre o CS e a LS. Essa alta associação do CS com a LS já era de se esperar por se tratar de duas características intimamente ligadas.

Tabela 2. Estimativas de correlações de Pearson entre características avaliadas em genótipos de melancia.

⁽¹⁾ características	CS	LS	ES	MS	CFC	LFC	TLF	ICL	LL	FSL	FFA	C/D	EC	FPC	TSS
CS	1	0,99**	0,59	0,99**	0,62	0,52	-0,69	-0,58	-0,69	0,40	0,29	0,57	0,52	-0,51	-0,02
LS		1	0,52	0,99**	0,57	0,47	-0,68	-0,60	-0,67	0,41	0,31	0,56	0,52	-0,55	-0,01
ES			1	0,58	0,95**	0,96**	-0,48	-0,29	-0,58	0,46	0,16	0,38	0,32	-0,32	-0,08
MS				1	0,61	0,51	-0,72	-0,62	-0,72	0,41	0,31	0,59	0,53	-0,51	-0,07
CFC					1	0,99**	-0,57	-0,44	-0,65	0,69	0,42	0,57	0,54	-0,57	-0,72
LFC						1	-0,45	-0,30	-0,53	0,64	0,33	0,46	0,44	-0,51	0,01
TLF							1	0,96**	0,99**	-0,59	-0,70	-0,89**	-0,75	0,52	0,64
ICL								1	0,93**	-0,65	-0,82**	-0,94**	-0,81	0,60	0,64
LL									1	-0,57	-0,64	-0,85*	-0,69	0,47	0,66
FSL										1	-0,90*	0,86*	0,92*	-0,95**	-0,02
FFA											1	0,93**	0,94**	-0,85*	-0,31
C/D												1	0,96**	-0,80	-0,41
EC													1	-0,90*	-0,15
FPC														1	-0,16
TSS															1

⁽¹⁾ CS= comprimento, LS= largura, ES=espessura, e a MS= massa de dez semente/fruto; CFC= comprimento, e a LFC=largura de folhas cotiledonares, MF= massa de fruto, TLF= tipo de listra nos frutos, ICL= intensidade de coloração da listra LL= largura de listas, FSL= forma do fruto na sessão longitudinal, FFA= forma do fruto na sessão apical, C/D= relação do comprimento largura de fruto, EC= espessura de casca, FPC= firmeza da polpa, e TSS= teor de sólidos solúveis; *, ** significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

Ainda, com base no CS, foram observadas correlações moderadas com ICL, C/D, EC, TLF e LL (Tabela 2), indicando que essas duas últimas variáveis podem ser utilizadas para melhorar o comprimento de semente, ambos os pares (CS-TLF, e CS-LL) indicam ganhos inversamente proporcionais. A possível explicação para esta associação seja à proximidade dos genes que exercem efeitos nessas características, desse modo o TLF se apresenta como forte candidato a marcador fenotípico quando o objetivo for identificar, dentro das populações, indivíduos com tamanho de semente de interesse.

Para a LS foi observada correlação positiva e alta com a MS, indicando que a utilização dessa primeira característica para melhorar a segunda ocorre o incremento de maneira simultânea (Tabela 2). Corroboram, parcialmente, os resultados de Sari et al. (2017) que, encontraram associação diferente para esse par de características, onde a correlação foi positiva, porém e baixa. Esse contraste pode ser explicado devido a

influência do ambiente, no estudo citado, ter interferido na expressão fenotípica dessas características, diferente do que foi observado no presente estudo onde, por meio da estimativa dos parâmetros genéticos (Tabela 1) é possível observar que o fenótipo mensurado representa de fato o genótipo das populações.

Ainda com base na LS, foram observadas correlações positivas e moderadas com o ES, CFC, LFC, TLF, C/D e a EC, e moderadas e negativas com a ICL, LL e a FPC, evidenciando que quando se deseja melhorar a LS, a TLF é o caráter mais indicada, visto que, um dos objetivos dos estudos de correlações é conseguir melhorar um caráter com base em outro, sendo o descritor utilizado como variável resposta de fácil e rápida mensuração, desse modo conseguindo antecipar o melhoramento do caráter de interesse, bem como a seleção dos indivíduos promissores.

Ainda na Tabela 2, a ES apresentou correlação alta com o CFC e a LFC, ambas positivas, evidenciando que existem grandes chances de se melhorar a ES utilizando essas duas variáveis. Ao se explorar o CFC buscando melhorar a ES o ganho será simultâneo, ou seja, uma maior espessura de semente irá proporcionar plântulas com maior tamanho de folhas cotiledonares, esse mesmo comportamento poderá ser observado quando utilizada LFC o que implica em dizer que, sementes mais espessas originará plântulas com folhas de cotilédones mais largos. Ainda para esse mesmo caráter, foram observadas correlações moderadas, positivas para MS, e negativa para LL, evidenciando que, possivelmente, a redução na ES pode ser feita de maneira indireta utilizando esse último descritor.

Foram observadas correlações altas entre a MS com o TLF e a LL (Tabela 2), ambas de sinal negativo, evidenciando que o ganho genético entre essas características é inversamente proporcional. Porém, devido a associação desses descritores, um da fase inicial de desenvolvimento da cultura e as outras duas da fase de frutificação, ambas podem ser utilizadas, indiretamente, para reduzir o CS visto que, existe uma alta associação ente MS-CS. Ainda com base na MS, as correlações entre a C/D, e EC foram moderadas e com sinais positivos, levando a inferir que a MS pode ser utilizada para selecionar genótipos com diferentes formatos de frutos, bem como com maior espessura de casca, caráter que pode está diretamente relacionada a maior resistência ao transporte.

Ainda com base na associação entre a MS com a C/D e a EC (Tabela 2) Bhagyalekshmi et al. (2020), ao estudarem a relação genotípica da MS com a EC em genótipos de melancia, encontraram valores diferentes dos que foram observados no

presente estudo, ao qual obtiveram baixa associação entre essas duas características, evidenciando que o ambiente exerceu maior influência sobre o fenótipo.

Mesmo com os baixos valores observados para alguns pares de características do presente estudo, é preciso levar em consideração que correlações lineares iguais a zero indicam a falta de relação direta entre um par qualquer de características (NOGUEIRA, 2012), possivelmente, devido à falta de pleiotropismo ou ligação dos genes (ENTRINGER et al., 2014). Por outro lado, correlação linear igual a zero, não reflete a falta de relação entre as mesmas.

Possivelmente, os baixos valores das correlações podem estar associados aos mesmos fatores que fazem com que a correlação linear apresente valor igual a zero, ou ainda devido a interferência de uma variável sobre as demais, sendo que esses efeitos não são visualizados pelas correlações lineares, necessitando de análises mais robustas, a exemplo da análise de trilha, que possibilita fazer inferências dos efeitos diretos e indiretos de um caráter primário sobre secundários. Buscando entender essa relação de causa e efeito das características do presente estudo, foi realizada análise de trilha e na tabela 3 estão apresentados os resultados.

Por meio do diagnóstico de multicolinearidade foi possível observar que, para algumas das características, o número de fatores de inflação da variância (VIF) apresentaram valores superiores a 10 e o número de condição (NF) maior do que 1.000, caracterizando a existência de colinearidade severa. Esse mesmo resultado foi observado por Azevedo et al. (2016), ao estudarem os efeitos diretos e indiretos em couve. A possível solução para amenizar esse problema, seria a exclusão de uma dessas características que estão ocasionando a multicolinearidade (TOEBE e CARGNELUTTI FILHO, 2013), porém essa exclusão resulta em perda de informações.

Desse modo, no presente estudo, após a identificação de multicolinearidade severa, realizou-se a análise de trilha em crista, metodologia proposta por Carvalho (1995), utilizada para estimação dos parâmetros, onde uma constante k (0,2775) foi adicionada à diagonal da matriz $X'X$ determinada pelo exame do traço da crista, e os coeficientes de trilha foram escolhidos em razão dos valores de k , que podem variar de 0 a 1, permitindo a correção das distorções. Logo após análise em crista, foi possível observar valores de FIV sempre menores que 10, caracterizando maior confiabilidade nas interpretações de causa e efeito entre os caracteres estudados (Tabela 3) o que implica em dizer que não existe multicolinearidade influenciando indevidamente as estimativas dos efeitos (NETER et al., 2005).

Por meio do coeficiente de determinação foi possível observar que 90% do CS podem ser explicados pelo efeito das variáveis secundárias analisadas (Tabela 3). Essa variação pode ser interessante quando o carácter que exerce efeito direto sobre a variável principal, apresenta herança simples. No caso do TLF, Gama et al. (2015) determinaram que o controle genético para esse carácter é de herança simples, conferido por um gene com dominância completa para presença de listras. No entanto, é necessário levar em consideração que a herança de um carácter é restrita à população estudada e não deve ser extrapolada a outras (RAMALHO et al., 2012). Desse modo, os resultados dos efeitos diretos e indiretos para o carácter em questão se restringem, apenas, a essas populações do presente estudo.

De modo geral, a maioria dos efeitos diretos teve o mesmo sinal das correlações. No entanto, além de sinais iguais, a LS e a MS tiveram suas magnitudes elevadas, pois, superaram a estimativa do efeito residual em 1,07 e 1,10 vezes, respectivamente (Tabela 3). Isso implica em dizer que, para as características com valor inferior ao do efeito da variável residual, as variáveis auxiliares são as principais responsáveis pelas variações observadas na variável principal e, inferindo que a seleção indireta será eficiente (CRUZ et al., 2012).

Assim, a MS apresentou efeito direto positivo e superior aos indiretos (0,3457), evidenciando ser uma das variáveis mais promissoras na obtenção de respostas correlacionadas com o CS. Resultado similar foi observado para a ES, que apresentou efeito direto positivo. No entanto, o maior valor foi observado na variável indireta MS (0,2017). Esta última evidencia ser a variável mais promissora na obtenção de respostas correlacionadas, devido a magnitude do efeito direto (0,3457) ter superando o efeito da variável residual, bem como a alta correlação entre o CS e a MS (0,9981).

O segundo carácter com o maior valor positivo para o efeito direto (0,1260) foi o TLF que, apesar de não ter superado o efeito da variável residual apresentou correlação alta (0,7444) (Tabela 3). Esse resultado sugere que o carácter em questão tem grandes chances de ser utilizado como variável indireta durante o melhoramento do tamanho de semente.

Segundo Cruz et al. (2012), a alta correlação de algumas variáveis com a principal, nem sempre indica que são a causa determinante das variações sobre o carácter de interesse, isso acontece devido ao efeito direto não superar o efeito residual. Essa situação pode ser observada, no presente estudo, para a ES onde os efeitos indiretos da MS (0,2017) e da LS (0,1833) tiveram valores maiores que o direto. O mesmo aconteceu para

a LFC, onde a MS e a LS apresentam efeitos indiretos superiores ao direto de 0,1770 e 0,1763, respectivamente. O TLF apresentou efeito indireto superior ao direto, para a MS (0,2671) e a LS (0,2286), respectivamente. A CF/DF também apresentaram valores dos efeitos indiretos da MS (0,2032) e LS (0,1949) superiores ao direto. A EC teve o mesmo comportamento para a MS e a LS, com valores de 0,01827 e 0,1910, respectivamente.

Tabela 3. Estimativa dos efeitos diretos e indiretos de características avaliadas em genótipos de melancia sobre o comprimento de semente, por meio da análise de trilha sob multicolinearidade (regressão em crista).

Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS
LS	direto		-0.33	ES	direto		0.05	MS	direto		0.35	CFC	direto		-0.03
	indireto	ES	-0.03		indireto	LS	0.18		indireto	LS	0.33		indireto	LS	-0.21
		MS	-0.34			MS	0.20			ES	0.03			ES	-0.05
		CFC	-0.02			CFC	0.03			CFC	0.02			MS	-0.21
		LFC	0.01			LFC	-0.02			LFC	-0.01			LFC	0.02
		TLF	-0.09			TLF	0.07			TLF	0.10			TLF	-0.07
		ICL	-0.03			ICL	0.02			ICL	0.04			ICL	-0.02
		LL	-0.07			LL	0.06			LL	0.08			LL	-0.06
		FSL	0.04			FSL	-0.03			FSL	-0.03			FSL	0.05
		FFA	0.03			FFA	-0.01			FFA	-0.03			FFA	0.03
		C/D	-0.01			C/D	0.01			C/D	0.01			C/D	-0.01
		EC	-0.02			EC	0.01			EC	0.02			EC	-0.02
		FPC	-0.02			FPC	0.01			FPC	0.01			FPC	-0.02
	TSS	-0.01		TSS	-0.01		TSS	-0.01		TSS	-0.01				
Total (r)			-0.98	Total (r)			0.59	Total (r)			0.99	Total (r)			-0.62
Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS
LFC	direto		-0.02	TLF	direto		0.13	ICL	direto		-0.06	LL	direto		-0.10
	indireto	LS	0.18		indireto	LS	0.23		indireto	LS	-0.19		indireto	LS	-0.22
		ES	0.05			ES	0.03			ES	-0.01			ES	-0.03
		MS	0.18			MS	0.27			MS	-0.21			MS	-0.26
		CFL	0.03			CFC	0.02			CFC	-0.01			CFC	-0.02
		TLF	0.07			LFC	-0.01			LFC	0.01			LFC	0.01
		ICL	0.02			ICL	0.05			TLF	-0.12			TLF	-0.13
		LL	0.06			LL	0.10			LL	-0.09			ICL	-0.05
		FSL	-0.05			FSL	-0.04			FSL	0.05			FSL	0.04
		FFA	-0.03			FFA	-0.05			FFA	0.06			FFA	0.05
		C/D	0.01			C/D	0.02			C/D	-0.02			C/D	-0.02
		EC	0.01			EC	0.02			EC	-0.02			EC	-0.02
		FPC	0.01			FPC	0.01			FPC	-0.02			FPC	-0.01
	TSS	0.00		TSS	-0.07		TSS	0.08		TSS	0.08				
Total (r)			0.5162	Total (r)			0.74	Total (r)			-0.58	Total (r)			-0.72
Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS
FFL	direto		-0.076	FFA	direto		0.09	CF/DF	direto		0.02	EC	direto		0.03
	indireto	LS	0.1654		indireto	LS	-0.12		indireto	LS	0.19		indireto	LS	0.19

ES	0.02	ES	-0.01	ES	0.02	ES	0.02
MS	0.14	MS	-0.10	MS	0.20	MS	0.18
CFC	0.02	CFC	-0.01	CFC	0.02	CFC	0.02
LFC	-0.01	LFC	0.01	LFC	-0.01	LFC	-0.01
TLF	0.07	TLF	-0.07	TLF	0.11	TLF	0.09
ICL	0.04	ICL	-0.04	ICL	0.05	ICL	0.05
LL	0.06	LL	-0.05	LL	0.09	LL	0.07
FFA	-0.08	FSL	0.07	FSL	-0.06	FSL	-0.07
C/D	0.02	C/D	-0.02	FFA	-0.08	FFA	-0.08
EC	0.03	EC	-0.03	EC	0.03	C/D	0.02
FPC	0.03	FPC	-0.02	FPC	0.02	FPC	0.03
TSS	-0.002	TSS	0.02	BC	-0.05	TSS	-0.02
Total (r)	0.40	Total (r)	-0.28	Total (r)	0.57	Total (r)	0.52
Caráter	Efeito	via	CS	Caráter	Efeito	via	CS
FPC	direto		-0.03	TSS	direto		0.12
	indireto	LS	-0.21		indireto	LS	0.03
		ES	-0.02			ES	-0.004
		MS	-0.18			MS	-0.02
		CFC	-0.02			CFC	0.002
		LFC	0.01			LFC	0.0003
		TLF	-0.06			TLF	-0.08
		ICL	-0.04			ICL	-0.04
		LL	-0.05			LL	-0.07
		FSL	0.07			FSL	0.00
		FFA	0.08			FFA	0.02
		C/D	-0.02			C/D	-0.01
		EC	-0.03			EC	-0.005
		TSS	-0.02			FPC	0.005
Total (r)			-0.51	Total (r)			-0.02

Coefficiente de determinação= 0.90

valor de K= 0.28

Efeito da variável residual= 0.31

CS= comprimento, LS= largura, ES=espessura, e a MS= massa de dez semente/fruto; CFC= comprimento, e a LFC=largura de folhas cotiledonares, MF= massa de fruto, TLF= tipo de listra nos frutos, ICL= intensidade de coloração da listra, LL= largura de listas, FSL= forma do fruto na sessão longitudinal, FFA= forma do fruto na sessão apical, C/D= relação do comprimento largura de fruto, EC= espessura de casca, FP= firmeza da polpa, e TSS= teor de sólidos solúveis.

3.4 Conclusões

- 1- Os parâmetros genéticos determinaram a maior contribuição genotípica na expressão do fenótipo mensurado nas populações;
- 2- As altas herdabilidades evidenciam grandes chances de sucessos em se obter ganhos genéticos com a seleção;
- 3- Os resultados das correlações evidenciaram que o comprimento (CS) ou a largura (LS) de semente pode ser utilizada como variável resposta, para o melhoramento do tamanho de semente.
- 4- As correlações de Pearson evidenciaram que o melhoramento do tamanho de semente pode ser realizado utilizando o tipo de listras do fruto (TLF) como variável indireta, esse mesmo resultado foi evidenciando pela à análise de trilha.

3.5 Referências

AZEVEDO, A. M.; SEUS, R.; GOMES, C. L.; FREITAS, E. M.; CANDIDO, D. M.; SILVA, D. J. H. da.; CARNEIRO, P. C. S. Correlações genotípicas e análise de trilha em famílias de meios-irmãos de couve de folhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 1, p. 35-44, 2016.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Statistical Society - Serie A*, v. 60, n. 1, p. 268-282, 1937.

BHAGYALEKSHMI, T. R.; GASTI, V. D.; EVOOR, S.; GOPALI, J. B.; MASTIHOLI, A. B.; KAMBLE, C. S. Studies on correlation and path-coefficient analysis for yield and its contributing characters in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.]. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 9, n. 3, p. 1909-1912, 2020.

CARMO, I. L. G. da S.; SILVA, E. S. da.; MONTEIRO Neto, J. L. L.; TRASSATO, L. B.; MEDEIROS, R. D. de.; PORTO, D. S. Desempenho agrônômico de cultivares de melancia no cerrado de Boa Vista, Roraima. **Revista Agro ambiente On-line**, v. 9, n. 3, p. 268-274, 2015.

CARVALHO, C. G. P. de; ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F. de; OLIVEIRA, M. F. de; VELLO, N. A. Correlações e análise de trilha em linhagens de soja semeadas em diferentes épocas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 311-320, 2002.

CARVALHO, R. N. **Cultivo de melancia: Para a agricultura familiar**. 3ed. Brasília, DF: Embrapa, 2016, 175 p.

CARVALHO, S. P. de. **Métodos alternativos de estimação de coeficientes de trilha e índices de seleção, sob multicolinearidade**. Viçosa: UFV, 1995. 163 p. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/11048>>. Acesso em: 20 jan. 2021.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**. v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4.ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.

ENTRINGER, G. C.; SANTOS, P. H. A. D.; VETTORAZZI, J. C. F; CUNHA, K. S. da; PEREIRA, M. G. Correlação e análise de trilha para componentes de produção de milho superdoce. **Revista Ceres**, v. 61, n. 3, p. 356-361, 2014.

FARIAS, R. DE M.; BARRETO, R. DE M.; ZANDONÁ, R. R.; ROSADO, J. P.; MA, C. R. Comportamento do consumidor de frutas na região da fronteira Oeste do Rio Grande do Sul com Argentina e Uruguai. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 872-883, 2014.

FERREIRA, M. G.; SALVADOR, F. V.; LIMA, M. N. R.; AZEVEDO, A. M.; LIMA NETO, I. S.; SOBREIRA, F. M.; SILVA, D. J. H. Parâmetros genéticos, dissimilaridade e desempenho per se em acessos de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 537-546. 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAOSTAT: Production crops**. Available at: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Access on: 08 set de 2020.

GAMA, R. N. C. S.; SANTOS, C. A. F.; DIAS, R. C. S.; ALVES, J. C. S. F.; NOGUEIRA, T. O. Microsatellite markers linked to the locus of the watermelon fruit stripe pattern. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 1, p. 269-276, 2015.

GARCIA, C. H. 1989. Tabulas para classificação do coeficiente de variação. Piracicaba: IPEF. 12 p. (**Circular Técnica**).

HAWKINS, L. K.; DANE, F. Molecular markers associated with morphological traits in watermelon. **HortScience**, v. 36, n.7, p. 1318-1322, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes/SIDRA. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>>. Acesso em: 08 set. de 2020.

MENDES, A. M. S.; FARIA, C. M. B.; SILVA, D. J. Adubação. In: DIAS, R. de C. S. et al. (Eds.). **Sistema de produção de melancia**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. Available at: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/adubacao.htm>>. Access em: 20 out. 2019.

MONTGOMERY, D.C.; PECK, E.A. **Introduction to linear regression analysis**. New York: Wiley, 1982. 504 p.

NACHBAR, L. de A.; SOUZA, S. A. M. Correlações entre caracteres morfoagronômicos de frutos de genótipos de *Cucurbita* spp. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 15, n. 2, p. 176-180, 2017.

NASCIMENTO, T. L. do.; SOUZA, F. de F.; DIAS, R. de C. S.; SILVA, E. F. da. Watermelon general and specific combining ability. **Comunicata Scientiae**, v. 10, n. 1, p. 132-140, 2019.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; SOUSA, L. B. de; HAMAWAKI, O. T.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, D. G.; MATSUO, É. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 877-888, 2012.

OLIVOTO, T.; SOUZA, V. Q. de.; CARVALHO, I. R.; NARDINO, M.; FOLLMANN, D. N. Análise de trilha para caracteres relacionados ao crescimento de mudas de pepineiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11 n. 21, p. 69-80, 2015.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 4ed. Lavras: UFLA, 2008, 464 p.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: UFLA, 2012. 522 p.

SALLA, V. P.; DANNER, M. A.; CITADIN, I.; SASSO, S. A. Z.; DONAZZOLO, J.; GIL, B. V. Análise de trilha em caracteres de frutos de jabuticabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 3, p.218-223, 2015.

SANTOS, L. B.; TAVARES, A. T.; FERREIRA, T. A.; SANTOS, G. R.; SARMENTO, R. A.; LOPES, D. A. P. da S.; NASCIMENTO, I. R. dissimilaridade genética entre famílias de melancia. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 52-58, 2018.

SARI, N.; SOLMAZ, I.; PAMUK, S.; CETIN, B.; GOCMEN, M.; SIMSEK, I. Fruit and seed size in some mini watermelon lines. **Acta Horticulturae**, v. 1151, p. 109-114, 2017.

SILVA, C. A. DA; SCHMILDT, E. R.; SCHMILDT, O.; ALEXANDRE, R. S.; CATTANEO, L. F.; FERREIRA, J. P.; NASCIMENTO, A. L. Correlações fenotípicas e análise de trilha em caracteres morfoagronômicos de mamoeiro. **Revista Agroambiente**, v. 10, n. 3, p. 217-227, 2016.

SCAPIM, C. A.; CARVALHO, C. G. P.; CRUZ, C. D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 683-686, 1995.

SILVA, C. A. da.; SCHMILDT, E. R.; SCHMILDT, O.; ALEXANDRE, R. S.; CATTANEO, L. F.; FERREIRA, J. P.; NASCIMENTO, A. L. Correlações fenotípicas e análise de trilha em caracteres morfoagronômicos de mamoeiro. **Revista Agroambiente**, v. 10, n. 3, p. 217-227, 2016.

SOUZA, F. F.; DIAS, R. C. S.; QUEIRÓZ, M. A. Capacidade de combinação de linhagens avançadas e cultivares comerciais de melancia. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 595-601, 2013.

SOUZA, F. F.; NASCIMENTO, T. L.; DIAS, R. C. S. 2016. Correlações entre caracteres morfoagronômicos em progênies de melancia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 54. **Anais...** Recife: ABH, p. 373.

TEIXEIRA, D. H. L.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; GONÇALVES, F. M. A.; NUNES, J. A. R. Correlações genéticas e análise de trilha para componentes da produção de frutos de açaizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1135-1142, 2012.

TOEBE, M.; CARGNELUTTI FILHO, A. Não normalidade multivariada e multicolinearidade na análise de trilha em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 466-477, 2013.

VALADARES, R. N.; MELO, R. A.; SILVA, J. A. S.; ARAÚJO, A. L. R.; SILVA, F. S.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; MENEZES, D. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações em acessos de melão do grupo momordica. **Horticultura Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 557-563, 2017.

VENCOVISY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1987. P. 122-201.

WRIGHT, S. Correlation and causation. **Journal of Agricultural Research**, v. 20, n. 7, p.557-585, 1921.

WRIGHT, S. The theory of path coefficients a reply to niles's criticism. **Genetics**, v. 8, n. 3, p.239-255, 1923.

YOKOMIZO, G. K. I.; MOCHIUTTI, S.; QUEIROZ, J. A. L. de.; SANTOS, G. R. dos.; FURTADO, R. G.; BRANDÃO, A. P.; COLARES, I. B. Estimativas de parâmetros genéticos para caracteres de frutos em açaizeiros no Amapá. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 985-993, 2016.

4. CAPÍTULO II

TRANSFERIBILIDADE DE PRIMERS MICROSSATÉLITES DO TIPO SSR DESENVOLVIDOS PARA A CULTURA DO MELOEIRO EM MELANCIA

4. TRANSFERIBILIDADE DE PRIMERS MICROSSATÉLITES DO TIPO SSR DESENVOLVIDOS PARA A CULTURA DO MELOEIRO EM MELANCIA

Resumo: A técnica da transferibilidade consiste em testar sequências de uma determinada espécie em outra geneticamente relacionada, a qual não se tem *primers* desenhados, ou ainda quando se busca aumentar a quantidade de *primers*. No entanto, a técnica pode ser explorada com o objetivo de garantir a continuidade de novos programas de melhoramento até mesmo a programas mais antigos que trabalham com diversas culturas. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi estudar a transferibilidade de *primers* SSR de melão que possibilitem o aproveitamento dessas sequências para auxiliarem os programas de melhoramento para a melancia. Para isso, foram testadas 31 sequências desenhadas para melão em seis genótipos de melancia. Após as extrações de DNA, os *amplicons* foram levados à eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% e corados com brometo de etídio, em seguida os géis foram revelados em fotodocumentador digital e analisados. A transferibilidade foi verificada através da avaliação de presença (1) ou ausência de banda (0). Os locos microssatélites sintetizados para melão mostraram-se 100% transferíveis para todos os indivíduos de *Citrullus lanatus*, evidenciando que essas sequências podem ser utilizadas dentro dos programas de melhoramento genético para a melancia. No entanto, é necessária à coleta de informações adicionais sobre o polimorfismo dos *primers* nas populações as quais se pretende estudar.

Palavras-chave: sequência simples repetida, polimorfismo, semelhança genômica

Abstract: The transferability technique consists of testing sequences of a given species in another genetically related one, which does not have primers designed, or even when trying to increase the quantity of primers. However, the technique can be explored in order to guarantee the continuity of new breeding programs even to older programs that work with different cultures. Thus, the objective of the present work was to study the transferability of melon SSR primers that enable the use of these sequences to assist the improvement programs for watermelon. For this, 31 sequences designed for melon in six watermelon genotypes were tested. After the DNA extractions, the amplicons were taken to horizontal electrophoresis on a 2% agarose gel and stained with ethidium bromide, after which the gels were developed on a digital photo-documenter and analyzed. Transferability was verified by assessing the presence (1) or absence of band (0). The microsatellite loci synthesized for melon proved to be 100% transferable to all individuals

of *Citrullus lanatus*, showing that these sequences can be used within the breeding programs for watermelon. However, it is necessary to collect additional information about the polymorphism of primers in the populations to be studied.

Keyword: *Simple Sequence Repeats*, polymorphism, genomic similarity

4.1 Introdução

Com o advento dos marcadores moleculares, o melhoramento genético das espécies de importância econômica passou a ser realizado de maneira mais rápida e eficaz, por se tratar de uma ferramenta que utiliza sequências do DNA buscando revelar polimorfismo entre indivíduos geneticamente relacionados (CAIXETA et al. 2013). Além disso, a utilização de marcadores moleculares reduz significativamente os erros atribuídos ao ambiente durante o processo de caracterização de germoplasma, uma vez que, o fenótipo observado nas características morfológicas sofre influência do ambiente (BEARZOTI e VENCOVSKY 2002), possivelmente, devido ao fenotípico apresentar contribuição genética e ambiental e em alguns casos o ambiente exercer maior influência.

Existem vários tipos de marcadores moleculares, sendo os marcadores do tipo ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) os mais utilizados. Além desses pode ser citados os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), devido a facilidade de utilização da técnica, requerer baixa quantidade de DNA entre outras vantagens (BORÉM e CAIXETA 2016). A utilização desses marcadores depende do objetivo do estudo e os microssatélites ISSR são comumente utilizados para estimar a similaridade genética entre acessos, enquanto que o SSR é indicado para estudos que envolvem híbridos ou populações segregantes, bem como em estudos de diversidade, pois consegue diferenciar os homozigotos dos heterozigotos, mas ambos apresentam sequências curtas facilitando a amplificação de regiões específicas do DNA (TURCHETTO-ZOLET et al. 2017). Os marcadores do tipo SNPs, além das utilizações dos ISSR e SSR, podem ser utilizados para estudo de evolução, devido conseguirem identificar variações entre indivíduos a um único par de base (CAIXETA et al. 2016).

Para algumas culturas, devido ao elevado custo em montar bibliotecas genômicas, enriquecimento do banco, e principalmente à etapa de seleção das sequências que são trabalhosas e demoradas (ZANE et al. 2002), pesquisadores têm trabalhado com a técnica da transferibilidade, que consiste em testar a amplificação de sequências de oligonucleotídeos desenvolvidos para uma espécie mais estudada em outra com trabalhos

incipientes ou iniciais, porém ambas aparentadas. A técnica tem se mostrado eficiente para diferentes famílias, como relatado em estudos anteriores com a cultura do maracujá por Silva et al. (2019); coco (MISTURA et al. 2012) e outro bem-sucedido realizado por Priori et al. (2013), no qual foi estudado a transferibilidade para a *Cucurbita argyrosperma* e *Cucurbita ficifolia* empregando marcadores microssatélites de *Cucurbita pepo* para a família das Cucurbitáceas.

Com o sucesso da transferibilidade, programas de melhoramento recém implementados podem diversificar seus trabalhos, uma vez que, com recursos limitados explorar os diferentes leques de possibilidades é tarefa fundamental para manter o programa progredindo. Além disso, os programas de melhoramento mais antigos também podem utilizar essa estratégia, quando dentro dos laboratórios existe uma diversidade de espécies em estudo, desse modo evidenciando que a técnica é uma ferramenta auxiliar útil no melhoramento de culturas aparentadas.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi testar a transferibilidade de primers microssatélites de melão, que possibilitem o aproveitamento de sequências no melhoramento da melancia.

4.2 Material e Métodos

Seis genótipos de melancia (1= 31715.001; 2= 31577.002; 3= 31581.002; 4= 3185.001; 5= 31717.005 e 6= 31608.001), contrastantes para características tanto de planta quanto de fruto, oriundos da coleção de trabalho da Embrapa Semiárido, foram postos para germinar em bandejas de poliestireno expandido com capacidade para 200 células, contendo substrato comercial para hortaliça Plantmax®. Quinze dias após o semeio foram coletadas as segundas folhas definitivas dos genótipos, levadas para o laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, e armazenadas em freezer -80°C para posterior extração de DNA.

Para a extração de DNA utilizou-se o protocolo de Doyle & Doyle (1990), com algumas modificações: 1- 700 µL de CTAB (Brometo de Cetil trimetila amônio) 2% + β-Mercaptaenol (24:1) em micro tubos de 2mL, em seguida pré-aquecidos em banho-maria a 65°C, cinco minutos antes da maceração das amostras; 2- As folhas jovens foram maceradas em disruptor celular e de tecidos (L-Beader 24) com a programação: 3 ciclos de 45s com intervalo de 5s entre um ciclo e outro com agitação de 6:30m/s; 3- Em seguida mantidas em banho-maria a 65°C, durante 45 minutos com leves inversões a cada 15

minutos; 4- Postas para resfriar, durante 5 minutos, em temperatura ambiente as amostras logo em seguida foram adicionados 700 μL de clorofórmio + álcool isoamílico (24:1); 5- Centrifugação das amostras durante 10 minutos a 12.000 RPM; 6- aproximadamente 470 μL do sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5mL, logo em seguida adicionado 320 μL de álcool isopropílico gelado; 7- Após adicionar o álcool isopropílico, as amostras foram suavemente vertidas e mantidas em freezer -20°C durante 20 minutos; 8- Passado os 20 minutos as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 12.000 RPM, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com 500 μL de álcool etílico na concentração de 70%. 9- As amostras foram postas para secar em capela de fluxo por aproximadamente 3 horas, em seguida a ressuspensão das amostras foi realizada em 50 μL de tampão TE.

A quantificação do DNA extraído dos genótipos foi realizada em gel de agarose na concentração de 0,8% corado com brometo de etídio. Utilizou o marcador de peso conhecido do fago lambda de 50pb. A eletroforese foi realizada a 80w, durante 1 hora. Após a quantificação, parte do DNA dos genótipos foi diluído para solução de trabalho a 20ng/ μl .

Para a reação da PCR foram utilizados 30 *primers* desenvolvidos para a cultura do meloeiro (Tabela 1), utilizando a metodologia proposta por Chiba et al. (2003), com algumas modificações: o volume final de 10 μL , contendo 3,8 μL de H₂O mili-Q; 0,5 μL de Tampão 10x; 2,05 μL de dNTP (0,25 mM); 1,00 de Primer Forward (0,5 mM); 1,00 de Primer Reverse (0,5 mM); 0,1 μL de Taq DNA polimerase (5 U μl^{-1}); e 1 μL de DNA genômico (20 ng μL^{-1}). Após o preparo dos mixes, as amostras foram acondicionadas em placas de PCR com capacidade para 200 μL e levadas ao termociclador (BIOER Genepro - BTC03BAS).

Tabela 1. Loci SSR de *Cucumis melo* amplificados nas amostras de *Citrullus lanatus*, segundo Chiba et al. (2003), com as respectivas temperaturas de anelamento e tamanho dos fragmentos.

Locus SSR	Sequências do primers	Temperatura de anelamento($^{\circ}\text{C}$)	Temperaturas de anelamento testadas ($^{\circ}\text{C}$)
CMMS004	F: GCCCAACGGACACTCACTCAC R: GAGGGAGTAAGAATAAGAAGAAGAA	60	56, 58, 60, 61
CMMS1-3	F: TTGAATGATTGGAGGGAAGATAACG R: CAAATATTGATGGATTTAATATATT	60	56, 58, 60, 61
CMMS1-7	F: CAAAAGACAAGGAGACGAAGACACC R: AGACAACCTGGTCGTACAGACACAGT	60	56, 58, 60, 61
CMMS2-2	F: CTCTTTTGCATTATAATAATTAACC R: GGGGCCAACGAAATCCAGTCATAGA	60	56, 58, 60, 61

CMMS2-3	F: ATCACCCACCCCACCACTGCCAAAA R: CCTTGAAAAACCACCAACATAACAC	60	56, 57, 58, 60
CMMS3-1	F: AAATATAAGCAAACCAAAGTTGACC R: CCGGGATATACGGACATACACACAC	60	56, 58, 60, 61
CMMS3-2	F: AGTTTTTGGGCATTTTTAGTTGGAT R: GGCTTATCTCCCACCCAACCATTCT	60	55, 57, 59, 60
CMMS4-3	F: ACCGAAATCATAAGGAACATAAGAG R: TATGAGCTGTGTTGTGTATGAAAAC	60	56, 58, 60, 61
CMMS11-3	F: TGCCATATFCTGTGCTGATTGAAAC R: ATGTAATCAATTCTCTCTCTCTC	60	56, 58, 60, 61
CMMS12-3	F: CGTGGAGTTTTCATGATAAGAACTT R: CCAACTATACTGAGGAAGGGAAAAA	60	56, 58, 60, 61
CMMS12-4	F: GATGCGGTGAGAAAGAGTTGAGAGA R: AGAGGGAGAGAGTTTGTAAAAAAAT	60	56, 58, 60, 61
CMMS12-6	F: AACATGATGTGTTTACCAACTTTTT R: GGTAAAGGGAAAGTGAAGAGATGGT	60	56, 58, 60, 61
CMMS14-1	F: CATTGCTACTATTGTCGTCGTTGCT R: TTTCTTCTTTTCCGTATCCATTTT	60	56, 58, 60, 61
CMMS15-4	F: GTCCGCCATCGCCACTACAAATCAA R: CTCCGTAACCTTCTTCTCTCTC	60	56, 58, 60, 61
CMMS22-2	F: CGTTATACAAGATAGAGATAGAGAG R: TTCAACTAATCCCCAAGACAAACAA	60	56, 58, 60, 61
CMMS24-3	F: GAGGGAGAGAGTTTGTAAAAAAATG R: TCGCCAATTACATTACAACCTTTTC	60	56, 58, 60, 61
CMMS27-1	F: TCCATGAATTTATCGGGACTTACCA R: TTGCCTCATTACTCAACTGTATTTT	60	56, 58, 60, 61
CMMS30-3	F: TTCCCACCAGCCCAACGGACACACT R: GAGATACAGAAACGACGACTAACCT	60	56, 58, 60, 61
CMMS31-3	F: TTATGCATTAGTTCTTTACCGTTTA R: CTTGTCGCAGGGTCTTTATTGTGTT	60	56, 58, 60, 61
CMMS33-1	F: TGTAATAGGATGACCAAGGGGAGTT R: TTCAGGAGCTACAACAAGATTTCAA	60	56, 58, 60, 61
CMMS33-2	F: GCTACTTTTTATGGCGGCAGTGACG R: ATTCGGGATGATTATTCTTCGCAGTT	60	56, 58, 60, 61
CMMS33-13	F: GGCCTGCCTGAGCCCTCCTAGAGC R: GCCCCCTGCTCCGTGCTGTCTCT	60	56, 58, 60, 61
CMMS34-4	F: AATCAACCAAAACCACCCCTACCC R: TGGGTTGTTATGTTGGCTATTTGC	60	56, 58, 60, 61
CMMS34-6	F: GGGGCCAGCTCAACAACCACCATAG R: TGCCATCGAAGTTAGTTGAAGCTCA	60	56, 58, 60, 61
CMMS34-8	F: TTTCTTACTTTTTGGTTTGGTTCTG R: GGCGCTGTGGTGAGTGTGCGGAGAG	60	56, 58, 60, 61
CMMS34-10	F: GGGGTGTGAAGCTGAAGGCAAAGTC R: AAAGGAAGAAGAAGAAAAAGGAGAA	60	56, 58, 60, 61
CMMS35-1	F: CTTGGGTAAGTCTGTGGATGTTGCT R: CTACGCATAACATTTTAGGCATCCA	60	56, 58, 60, 61
CMMS35-3	F: CGGAGAAGAAGGAAGGGTTTTAAGA R: ATTCGTAGTTCATACTCTTTTCTC	60	56, 58, 60, 61
CMMS35-4	F: ACGGATACATCGAGGAGACTTCATG R: GTCAGCTTCAACCCTTACTTTTTT	60	55, 57, 59, 60
CMMS35-5	F: AACGGGATTTTGGAGGCATATTCGG R: CTCCCCAGTGTATCAGCCAAATCTC	60	55, 57, 59, 60
CMMS36-2	F: CCACACATTACAACTAAACAAACA R: GGATTCCGATTTGGTGTGGCGTTTT	60	56, 58, 60, 61

O programa de amplificação utilizado consistiu de um ciclo inicial de desnaturação de 94°C durante 2 minutos, seguido de 35 ciclos de anelamento de 94°C por um minuto, de 50 °C a 60°C por um minuto e 72°C por um minuto; e uma extensão final a 72°C por 4 minutos. Após as amplificações, os produtos foram levados à eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% corados com brometo de etídeo. O tampão utilizado para o gel e para a corrida foi o TBE (Tris/Borato/EDTA) na concentração de 0,5%. Após a realização da eletroforese, a 67 W durante duas 150 minutos, os resultados das amplificações foram visualizados sobre luz ultravioleta e registrado em fotodocumentador (Loccus Biotecnologia). A análise da transferibilidade foi realizada através da avaliação de presença ou ausência de banda, sendo aplicado para os genótipos o cálculo: Transferibilidade (%) = (Número de *loci* transferíveis/Número de *loci* testados) x 100.

Além disso, os dados foram anotados para a presença (1) versus ausência (0) de alelos. A partir dos dados obtidos pelos marcadores microssatélites foram avaliados os parâmetros: Número de Alelos (NA) estimado pelo número de alelos por loco; Conteúdo de Informação polimórfica (PIC), calculado pela razão entre o número de loci polimórficos e o número total de loci analisados; Heterosigosidade Esperada (HE) e Observada (HO), sendo que a heterozigosidade esperada consiste na razão da frequência de heterozigotos para cada loco, pelo número total de loci e a heterozigosidade observada é a razão de um determinado número de heterozigotos de um loco pelo total de indivíduos amostrados (NEI 1987, FRANKHAM et al. 2002). Utilizou-se o software cervus 3.0.7 (MARSHALL et al. 1998).

4.3 Resultados e Discussão

Dos 31 loci de melão testados, apenas sete (CMMS 3-1; 11-3; 12-4; 34-4; 35-4; 3-2 e 4-3) apresentaram amplificações com a presença de produtos secundários (bandas inespecíficas) e fragmentos fracos, abaixo de 100 pb (Tabela 2). Para esses loci, as temperaturas de anelamento consideradas ótimas foram 60°C, com exceção dos *primers* CMMS 35-4 e 3-2 que foram a 55°C (Tabela 2).

Tabela 2. Temperatura média de anelamento (T_m), número de alelos (NA), tamanho aproximado de bandas (TB), conteúdo de informação polimórfica (PIC), heterozigosidade

esperada (HE) e heterozigidade observada (HO) de loco microssatélites transferidos para *Citrullus lanatus*

Locus SSR	Tm (°C)	Parâmetros avaliados em <i>Citrullus lanatus</i>				
		NA	TB	PIC	HE	HO
CMMS004	60	6	100 - 400	0,555	0,682	0,667
CMMS1-3	60	6	50 - 150	0,305	0,409	0,500
CMMS1-7	60	6	100 - 150	0,141	0,167	0,167
CMMS2-2	60	6	50	0	0	0
CMMS2-3	58	6	50	0	0	0
CMMS3-1	60	6	150 - 700	0,545	0,682	0,833
CMMS3-2	55	6	50 - 300	0,368	0,530	0,833
CMMS4-3	60	6	50 - 300	0,375	0,545	1,000
CMMS11-3	60	0	50 - 850	0	0	0
CMMS12-3	60	6	100 - 500	0,239	0,303	0,333
CMMS12-4	60	6	150 - 500	0,375	0,545	1,000
CMMS12-6	60	6	50 - 100	0,346	0,485	0
CMMS14-1	60	6	50	0	0	0
CMMS15-4	60	5	100 - 300	0,375	0,556	1,000
CMMS22-2	60	6	50 - 300	0,239	0,303	0,333
CMMS24-3	60	6	100 - 300	0,346	0,485	0
CMMS27-1	60	6	50	0	0	0
CMMS30-3	60	6	50 - 350	0,375	0,545	1,000
CMMS31-3	60	5	50	0,365	0,533	0
CMMS33-1	60	6	100 - 300	0,368	0,530	0,833
CMMS33-2	60	6	50 - 300	0,449	0,545	0,333
CMMS33-13	60	6	50	0,239	0,303	0
CMMS34-4	60	6	50 - 250	0,239	0,303	0
CMMS34-6	60	6	50 - 200	0,141	0,167	0,167
CMMS34-8	60	6	50 - 150	0	0	0
CMMS34-10	60	6	50 - 250	0,368	0,530	0,833
CMMS35-1	60	6	50 - 100	0,346	0,485	0
CMMS35-3	60	6	50 - 100	0,141	0,167	0,167
CMMS35-4	55	6	50 - 400	0,346	0,485	0,667
CMMS35-5	58	5	50 - 150	0,269	0,356	0
CMMS36-2	60	6	50 - 100	0	0	0

Fortes et al. (2016), ao estudarem a transferência de *primer* de espécies de palmeiras para *Astrocaryum vulgare* Mart. também obtiveram resultados similares, onde dois de onze loci testados apresentaram ampliações inespecíficas. Por outro lado, Fagundes et al. (2016), ao aplicarem loci de pitanga (*Eugenia uniflora*) em oito espécies de Mirtáceas do mesmo gênero e de gêneros distintos, obtiveram altas taxas de ampliações satisfatórias. O contraste de resultado entre o presente estudo e os citados

pode estar associado a alguns fatores que interferem na amplificação das sequências no genoma, sendo a temperatura de anelamento o mais importante, e pode ter sido o principal fator de interferência no presente estudo, visto que as temperaturas foram sendo ajustadas ao decorrer do trabalho.

A porcentagem de transferibilidade dos 31 loci testados, no presente estudo, foi de 100% (Figura 1). Este resultado está de acordo com os que foram observados por Yamamoto et al. (2001), onde testaram a amplificação de *primers* SSR desenhados para maçã (*Malus domestica*) em pêra (*Pyrus communis*), e obtiveram 100% de sucesso. Resultados estes que diferem dos que foram reportados por Priori et al. (2013), que ao estudarem a heterologia de primers de abobrinha (*C. pepo*) para *C. argyrosperma* e *C. ficifolia*, obtiveram sucesso de transferência inferior a 86 e 81 %, respectivamente. O contraste de resultados da elevada taxa de transferibilidade dos loci testados no presente estudo, em relação aos de Priori et al. (2013), possivelmente, esteja relacionado à similaridade do genoma de melão (*Cucumis melo*) com o da melancia (*Citrullus lanatus*), por pertencerem a mesma família e, além disso, esses dois genomas tem elevada taxa de homologia.

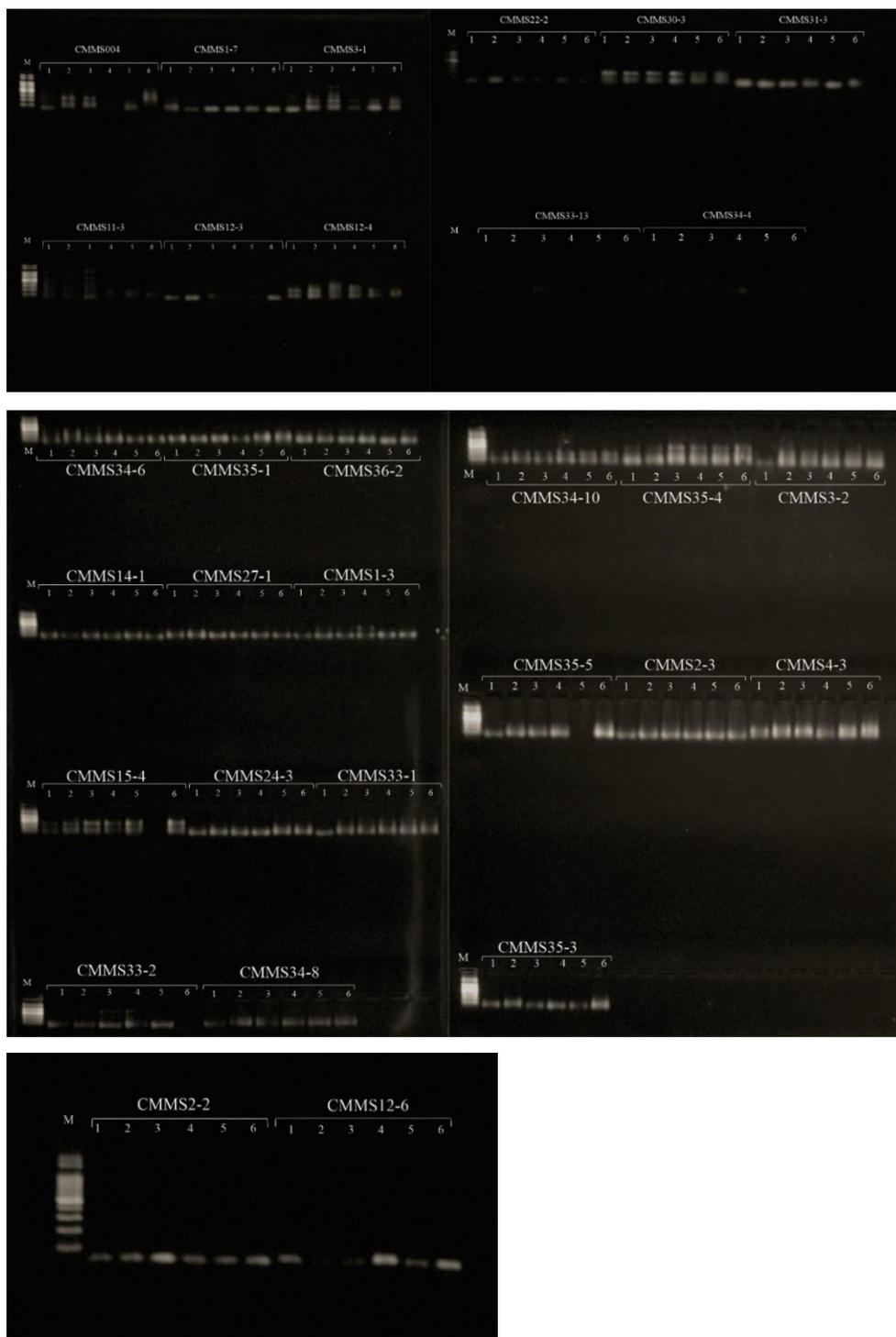


Figura 1. Padrão de amplificação de 31 loco SSR de *Cucumis melo* em seis genótipos de melancia *Citrullus lanatus* var. *lanatus* (M= marcador 1kb; 1= 31715.001; 2= 31577.002; 3= 31581.002; 4= 3185.001; 5= 31717.005 e 6= 31608.001 são as amostras de DNA).

O número de alelos obtidos por loci testados nos seis genótipos de melancia variou de cinco a seis (Figura 1), e desses, apenas, os loci CMMS 15-4, 31-3 e 35-5 apresentaram cinco alelos (Figura 1). Santos et al. (2020), ao estudarem a diversidade alélica em genótipos de guariroba (*Syagrus oleracea*) também encontraram altos valores para esse parâmetro. Por outro lado, Fortes et al. (2016) ao estimarem esse mesmo parâmetro, quando testaram a transferibilidade de *primers* desenhados para tamareira (*Phoenix dactylifera*) em coqueiro-tocum (*Astrocaryum vulgare*), encontraram diversidade alélica igual a 0%. A possível explicação para o contraste de resultados entre o presente trabalho, e o de Fortes et al. (2016) seja a maior diferença genética entre a tamareira e o coqueiro-tocum uma vez que, pertencem à mesma família, porém a gêneros diferentes aumentando o contraste entre o genoma das espécies, o que interfere na quantidade de bandas amplificadas.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou de 0 a 0,555, com média de 0.327, sendo que os loci CMMS004 e CMMS3-1 obtiveram os maiores valores de PIC com 0.555 e 0.545, respectivamente (Tabela 2). Considerando a classificação de Bolstein et al. (1980) para o nível de informação, quando se observa a média geral, os *primers* foram medianamente informativos, pois seu valor ficou entre 0,25 e 0,50, enquanto que as sequências com valores a cima de 0.50 são classificadas como altamente informativas (*primers* CMMS004 e CMMS3-1). Entretanto, as sequências classificadas em pouco informativas apresentam valores inferiores a 0,25.

Resultados, ligeiramente, contrastantes dos que foram obtidos no presente estudo, foram observados por Priori et al. (2013), ao testarem a transferibilidade de 40 sequências de *primers* desenhadas para pepino (*Cucurbita pepo*) em duas espécies de Cucurbitáceas, onde o valor de PIC variou de 0,09 a 0,89 com valor médio de 0,42. A superioridade dos valores observados no estudo citado pode ser atribuída a diferença genética entre as espécies estudadas ou até mesmo a metodologia de *Bulk* adotada pelos autores, o que possibilita amplificar e identificar uma maior quantidade de bandas polimórficas, uma vez que o conjunto de indivíduos que representam a população podem apresentar variações entre eles.

No presente estudo, também foram observados valores de PIC iguais a zero, o que leva a ideia errônea de que marcadores com esses valores não são eficientes. Porém é necessário levar em consideração que o valor de PIC é calculado pela razão entre o número de loci polimórficos e o número total de loci analisados (NEI 1987, FRANKHAM et al., 2002), sendo possível inferir que, para se estudar a diversidade genética entre os

indivíduos do presente estudo utilizando essas sequências, os resultados não serão satisfatórios em função do padrão monomórfico apresentado. Porém, em outras populações, essas sequências podem ser altamente informativas, possibilitando a aplicação desses *primers*.

A heterozigosidade esperada (H_e) variou entre 0 e 0,682, e os valores de heterozigosidade observada (H_o) variaram entre 0 e 1 (Tabela 2), com exceção dos *primers* CMMS004, 12-6, 24-3, 33-2, 33-13, 34-4, 35-1, 35-4 e 35-5, os demais loci apresentaram valores de H_o superiores que os da H_e , evidenciou uma maior existência de indivíduos heterozigotos. Santos et al. (2020), ao avaliarem esses mesmos parâmetros em populações de *Syagrus oleracea* obtiveram resultados contrários, onde a frequência de H_e foi superior a H_o , evidenciando uma maior existência de indivíduos homozigotos. No entanto, os indivíduos avaliados no presente trabalho são linhagens, oriundas de diferentes populações, e a possível explicação para a maior existência de indivíduos heterozigotos é que, por se tratar de indivíduos de diferentes populações, sendo normal encontrar variações entre eles.

No presente estudo também foram observados valores da H_e e da H_o , iguais a zero e estes são atribuídos ao fato dos *primers* terem sido monomórficos para os indivíduos avaliados, o que não caracteriza que as sequências são ineficientes, pois o comportamento pode ser diferente em outras populações. No presente estudo, fica evidente que para alguns *primers* é possível observar variação entre os indivíduos, mas é de fundamental importância que os produtos dos PCRs dessas sequências sejam corridos em gel de poliacrilamida buscando disponibilizar informações adicionais sobre os *primers*, entre elas a confirmação do polimorfismo entre os genótipos em estudos, principalmente quando se busca empregar essas sequências em populações de polinização controlada.

4.4 Conclusões

- 1- Houve 100% de ampliações das sequências de microssatélites SSR de melão para melancia;
- 2- As sequências testadas podem ser utilizadas dentro dos programas de melhoramento genético da melancia;
- 3- Os marcadores amplificados podem ser utilizados em estudos de diversidade e, possivelmente, na confirmação de paternidade, mapeamento, pureza de lotes de semente,

QTL etc.

4- As 30 sequências de iniciadores SSR polimórficos para o genoma da melancia podem ser exploradas em estudos de confirmação de paternidade, quando esses genitores estiverem envolvidos;

5- Antes de explorar as sequências amplificadas é necessário identificar o polimorfismo entre os indivíduos que serão estudados;

4.5 Referências

BEARZOTI, E.; VENCovsky, R. Simulation of marker-assisted recurrent selection in autogamous species. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2002.

BOLSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p.314-331, 1980.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, 2016. 385 p.

CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; MACIEL-ZAMBOLIM. Marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. (Ed.). **Biotechnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2013. p. 31-68.

CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G. de.; SAKIYAMA, N. S. TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. (Ed.). **Marcadores Moleculares**. Viçosa: UFV, 2016. p. 09-93.

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**, v. 53, n. 1, p. 21-27, 2003.

DOYLE, I. J.; DOYLE, J. L. *Isolation of plant from fresh tissue*. **Focus**, v. 12, n. 1, p.13-15, 1990.

FAGUNDES, B. S.; SILVA, L. F da; GIACOMIN, R. M.; SECCO, D.; DÍAS-CRUZ, J. A.; SILVA, P. R da. Transferability of microsatellite markers among Myrtaceae species and their use to obtain population genetics data to help the conservation of the Brazilian Atlantic Forest. **Tropical Conservation Science**, v. 9, n. 1, p. 408-422, 2016.

FORTES, A. C. R.; OLIVEIRA, M. do S. P. de.; OLIVEIRA, N. P. de.; SANCHES, E. de N. M.; CUNHA, E. F. M. Transferibilidade de locos microsatélites desenvolvidos em

outras espécies de palmeiras para *Astrocaryum vulgare* Mart. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 59, n. 1, p. 80-86, 2016.

FRANKHAM, R.; BRISCOE, D. A.; BALLOU, J. D. Introduction to conservation genetics. **Cambridge University Press**, p. 617. 2002.

MARSHALL, T. C.; SLATE, J.; KRUK, L.; PEMBERTON, J. M. Statistical confidence for likelihoodbased paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 5. p. 639-655, 1998.

MISTURA, C. C.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; PRIORI, D.; VILLELA, J. C. B. Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*). **Magistra**, v. 24, n. 4, p. 360-369, 2012.

NEI, M. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, p. 512. 1987.

PRIORI, D.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; OLIVEIRA, A. C. DE.; VILELA, J. C. B.; MISTURA, C. C. Diversidade genética de *Cucurbita pepo*, *C. argyrosperma* e *C. ficifolia* empregando marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 362-368, 2013.

SANTOS, S. K. S.; ORTEGA, J. R.; ROCHA, G. P.; MELO, A. F.; OLIVEIRA, D. A.; BRANDÃO, M. M.; ROYO, V. de A.; MENEZES, E. V. Transferibilidade de marcadores SSR, diversidade e estrutura genética em *Syagrus oleracea*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 59931-59947, 2020.

SILVA, L. da S.; MAROSTEGA, T. N.; GILIO, T. A. S.; SERAFIM, M. E.; ARAÚJO, K. L.; NES, G. L. Transferibilidade de marcadores microssatélites para espécies silvestres de maracujazeiro. **Revista de ciências agrárias**, v. 62, n. 1, p. 1–6, 2019.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. **Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações**. Editora SBG Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP, v. 181, 94 p. 2017.

YAMAMOTO, T.; KIMURA, T.; SAWAMURA, Y.; KOTOBUKI, K.; BAN, Y.; HAYASHI, T.; MATSUATA, N. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, n. 1, p. 865-870, 2001.

ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2002.

4.6 ANEXOS

Anexo A. Lista dos 31 marcadores microssatélites desenvolvidos por Chiba et al. (2003) e foram analisados no segundo capítulo desta tese.

Nome	Sequência do primer (5'-3')
CMMS004	GCCCAACGGACACACTCACTCAC/GAGGGAGTAAGAATAAGAAGAAGAA
CMMS1-3	TTGAATGATTGGAGGGAAGATAACG/CAAATATTGATGGATTAAATATATT
CMMS1-7	CAAAGACAAGGAGACGAAGACACC/AGACAACCTGGTTCGTACAGACACAGT
CMMS2-2	CTCTTTTGCATTATAATAATTAACC/GGGGCCAACGAAATCCAGTCATAGA
CMMS2-3	ATCACCACCCCCACCACTGCCAAAA/CCTTGAAAAACCACCAACATAACAC
CMMS3-1	AAATATAAGCAAACCAAAGTTGACC/CCGGGATATACGGACATACACACAC
CMMS3-2	AGTTTTTGGGCATTTTTAGTTGGAT/GGCTTATCTCCCACCCAACCATTCT
CMMS4-3	ACCGAAATCATAAGGAACATAAGAG/TATGAGCTGTGTTGTGTATGAAAAC
CMMS11-3	TGCCATATTCTGTGCTGATTGAAAC/ATGTAATCAATTCTCTCTCTCTCTC
CMMS12-3	CGTGGAGTTTTTCATGATAAGAACTT/CCAAC TATACTGAGGAAGGGAAAAA
CMMS12-4	GATGCGGTGAGAAAGAGTTGAGAGA/AGAGGGAGAGAGTTTGTAAAAAAAT
CMMS12-6	AACATGATGTGTTTACCAACTTTTT/GGTTAAGGGAAAGTGAAGAGATGGT
CMMS14-1	CATTGCTACTATTGTCGTCGTTGCT/TTTCTTTCTTTTCCGTATCCATTTT
CMMS15-4	GTCCGCCATCGCCACTACAAATCAA/CTCCGTAAAACCTTCTTCCTCTCTC
CMMS22-2	CGTTATACAAGATAGAGATAGAGAG/TTCAACTAATCCCCAAGACAAACAA
CMMS24-3	GAGGGAGAGAGTTTGTAAAAAAATG/TCGCCAATTACATTACAACCTTTTC
CMMS27-1	TCCATGAATTTATCGGGACTTACCA/TTGCCTCATTACTCAACTGTATTTT
CMMS30-3	TTCCCACCAGCCCAACGGACACACT/GAGATACAGAAACGACGACTAACCT
CMMS31-3	TTATGCATTAGTTCTTTACCGTTTA/CTTGTCGCAGGGTCTTTATTGTGTT
CMMS33-1	TGTAATAGGATGACCAAGGGGAGTT/TTCAGGAGCTACAACAAGATTTCAA
CMMS33-2	GCTACTTTTTATGGCGGCAGTGACG/ATTCGGGATGATTATTCTTCGCAGTT
CMMS33-13	GGCGCTGCCTGAGCCCTCCTAGAGC/GCCCCCTGCTCCGTGCCTGTCCTCT
CMMS34-4	AATCAACCAAAACCACACCCTACCC/TGGGTTGTTATGTTTGGCTATTTGC
CMMS34-6	GGGGCCAGCTCAACAACCACCATAG/TGCCATCGAAGTTAGTTGAAGCTCA
CMMS34-8	TTTCTTACTTTTTGGTTTGGTTCTG/GGCGCTGTGGTGAGTGTGGGAGAG
CMMS34-10	GGGGTGTGAAGCTGAAGGCAAAGTC/AAAGGAAGAAGAAGAAAAAGGAGAA
CMMS35-1	CTTGGGTAAGTCTGTGGATGTTGCT/CTACGCATAACATTTTAGGCATCCA
CMMS35-3	CGGAGAAGAAGGAAGGGTTTTAAGA/ATTCGTAGTTCATACTCTCTTTCTC
CMMS35-4	ACGGATACATCGAGGAGACTTCATG/GTCAGCTTCAACCCTTTACTTTTTT
CMMS35-5	AACGGGATTTTGGAGGCATATTCGG/CTCCCAGTGTATCAGCCAAATCTC
CMMS36-2	CCACACATTACAACTAAACAAACA/GGATTCCGATTTGGTGTGGCGTTTT



Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 2. Genótipos de melancia (17.31715, 16.31577, 16.31581, 16.31585, 17.31717 e 16.31608) semeados em vasos de 5L para coleta de material vegetal para extração de DNA genômico.

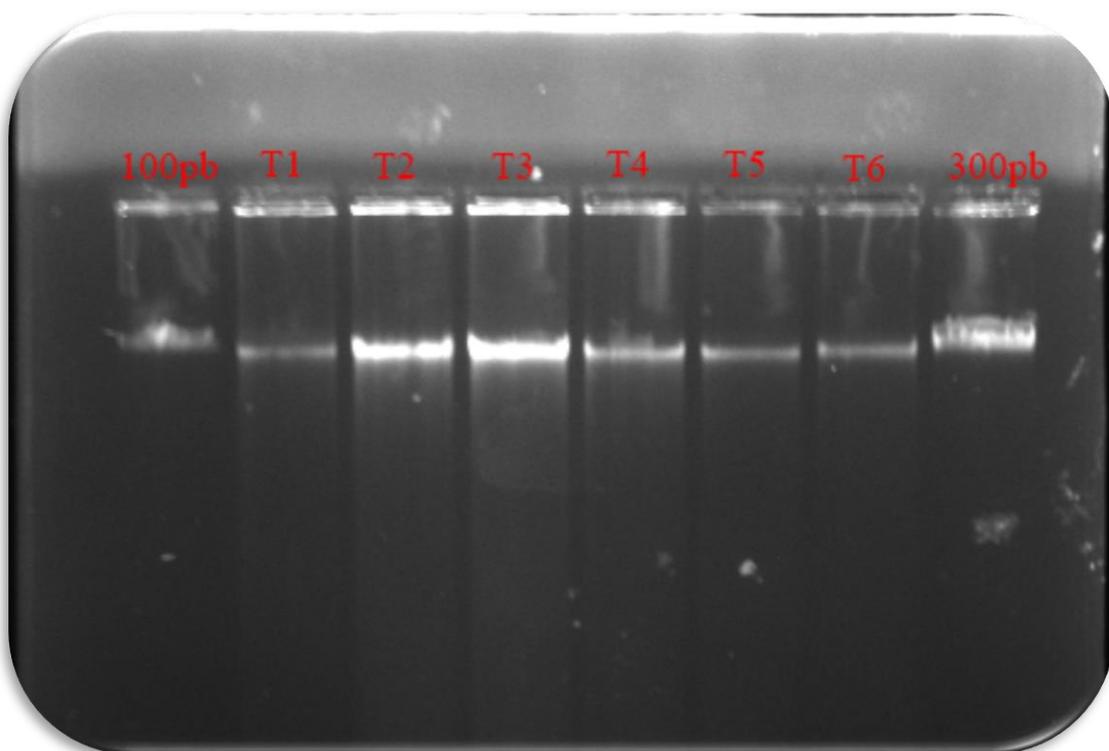


Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 3. Quantificação de DNA genômico em seis genótipos de melancia (100 e 300pb – Lambda, T1- 17.31715, T2- 16.31577, T3- 16.31581, T4- 16.31585, T5- 17.31717 e T6- 16.31608).

5. CAPÍTULO IV

MARCADORES MICROSSATÉLITES NA IDENTIFICAÇÃO DE QTL PARA O TAMANHO DE SEMENTE EM UMA POPULAÇÃO F₂ DE MELANCIA

5. MARCADORES MICROSSATÉLITES NA IDENTIFICAÇÃO DE QTL PARA O TAMANHO DE SEMENTE EM UMA POPULAÇÃO F₂ DE MELANCIA

RESUMO: Melancias com tamanho de semente pequena podem aumentar as propriedades nutraceuticas dessa hortaliça. Contudo, o comportamento genético desse caráter na cultura da melancia é bastante variado, possivelmente, devido a uma maior influência do ambiente na expressão fenotípica do caráter. Essa problemática pode ser solucionada com uso de marcadores moleculares, pois acessam a informação em nível de DNA e não sofre influência do ambiente. Diante ao exposto, o objetivo do presente estudo foi identificar marcadores SSR associados ao tamanho de semente em melancias, úteis no melhoramento da cultura. Para isso, foram avaliados 159 marcadores SSR em 119 indivíduos de uma população F₂, oriunda do cruzamento entre dois genitores: semente pequena e grande. Do total de sequências analisadas, 20 foram polimórficas. No entanto, apenas 11 seguiram o padrão de distribuição esperado na população F₂ de 1:2:1. A ANOVA demonstrou a associação de um marcador (MCPI-12) com o comprimento de semente, com variância fenotípica explicativa de 5,47%, estando de acordo com os resultados obtidos pela regressão, que ainda evidenciou maiores efeitos de aditividade. Quando realizado o “blast” dessa sequência dentro do genoma da melancia, foi possível observar que está sequência encontra-se no cromossomo sete. O QTL identificado no presente estudo, quando validado sua associação com o caráter de interesse, pode ser amplamente utilizado na seleção de indivíduos com diferentes tamanhos de semente, levando em consideração o objetivo do estudo.

Palavras-chave: Seleção antecipada, grupos de ligação, Kosambi

ABSTRACT: Watermelons with small seed size can increase the nutraceutical properties of this vegetable. However, the genetic behavior of this character in the culture of watermelon is quite varied, possibly due to a greater influence of the environment on the phenotypic expression of the character. This problem can be solved with the use of molecular markers, as they access information at the DNA level and are not influenced by the environment. Given the above, the objective of the present study was to identify SSR markers associated with the seed size in watermelons, useful in improving the crop. For that, 159 SSR markers were evaluated in 119 individuals from an F₂ population, originated from the crossing between two parents: small and large seed. Of the total sequences analyzed, 20 were polymorphic. However, only 11 followed the expected

distribution pattern in the F2 population of 1: 2: 1. ANOVA demonstrated the association of a marker (MCPI-12) with the seed length, with an explanatory phenotypic variance of 5.47%, in agreement with the results obtained by the regression, which still showed greater additivity effects. When the blast of this sequence was carried out within the watermelon genome, it was possible to observe that this sequence is found on chromosome seven. The QTL identified in the present study, when validated its association with the character of interest, can be widely used in the selection of individuals with different seed sizes, taking into account the objective of the study.

Keywords: Early selection, liaison groups, Kosambi

5.1 Introdução

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai] é uma olerícola de grande apreciação, tanto no âmbito nacional quanto mundial, destacando-se entre as demais espécies que compõem a família das *Cucurbitáceas* (HORA et al., 2018). De acordo com o Anuário Brasileiro de Horti&Fruti (2020), em 2019 a melancia ocupou a 3ª posição das frutas mais consumidas no Brasil. Quanto ao *ranking* mundial, o Brasil ocupou a 4ª posição, tendo a China como a maior produtora (FAO, 2018). A exploração comercial da melancia no Brasil, gera grande quantidade de empregos, sejam eles diretos e indiretos, por movimentar setores diversos, desde o de insumos até o de transportes. Vale lembrar que a exploração comercial dos frutos da melancia é realizada por empresas de diferentes portes, sejam elas pequenas, médias ou grandes, desde o cultivo por agricultores familiares a empresarial (VILELA et al., 2006).

Além da fruta, outra matéria prima utilizada na produção de farinhas, biscoitos etc. são as sementes da melancia (MENEZES FILHO et al., 2019). Considerando essa aptidão de mercado, melancias com maiores tamanho de semente são mais apreciadas por disponibilizarem maior quantidade de matéria prima. Porém, do ponto de vista nutricional, possivelmente com a produção desses derivados a quantidade de nutrientes até chegar ao consumidor pode ter se perdido no processo. Uma alternativa viável para sanar essa problemática, seria o desenvolvimento de genótipos com tamanho de semente reduzida, possibilitando seu consumo junto da polpa, evitando a perda desse composto.

Considerando a domesticação das plantas, a depender da cultura, o tamanho de semente é considerado um caráter de altíssima importância (XIA et al., 2018). Sendo que a variação observada para este caráter é resultado da seleção, seja ela natural ou artificial, para adaptação a ambientes ou para suprir a necessidade humana (AMABILE et al.,

2018). Para realizar o melhoramento artificial de um carácter é necessário conhecer o controle genético deste e, para o tamanho de semente em melancia diferentes autores relatam diferentes interações alélicas controlando o carácter (POOLE et al., 1941; ZHANG e ZHANG, 2011; e GAO et al., 2016), o que dificulta o trabalho de melhoramento desse carácter.

Esse comportamento, possivelmente, seja devido a diferença genética das populações utilizada nos diferentes estudos, ou ainda a mensuração do fenótipo que pode sofrer, em alguns casos, maior influência do ambiente, essa problemática pode ser resolvida com uso de marcadores moleculares que acessam informações de indivíduos a nível de DNA e não sofrem qualquer influência ambiental nos resultados (BEARZOTI e VENCOVSKY 2002), dando maior entendimento do comportamento genético do carácter nas populações em estudo. Diante ao exposto, o objetivo do presente estudo foi identificar marcadores SSR associados ao tamanho de semente em melancias úteis no melhoramento dessa cultura.

5.2 Material e Métodos

Obtenção das populações

O experimento foi conduzido durante os anos de 2017 e 2018, no Campo Experimental de Bebedouro na Embrapa Semiárido em Petrolina-PE. Foram utilizadas duas linhagens de melancia, contrastantes para o tamanho de semente: a linhagem 31715.001 “P₁” (semente pequena) e a linhagem 31717.005 “P₂” (semente grande), para obtenção das populações F₁, F₂, RC₁ e RC₂. Para isso, foram realizados cruzamentos, com Polinização Manual Controlada (PMC), seguindo a metodologia utilizada por Nascimento et al. (2020).

Para obtenção da população F₁, as sementes das linhagens foram semeadas em bandejas de poliestireno, contendo substrato comercial para hortaliças e mantidas em casa de vegetação por 12 dias. Após esse período, as plântulas foram levadas para o campo experimental. Na geração seguinte, cinco sementes dos genitores (P₁ e P₂) e da população F₁, foram semeadas e, utilizando-se a PMC, o F₁ foi autofecundado, e simultaneamente cruzado com os genitores P₁ e P₂, originando as sementes das populações F₂, RC₁ e RC₂, respectivamente. Entre 30 e 35 dias após a polinização os frutos foram colhidos, suas sementes extraídas, lavadas e postas para secar a sombra.

Fenotipagem para o tamanho de semente em populações F₁, F₂, RC₁, RC₂ e genitores de melancia

Durante os meses de abril a agosto de 2018, as sementes de todas as populações foram postas para germinar em bandejas de poliestireno expandido, contendo substrato comercial para hortaliças. Aos 12 dias após o semeio, efetuou-se o transplântio das plântulas em fileira contínua, para o Campo Experimental de Bebedouro, em solo previamente preparado e coberto com *mulching*, plástico de coloração cinza, no espaçamento de 1 metro entre plantas e 2,5 entre fileiras. Após o transplântio, as mudas foram cobertas com manta agrotêxtil até o período de floração, ocasião em que esta foi removida para que houvesse a polinização das flores.

Aos 70 dias após o plantio realizou-se a colheita dos frutos. As sementes foram extraídas, lavadas e postas para secar à sombra. Foram avaliadas 8, 10, 7, 200, 50 e 50 plantas das populações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁ e RC₂, respectivamente. As sementes de cada população foram oriundas de um único fruto. Para classificar as sementes quanto ao tamanho, das mesmas foi mensurado seu comprimento devido esse carácter apresentar-se altamente correlacionado com a largura e o peso (HAWKINS e DANE, 2001).

O comprimento foi determinado com auxílio de paquímetro digital, seguindo a metodologia utilizada por Nascimento et al. (2020), escolhidas de forma aleatória sementes em um fruto de cada planta. As plantas que tiveram o tamanho de semente entre 4.2-6.1; 6.5-7.8; e 11.2-11.8mm foram classificadas em pequenas, médias e grandes, respectivamente.

Extração e quantificação do DNA genômico

Trinta dias após o transplântio, período de florescimento da cultura, das plântulas no campo experimental, a manta que cobria e protegia as mesmas foi removida, e em sacos plásticos com identificação dos genótipos coletou-se amostras de folhas jovens das plantas (Figura 1). Em seguida, foram armazenadas em isopor contendo gelo, posteriormente armazenadas em freezer -80°C até a fase de extração do DNA genômico.

A extração de DNA foi realizada no laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, utilizando o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com algumas modificações: 1) as folhas foram maceradas em disruptor de tecidos por esferas metálicas; 2) as folhas foram cortadas e colocadas dentro de microtubos de 2 mL, contendo sete esferas metálicas de 3mm de espessura e armazenados em gelo até que todas as amostras estivessem prontas; 3) o CTAB 2% misturado ao β - mercaptaenol foi pré-aquecido em banho maria a 65°C; 4) em capela de exaustão foram adicionados 700 μ L do CTAB 2% aos tubos contendo as esferas e o material vegetal; 5) as amostras foram levadas ao disruptor programa (6:30 m/s, durante 45s com intervalos de 10s entre os três ciclos);

6) em seguida levadas ao banho-maria a 65 °C durante 50 min, com inversão destes a cada 10 min; 7) adicionou-se 700 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) em cada tubo; 8) em seguida, os tubos foram agitados manualmente e centrifugados a 12.000 rpm, por 10 min a 25°C; 9) após a centrifugação retirou-se 470 µL da fase superior (aquosa) e transferiu-se para um novo microtubo de 1,5 mL; 10) adicionou-se 320 µL de álcool isopropílico ‘gelado’ em cada tubo, seguido de três suaves inversões. Em seguida os tubos foram mantidos em gelo por 20 min e armazenados em freezer -20°C; 11) após esse período a solução foi centrifugada a 12.000 rpm para deposição do “pellet” no fundo do tubo, durante 10 min a 25°C; 12) descartou-se o sobrenadante em um béquer, em capela de exaustão de gases; 13) foi observado se houve formação do “pellet”, em seguida foram realizadas duas lavagens com 500 µL de álcool etílico a 70% (5 min) e absoluto (5s), respectivamente, o “pellet” foi posto para secar em temperatura ambiente, durante 1h, 30m, e posteriormente ressuspendido em 50 µL de tampão Tris-EDTA (TE). Esta solução foi armazenada a 4 °C por 24 horas em geladeira para completa dissolução do “pellet” e em seguida, essas amostras de DNA foram tratadas com RNase durante 1 h em estufa a 37 °C para remoção dos RNAs co-extraídos.

A quantificação do DNA foi realizada em gel de agarose a 1,0% corado com brometo de etídio, submetidos a corrente de 80 volts durante 1h e 30min. A concentração foi estimada pela comparação visual da intensidade das bandas do DNA extraído com bandas do DNA do fago Lambda (50pb) carregadas no mesmo gel das amostras, enquanto que, a integridade das amostras de DNA foi avaliada pela presença e ausência de ‘rastro’ de DNA. Em seguida, as amostras de DNA foram diluídas para concentração de trabalho de 20 ng/µL e armazenadas em freezer a -20 °C.

Reação de amplificação do DNA, resolução em géis de poliacrilamida e análise dos dados

Foram utilizados 159 marcadores microssatélites (Tabela 1), desenvolvidos para a cultura da melancia, 43 por Cheng et al. (2016); 7 por Jarret et al. (1996); 18 por Guerra-Sanz (2002); 36 por Joobeur et al. (2006); e 55 por Ren et al. (2012), buscando identificar aqueles que apresentariam fragmentos de diferentes tamanhos entre os genitores. A reação da PCR foi realizada seguindo o protocolo de Joobeur et al. (2006), com modificações, para um volume final de 10 µL, contendo 20 ng de DNA, 0,5 µM de cada ‘primer’, 0,1 mM de dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, 1x de tampão de PCR e 0,75 unidades da enzima Taq DNA polimerase.

A programação do termociclador para as amplificações consistiu de: a) um ciclo inicial de 94°C durante dois min, seguido de 30 ciclos a 94 °C durante 15 segundos, 56°C durante 30 segundos e 72°C durante dois min, um ciclo final a 72°C durante 30 min e temperatura constante de 4°C. Ao produto da PCR foi adicionado metade do volume da reação (5 µL), de tampão desnaturante formamida 98% (EDTA pH 8,0 10 mM, 1 mg/mL de Xilene Cyanol e 1 mg/mL de Bromofhenol blue), seguido da completa desnaturação a 94°C por 4 min em termociclador e logo após colocadas imediatamente no gelo.

Os produtos de amplificação foram separados em gel de poliacrilamida a 6% [acrilamida/bisacrilamida (19:1), 7,5 M de ureia e tampão TBE 5x], preparado em placa de vidro tipo sanduíche com capacidade para 63 poços. As placas de vidro foram limpas com um lenço de papel embebido com etanol. A placa grande (de adesão do gel) foi tratada com 1,1 mL de uma solução contendo 95% de Etanol + 0,5% de Ácido Acético e um µL de Bind silane (Bioscience). Essa solução foi espalhada em toda a superfície da placa com um lenço de papel, enquanto ocorria a secagem da solução (3 min).

A placa pequena (repulsão do gel) foi tratada de acordo como descrito anteriormente, porém, substituindo-se a solução contendo Bind silane por um produto usado para a limpeza de vidros de automóveis. As placas foram postas uma sobre a outra, contendo os espaçadores laterais e de fundo (espessura de 3 mm) e presas com prendedor de papel. Após aplicar o gel no sistema sanduíche, foram colocados os pentes também presos por prendedores de papel maiores. Após a polimerização do gel (aproximadamente uma hora), uma pré-corrída de uma h a 45 W foi realizada antes da aplicação do produto da PCR. Foram aplicados 2,0µL da reação de PCR desnaturada no gel de poliacrilamida a 6%, sendo a corrída de eletroforese realizada por um período de aproximadamente três horas, com potência constante de 45 W.

O marcador de peso molecular “Ladder” 1 Kb (Fermentas) foi carregado na extremidade lateral de cada gel. Os géis foram corados com nitrato de prata, conforme procedimento proposto por Benbouza et al. (2006): 1) a placa contendo o gel foi imersa em solução de fixação contendo: 1.790 ml de água destilada + 200 ml de etanol absoluto 10% e 10 ml de ácido acético 1%, por 5 min; 2) a impregnação do gel foi realizada com solução de nitrato de prata 0,2% contendo: 2.000 ml de água destilada + 3g de nitrato de prata e 2 ml de formaldeído, durante 6-7 min, seguida de uma lavagem de 10s com água destilada (2.000 ml); 3) o gel foi imerso em solução de revelação, contendo: 2.000 ml de

água destilada + 30 g de hidróxido de sódio, e 3 ml de formaldeído, até o aparecimento das bandas, aproximadamente três minutos, porém a depender da quantidade de vezes que a solução foi usada esse tempo se estendeu até oito minutos; 4) e por fim uma nova lavagem do gel foi realizada com a solução de parada de revelação contendo: 1.790 mL de água destilada + 200 mL de álcool etílico absoluto e 10 mL de ácido acético, por três minutos.

Todas as etapas de revelação foram realizadas sob leve agitação, em um agitador de Erlenmeyer, do qual foram removidos os suportes que prendiam o recipiente. A placa com o gel corado foi colocada em posição vertical até a secagem em temperatura ambiente, para posterior identificação, e análise dos fragmentos, enquanto que o registro das ampliações no gel foi realizada por meio de digitalização em scanner Epson GT-15000.

Os dados foram anotados para a homocigoto dominante (1.1), heterocigoto (1.2) e homocigoto recessivo (2.2), com base na altura dos alelos. Os dados obtidos pelos marcadores microssatélites foram submetidos ao teste do Qui-quadrado a 5 % de probabilidade para verificação do padrão de segregação na população F_2 de 1:2:1. Em seguida, foram obtidas a ANOVA seguido da análise de regressão, utilizando a interfase genômica, procedimento: QTL-mapeamento por marca simples, utilizando o software GENES versão 2020.30 (CRUZ, 2016). Além disso, foi realizado um blast da sequência dos primers no genoma da melancia (Charleston Gray v.2): (<http://cucurbitgenomics.org>) para saber em qual cromossomo o mesmo se encontrava.

5.3 Resultados e Discussão

Com base na fenotipagem das populações F_1 , F_2 , RC_1 , e RC_2 e dos genitores para o comprimento de semente, foi possível observar que: os genitores estavam em homocigose, uma vez que todos os indivíduos dessas populações (P_1 , P_2), bem como os que representaram a população híbrida apresentaram o mesmo padrão para o tamanho de semente; com um gene com dois alelos, exibindo dominância incompleta, controlando o carácter em questão, visto a consonância da segregação mendeliana da população F_2 para características controladas por um gene com dois alelos (1:2:1), e confirmado pela população de RC_1 que apresentou 50% dos indivíduos com semente pequena e os outros 50% com semente média.

Dos 159 marcadores moleculares SSR utilizados no presente estudo 20 foram polimórficos, pois apresentaram fragmentos de diferentes tamanhos entre os genitores e o híbrido, sendo eficientes em distingui-los. Gama et al. (2015), ao utilizarem parcialmente. Essas mesmas sequências, também observaram polimorfismo entre os indivíduos avaliados. Essa consonância de resultados evidencia que esses marcadores, apesar de terem sido desenhados para estudos de diversidade, podem ser utilizados dentro de programas de melhoramento da melancia para os mais variados objetivos, a exemplo da confirmação de paternidade.

Apesar de terem sido observados 20 marcadores polimórficos para os genitores do presente estudo, somente 11 foram capazes de identificar variações genótípicas dentro da população F_2 avaliada. Esse mesmo resultado foi observado por Couto et al. (2010), ao buscarem identificar marcadores microssatélites relacionados ao escurecimento de grãos em feijão. Segundo Schuster e Cruz (2013), esse comportamento exibido pelo marcador pode estar associado ao baixo número de indivíduos genotipados na população em estudo. Porém esse mesmo autor afirma que para se testar a segregação de um marcador codominante, e ter 95% de confiabilidade no resultado, são necessários genotipar, apenas, 5 indivíduos da população alvo. E no presente estudo, para o carácter tamanho de semente, foram utilizados 119 indivíduos da população F_2 , o que implica em dizer que, para os marcadores não polimórficos dentro dessa população, possivelmente, eles estejam relacionados a outro carácter que não foi possível identificar devido ao número de indivíduos avaliados na população, o que não possibilitou visualizar segregação na população F_2 .

Após a genotipagem dos indivíduos, foi observada a segregação dos marcadores, por meio do teste do Qui-quadrado (X^2) para saber se seguiam a distribuição mendeliana de 1:2:1 (Tabela 1). Foi possível observar que a genotipagem dos indivíduos não foi diferente do que se esperava obter com os marcadores, possibilitando utilizá-los na análise de QTL. Essa verificação do teste de segregação dos *primers*, além do polimorfismo observado no próprio gel pela altura dos fragmentos amplificados, possibilita uma segunda seleção dessas sequências, pois apesar de um *primer* ter sido polimórfico esse comportamento não garante que o mesmo seja utilizado em populações segregantes (SCHUSTER e CRUZ, 2013). Desse modo, o marcador, além de exibir polimorfismo entre os genitores e o híbrido, ele deve apresentar X^2 não significativo, o que indica a possibilidade de utilização para genotipagem de populações segregantes.

Tabela 1. Teste do Qui-quadrado para segregação mendeliana 1:2:1 nos marcadores polimórficos de melancia

Marcadores	⁽¹⁾ Proporções			Segregação	⁽²⁾ X ²
	A _i ¹ A _i ¹	A _i ¹ A _i ²	A _i ² A _i ²		
MCPI-10	29	62	22	1:2:1	1,94 ^{ns}
MCPI-07	27	63	31	1:2:1	0,47 ^{ns}
EST00680	35	60	23	1:2:1	2,48 ^{ns}
MCPI-16	28	64	28	1:2:1	0,53 ^{ns}
MCPI-31	35	54	26	1:2:1	1,84 ^{ns}
MCPI-05	25	62	32	1:2:1	1,03 ^{ns}
EST00667	26	59	35	1:2:1	1,38 ^{ns}
BVWS00567	30	55	34	1:2:1	0,95 ^{ns}
MCPI-12	26	68	23	1:2:1	3,24 ^{ns}
BVWS00567	36	56	27	1:2:1	1,77 ^{ns}
BVWS00288	32	63	22	1:2:1	2,40 ^{ns}

¹⁾ A_i¹A_i¹, proporção observada do homozigoto para o alelo A_i¹ para o iésimo marcador; A_i¹A_i², proporção observada de heterozigotos do iésimo marcador; e A_i²A_i², proporção observada do homozigoto para o alelo A_i² para o iésimo marcador. ⁽²⁾ Ns= não significativo a 5% de probabilidade.

Apesar de todos os primers não terem diferido do que se esperava da segregação mendeliana, dos 11 marcadores utilizados, no presente estudo para identificação de QTL para o comprimento de semente em uma população F₂ de melancia (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*), apenas um (MCPI-12) apresentou diferença significativa na ANOVA, o que indica a associação dessa marca com o caráter em questão. Apesar dessa identificação, um único marcador não é suficiente para montar grupos de ligações, visto que esse procedimento busca localizar a posição do marcador no cromossomo, via mapa físico, por meio da saturação do cromossomo. A associação desse primer ao gene marcador também foi confirmada pela análise de regressão (Tabela 2) na qual, pelo teste F, foi possível aceitar a hipótese H₁ (existe associação entre o marcador e o QTL), explicando 5.42% da variação fenotípica desse caráter. Ainda com base na análise de regressão é possível observar que o modelo dominante não é significativo, evidenciando efeitos de aditividade sobre a associação.

Tabela 2. Análise de regressão múltipla entre o comprimento de semente e o marcador MCPI-12

⁽¹⁾ FV	GL	SQ	QM	F	PROB	R ² (%)
Completo	2	34,454	17,227	3,269	0,0416	5,42
Desvio	114	600,703	5,269			
Aditivo	1	33,919	33,919	6,488	0,0122	5,34
Desvio	115	601,238	5,228			
Dominante	1	0,21	33,919	0,038	100	0,03
Desvio	115	634,946	5,521			
Total	116	635,157				

⁽¹⁾ FV= Fonte de variação; GL= Graus de liberdade; SQ= Soma de quadrados; QM= Quadrado médio; F= teste F a 5% de probabilidade; PROB= probabilidade; R² (%) = Porcentagem de variância fenotípica.

Prothro et al. (2012), possivelmente, um dos pioneiros na condução de trabalhos sobre QTL para o tamanho de semente em melancia, usando uma população de linhas recombinantes (RIL) de KBS (semente média, cultivada) x NHM (semente média, cultivada) e uma população F₂ resultante do cruzamento entre ZWRM (semente pequena, cultivada) x PI244019 (semente média, var. *Citroides*), identificaram 13 marcas de QTL distribuídas em quatro grupos de ligação (LG2, LG4, LG9 e LG11). Meru e McGregor (2013) também encontraram duas marcas (NW0248796 e NW0251236) associadas ao comprimento de semente e, simultaneamente, ao peso de 100 sementes e a porcentagem de óleo de kernel. A maior identificação de QTL nos trabalhos citados e a baixa do presente estudo, possivelmente, seja atribuída a quantidade de *primers* polimórficos utilizados em ambos os estudos, pois quanto maior a quantidade de *primers*, teoricamente, maiores são as chances de identificação de QTLs, como também pode estar associado ao tipo de marcador utilizado pelos autores.

Após a divulgação de um sequenciamento inicial do genoma da melancia por Guo et al. (2013), os trabalhos de mapeamento de QTL se tornaram menos onerosos. Utilizando este sequenciamento inicial, foi possível observar que o QTL identificado no presente estudo encontra-se localizado no Chr7 a 0,35 cM do QTL que, possivelmente, esteja relacionado ao controle do tamanho de semente nessas populações de melancia. Ren et al. (2014) identificaram QTL no Chr2 e Chr6 com os maiores efeitos relatados por Prothro et al. (2012). Liu et al. (2014) também identificaram dois QTLs: 1 para

comprimento de semente, e outro para a largura, ambos localizados no Chr6. Zhou et al. (2016), avaliando as mesmas populações utilizadas por Liu et al. (2014), identificaram mais 10 QTLs no Chr6: três para o comprimento, quatro para a largura, um para a espessura, e dois para o peso de 100 sementes. Kim et al. (2015), detectaram um QTL para o peso de 20 sementes no Chr2 avaliando uma população F₂ resultante do cruzamento entre “Arka Manik” x “TS34”. Li et al. (2018), ao mapearem QTL para características relacionadas ao tamanho de semente também os encontraram localizados no Chr6.

A variância fenotípica explicativa (PVE) da associação do marcador MCPI-12, no presente estudo, com o comprimento de semente foi de 5.42%, estando em consonância com o resultado da análise de regressão. Prothro et al. (2012), obtiveram três QTLs com maiores efeitos da PVE entre 26,9% e 73,6%, para as características relacionadas ao tamanho de semente: largura, comprimento, e do peso de 100 sementes. Além disso, eles também detectaram um maior efeito de QTL (PVE = 25,6%) para o peso de semente. Liu et al. (2014), obtiveram PVE de 18.8% e 15.7% para o comprimento e largura de semente, respectivamente. Zhou et al. (2016), obtiveram PVEs acima de 48,5%, 42,2% e 45,3% para o comprimento, largura, espessura e a massa de 100 sementes. Além disso, Li et al. (2018) ao mapearem QTL para características relacionadas ao tamanho de semente também encontraram PVEs altos para o comprimento (94,1%), largura (95,3%), e a massa de 1000 sementes (93,0%).

5.4 Conclusões

- 1- Foram identificados 11 marcadores polimórficos na população;
- 2- Foi identificado um marcador SSR (MCP-12) associado ao tamanho de semente;
- 3- É necessário realizar a validação desse marcador em outras populações, antes de ser explorado dentro dos programas de melhoramento da cultura.

5.5 Referências

AMABILE, R. F.; VILELA, M. S.; PEIXOTO, J. R. **Melhoramento de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado**. Brasília: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2018. 108 p.: il.

Anuário brasileiro de horti&fruti 2020 / Cleonice de Carvalho... [et al.]. – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019. 96 p.: il. ISSN 2178-0897.

BEARZOTI, E.; VENCOVSKY, R. Simulation of marker-assisted recurrent selection in autogamous species. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2002.

BENBOUZA, H.; JACQUEMIN, J. M.; BAUDOIN, J. P.; MERGE, G. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. **Biotechnology, Agronomy and Society and Environment**, v. 10, n. 2, p. 77 – 81, 2006.

CHENG, Y.; LUAN, F.; WANG, X.; GAO, P.; ZHU, Z.; LIU, S.; ABDUL, M. B.; ZHANG, Y. Construction of a genetic linkage map of watermelon (*Citrullus lanatus*) using CAPS and SSR markers and QTL analysis for fruit quality traits. **Scientia Horticulturae**, v. 202, n. 1, p. 25–31, 2016.

COUTO, K. R.; SANTOS, J. B. dos.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA, G. S. da. Identificação de marcadores microssatélites relacionados ao escurecimento de grãos em feijão. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1268-1274, 2010.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1990.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS

(FAO). FAOSTAT: Production crops. Available at:

<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Access on: 21 fev 2021.

GAMA, R. N. C. de S.; SANTOS, C. A. F.; DIAS, R. de C. S.; SOUZA, R. R. C. de.; QUEIRÓZ, M. A. de. Microsatellite markers linked to powdery mildew resistance locus in watermelon. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 1, p. 92-97, 2015.

GAO, M. L.; ZHAO, F. F.; WANG, Y. S.; YUAN, C. Z.; WEI, X. M.; LI, J. Y. Genetic analysis and correlation of seed traits in mini watermelon. **Jiangsu Academy of Agricultural Sciences**, v. 44, p. 259–261, 2016.

GUERRA-SANZ, J. M. Citrullus simple sequence repeats markers from sequence databases. **Molecular ecology notes**, Oxford, v. 2, n. 3, p. 223-225, 2002.

GUO, S. G.; ZHANG, J. G.; SUN, H. H.; SALSE, J.; LUCAS, W.; ZHANG, H. Y. The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. **Nature Genetics**. v. 45, n. 1, p. 51–58, 2013.

HAWKINS, L. K.; DANE, F. Molecular markers associated with morphological traits in watermelon. **HortScience**, v. 36, n. 7, p. 1318-1322, 2001.

HORA, R. C.; CAMARGO, J.; BUZANINI, A. C. Cucurbitáceas e outras. In: BRANDÃO FILHO, J. U. T.; FREITAS, P. S. L.; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R., comps. **Hortaliças-fruto** [online]. Maringá: EDUEM, 2018, pp. 71-111. ISBN: 978-65-86383-01-0.

JARRET, R. L.; MERRICK, L. C.; HOLMS, T.; EVANS, J, ARADHYA, M. K. Simple sequence repeats in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). **Genome**, Ottawa, v. 40, n. 4, p. 433-441, 1996.

JOOBEUR, T.; GUSMINI, G.; ZHANG, A.; LEVI, A.; XU, Y.; WEHNER, T. C.; OLIVER, M.; DEAN, R. A. Construction of a watermelon BAC library and

identification of SSRs anchored to melon or Arabidopsis genomes. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, n. 8, p. 1553-1562, 2006.

KIM, K. H.; HWANG, J. H.; HAN, D. Y.; PARK, M.; KIM, S.; CHOI, D. Major quantitative trait loci and putative candidate genes for powdery mildew resistance and fruit-related traits revealed by an intraspecific genetic map for watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*). **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. 01-18, 2015.

LI, N.; SHANG, J. L.; WANG, J. M.; ZHOU, D.; LI, N. N.; MA, S. W. Fine mapping and discovery of candidate genes for seed size in watermelon by genome survey sequencing. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 843–854, 2018.

LIU, C. Q.; GAO, P.; LUAN, F. S. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis of fruit-associated traits in watermelon. **Scientia Agricola**, v. 47, n. 1, p. 2814–2829, 2014.

MENEZES FILHO, M. C. P. de.; SOUZA, W. C. de.; CASTRO, C. F. de S. Avaliação dos compostos voláteis majoritários e graxos dos óleos extraídos das farinhas de Melancia (*Citrullus lanatus* Thumb. Manf. var. *Crimson Sweet Extra*). **Brazilian Journal of Food Research**, v. 10, n. 3, p. 1-14, 2019.

MERU, G.; MC GREGOR, C. Genetic mapping of seed traits correlated with seed oil percentage in watermelon. **Hortscience**, v. 48, n. 1, p. 955–959, 2013.

NASCIMENTO, T. L.; SOUZA, F. F.; DIAS, R. C. S.; SANTOS, J. S.; MELO, N. F. Inheritance of seed size in watermelon populations. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2020.

POOLE, C. F.; GRIMBALL, P. C.; PORTER, D. R. Inheritance of seed characters in watermelon. **Journal of Agricultural Research**, v. 63, p. 433–456, 1941.

PROTHRO, J.; SANDILIN, K.; ABDEL-HALEEM, H.; BACHLAVA, E.; WHITE, V.; KNAPP, S.; MCGREGOR, C. Main and epistatic quantitative trait loci associated with

seed size in watermelon. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 137, n. 6, p. 452-457, 2012.

REN, Y., MCGREGOR, C., ZHANG, Y., GONG, G., ZHANG, H., GUO, S. G. An integrated genetic map based on four mapping populations and quantitative trait loci associated with economically important traits in watermelon (*Citrullus lanatus*). **BMC Plant Biol**, v. 13, n. 33, p.1-11, 2014.

REN, Y.; ZHAO, H. Q.; JIANG, J.; GUO, S.; ZHANG, H.; HOU, W.; ZOU, X.; SUN, H.; GONG, G.; LEVI, A.; XU, Y. A high resolution genetic map anchoring scaffolds of the sequenced watermelon genome. **Plos one**, v. 7, n. 4, p. 1-10, 2012.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C. D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. 2. eds. Viçosa: UFV, 2013. 586 p.

VILELA, N. J.; AVILA, A. C. de.; VIEIRA, J. V. **Dinâmica do agronegócio brasileiro da melancia: produção, consumo e comercialização**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2006. (Circular técnica 42).

XIA, D., ZHOU, H., LIU, R., DAN, W., LI, P., WU, B. GL3.3, a novel QTL encoding a GSK3/SHAGGY-like kinase, epistatically interacts with GS3, to form extra-long grains in rice. **Molecular Plant**, v. 11, n. 1, p. 754–756, 2018.

ZHANG, G. F.; ZHANG, J. N. Inheritance of seed size from diverse crosses in watermelon. **Jiangsu Agricultural Sciences**, v, 39, n. 4, p. 216–217, 2011.

ZHOU, H. W.; LU, B. Y.; MA, H. Y.; GAO, P.; LUAN, F. S.; GAO, Q. F. QTL mapping of watermelon seed traits. **Acta Horticulturae International Society for Horticultural Science**, v. 43, n. 1, p. 715–723, 2016.

5.6 ANEXOS



Foto: Karina Branco

Figura 1. Coleta de amostras foliares em indivíduos das populações P₁, P₂, F₁ e F₂ de melancia para posterior extração de DNA genômico.



Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 2. Precipitação dos ácidos nucleicos durante a extração de DNA quando adicionado o álcool isoamílico gelado.

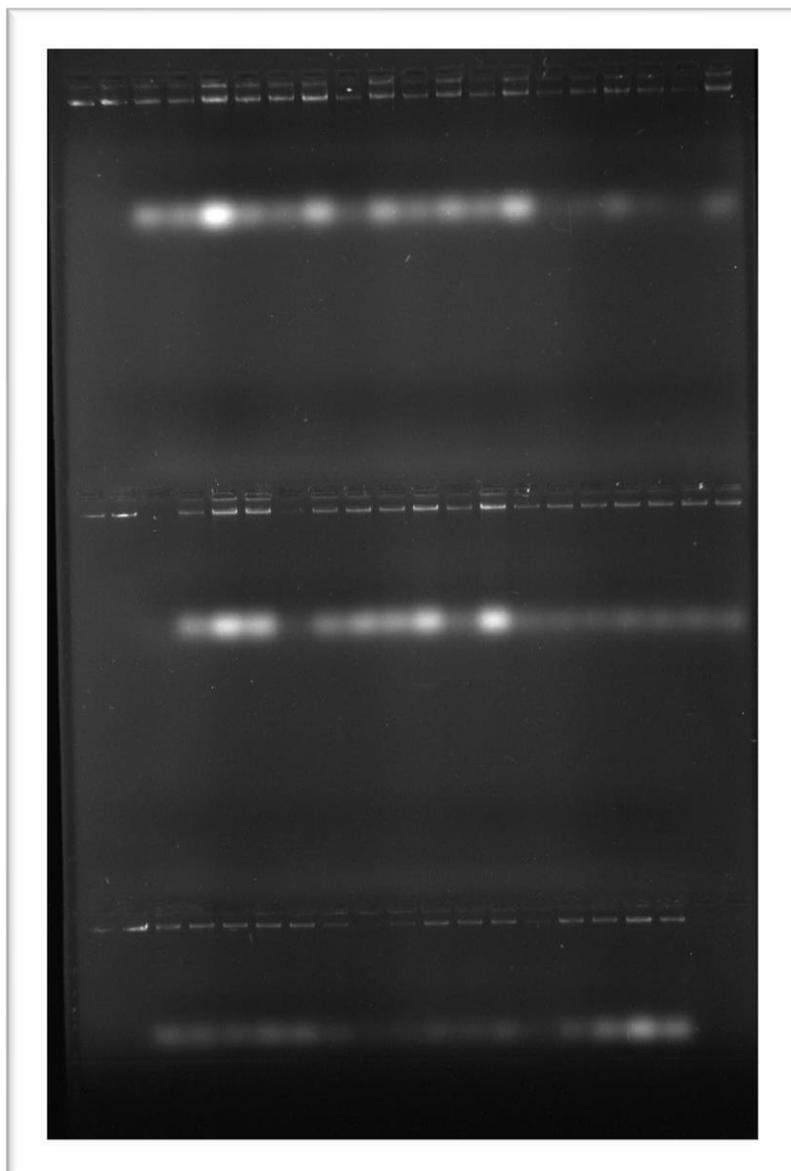


Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 3. Quantificação de DNA de indivíduos da população F_2 de melancia.

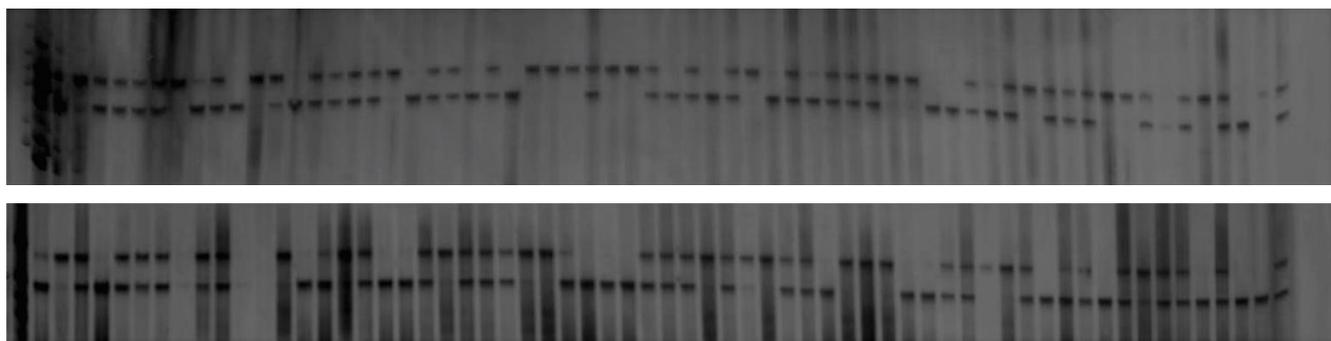


Foto: Tiago Lima do Nascimento

Figura 4. Genotipagem de indivíduos P_1 , P_2 , F_1 e 119 indivíduos da população F_2 de melancia utilizando o marcador MCP-12.

Anexo A. Lista dos 159 marcadores microssatélites que foram analisados no primeiro capítulo desta tese.

Nome	Sequência do primer (5'-3')
MCPI-03 a	GCATAAACACCTGTGAGTGG/ATGGCTTTGCGTTTCATTTTC
MCPI-04 a	AGCAAATGCATGGGGAAAAC/TGTTGAATGGAGGCTTTGAG
MCPI-05 a	ATTTCTGGCCCCAGTGTAAG/GAACAAACGCAACCACGTATG
MCPI-07 a	GGTTATGGCCATCTCTCTGC/GAGAGTGGGCGTAAGGTGAG
MCPI-09 a	TCAATTCCAATCATCCATCC/TAATGGCCGGACTTTATGC
MCPI-10 a	GATGATTTGTTTGTCTGATCTTTG/AAACCATCACTGAGAACAAAAGG
MCPI-11 a	GAGCAGGGGAGAAGGAAAAC/CCAGTAGCTTTTTCCGATGC
MCPI-12 a	GGAGTAGTGGTGGAGACATGG/TCCTTTCTCTTTTCGAAACTTC
MCPI-13 a	TTCCTGTTTCATGATTCTCCAC/TCAGAATGGAGCCATTAACTTG
MCPI-14 a	TCAAATCCAACCAAATATTGC/GAGAAGGAAACATCACCAACG
MCPI-15 a	GCAAAATGCAACTGTTTATCG/CCATTATGATTTCAATCAATCTCC
MCPI-16 a	TGCTCAATCCACCCTTTCTC/AAAAACAGCAACTCTCCCATC
MCPI-17 a	CAGAAATTTTGAATAACGCCAAC/TGACTGCATTAGGGTAGAAACG
MCPI-18 a	CCGAAGCAAGATGGTTTTTC/AAACCGATATGCCTGTCTGC
MCPI-20 a	GATCTCCTCAAAGCCTTACCG/CGGATCCGATAATCTGCTG
MCPI-21 a	AAAGTTTTTCATGCCAACGTATC/TCAGCCAATATGGTCAAATAGC
MCPI-23 a	CCACCGACTTGCTTTTTCTTC/TGTCACCATTTGAACCAAGG
MCPI-24 a	GAACTTTCAAATTTACAACAACAAAC/CAATTTAATCCCTTCCATGC
MCPI-25 a	TACCTCAGTCGACGCTGTTG/GATTTGTGTGGAACCCAAGC
MCPI-26 a	CAGAGGAACGAGAGGGAGTG/GGGGAGCCCATATTTTAACC
MCPI-27 a	GGGAAATTAGCCCTTTTGTG/AATGGATGGGATCGTGCTAC
MCPI-28 a	AATGTAAAGCAGTAAGCACATGG/ACACCGGAGAAGGTGAATTG
MCPI-29 a	CACAATCAAGGAAGGTTTCAGC/TGAGCAAGCCAACAGAAGTG
MCPI-30 a	GCTTTGAAGTTTGTTTAATTTTAGTCC/CGCCTCACGCTCTCTCTAAC
MCPI-31 a	TAACCGTCACCAACCCATTC/TCCAAAATTGGTCGGATTTG
MCPI-32 a	AAGGCTGCAGAGACCATGAC/AATGATGAAGAACGGGCAAG
MCPI-33 a	CGTCATTTGAGAGCATTGGA/TCCAATTTTGTTTAGTGACATAGAGTGC
MCPI-34 a	CCAAATTGGACCAGAACCAC/AAGCCGTCAGTCTCGGTTAG
MCPI-37 a	AATCTTCCCCATGCCAAAAC/GACTTCCAAACCCCTCCCTTC
MCPI-39 a	AGGCCCAAACCTAACTTGC/CTTTTGCCCTCGCTCTTTC
MCPI-40 a	AAAAATTTGAAAATTAGGTGAGGAG/TTTTGACTAGGTGTACACTACCTTTG
MCPI-41 a	AGGTGGTATGTCGCTCATCC/GTGGGAGATGTGTGAGCTTG
MCPI-42 a	TGCTTAAACCTCCGTTCTGG/ATTTTCTTCAGCTGCGTTCC
MCPI-44 a	ATTCAAAAACGCAAGGGTCAG/ATCAGGGGTACCACCTCCTC
MCPI-46 a	CAAACAAAACTTAGGAAGTAGATTG/TTAGCCATGAGGCGTGTACC
MCPI-47 a	TTGCCATTGAAATTTTGAGAAG/TCAAATTTTGTTCCTTGGAATG
C.I. 1-06 b	CACCTCCTCCAGTTGTCATTCG/AAGGTCAGCAAAGCGGCATAGG
C.I. 1-12 b	GCCTTTGAAAGAGAGTTGCTCG/GCGCGTCCCTTTTTACCA
C.I. 1-20 b	CGCGCGTGAGGACCCTATA/AGCAATTGATTGAGGCGGTTCT
C.I. 1-21 b	ACCCTCGCTGCTGTTATTCA/TGTCCCACCCAACATTTTCATT
C.I. 2-23 b	GAGGCGGAGGAGTTGAGAG/ACAAAACAACGAAACCCATAGC
C.I. 2-61 b	TTCTGCTCAGTTTCTTCTTAAT/CATCCTCAAAAAAAGGCTAAG
C.I. 2-40 b	CTTTTTCTTCTGATTTGACTGG/ACTGTTTATCCCGACTTCACTA
PEX5 c	GAATAATTGCATCTTTTGGC/AGAAGATTCGTACATGGAGC
ADPGPS c	ACCACAACACAACACAACAC/AAGCTTTGCATTTACTTCCA

Continua nas próximas páginas...

Anexo A. Continuação...

Nome	Sequência do primer (5'-3')
C.I. 1-21 b	ACCCTCGCTGCTGTTATTCA/TGTCCCACCCAACATTTTCATT
C.I. 2-23 b	GAGGCGGAGGAGTTGAGAG/ACAAAACAACGAAACCCATAGC
C.I. 2-61 b	TTCTGCTCAGTTTCTTCCCTAAT/CATCCTCAAAAAAAGGCTAAG
C.I. 2-40 b	CTTTTTCTTCTGATTTGACTGG/ACTGTTTATCCCGACTTCACTA
PEX5 c	GAATAATTGCATCTTTTGGC/AGAAGATTCGTACATGGAGC
ADPGPS c	ACCACAACACAACACAACAC/AAGCTTTGCATTTACTTCCA
SAT2 c	AGATTGACAACACATGCAGA/TTTTGCTCATCCTACGAGAT
SAT3 c	TGAGAGGAAAGGAACCATAA/GTCTCTTGCAAAGCTCAAAC
WM403 c	AAGACGACCGTCAATACAAC/GGAGGGAGAAAGTGTCTTTT
CYSTSIN c	ATTTTCTTGCTTCAAATGGA/ATAAGCAAAGCATCGAAAG
URF c	AGCAGCACCTTGTCTTGTAT/CACAGATCCCCTCAATCTT
MITODIXI c	ATCTGTCAAGATCACGAAGG/TGGGAAATAGGAAACGTAGA
WGA3H c	CGATAATCGACTTTCTCGAC/GCTTCTTAGCATCATCAACC
WSUS c	ATGAGTGAGAAAGCTTGGAA/AATACTCCAATTGATGACGG
EST0069 c	CCAAACCCTTCTCTTTCTTT/AAGGAGGTGAGTGAAGGTG
EST00680 c	CCTTATCTCAACTCTTTTTCGGA/AGGATTGGGCTTGATTGTTG
EST00675 c	CTTCCTTTCTCTTCATTCCC/TGAGGGAAAACGAGTTTAGA
EST00674 c	CTGCCTCTTGAATTCTCATC/AAATCCGATTAATGCGTTA
EST00667 c	ATTGACTCTGATTCTCCCG/GGAGGAAGATCAAAGAACC
EST00644 c	GAGAGAGAGAGAGAGAGTGTGC/GATAAGGAAGAGGGAGAGGA
EST00507 c	CTTGTTTTCTTTTTCGATGG/ATTAGATGGATGGTGTGACG
EST00612 c	ATGGAGATCCAACCTTTTGTG/ATAACCTGGAAAAAGCCGTA
BVWS01116 d	TGGCTTGAATTTTGGAAACC/GAGCTTCCACACCTGAATTTT
BVWI00072 d	CCCAATGTACTCTTGCATGG/CAAGCACTTGGGTCAAACA
BVWS00255 d	AGCATGAGAGTCCTCACCAAAGAC/TTAGAGAGGAGACCAAACCTTGCCA
BVWS02029 d	GTATGGGGGAAGAGGAGAGG/TTAGCTTCCAAACAGGCAGC
BVWI00349 d	ACACACACACACAACACTGCGA/CGACACATGCAAGCCACAATA
BVWS02248 d	GGATGGATTGAACACGATGGC/TGCGTTGGGGAACTTGCTTG
BVWS02388 d	CGACCTTCCCCCATTCTATT/CATGGAAGTCCACTGCATTAAA
BVWS01426 d	CATTTCTGCCATCAACACA/CCGACACAAAATCAACCACA
BVWS01767 d	GGAAATTTTGGGGCAATTTT/TTGCATCCCAAGACATATTCA
BVWS01965 d	AGAAGCTGAGCTGGTTTTGG/TTGCACATAAATCCACTCTATGC
BVWS02249 d	CCGAAGTGAAAGGAAAGGAT/AGTCAAAGAGGCTGAAACCC
BVWS00244 d	GCTACAAGAAAGCAGTTTGGATTTTTC/GCATGGATTGTATCAAACAAATGCT
BVWS01728 d	CGCTGCTACGTCTCTTACC/TGCCCAAGAATAATGACGAA
BVWS00911 d	GCGTTACCCAAATTTTCAGG/AAGAAGGAACACGTGGGTTG
BVWS02202 d	AATGAATTAATTTCTTCGAAAATG/TGTTGATAAATTATGGACCTTTTG
BVWS02416 d	AGGGCTGCCTAGTTCACAAA/TCCATAGTTAGGCAGAAAAGCA
BVWS01450 d	TGATCCTCCCTTATGCCAAC/AGAGCCTAGCACACGTCCAT
BVWS02428 d	TTGGATGGGGAACTGAAGAG/GGCATGAACTTCTTTCACCC
BVWS02366 d	TTTCTCCACACTTCTCTCTGGA/GAAAGGCATCAATGGAGGAA
BVWS00241 d	AAGAAACCTCCAGAACAGCTACCC/AGAGCAGGCACACAAACAATACAA
BVWS02335 d	ATCCAAATGCTTGTTCGGTC/TAACCTAGCCGGCATCTGACC
BVWS00339 d	TTGTTTCTTGGGAATCCTTTTTCT/TCACTCTTGTCTGGCCTTTAAGAGA
BVWS01067 d	CCTGATCTATTGCCTAGTGATAGAAG/TGGAAAACGAAAGTTGTCAAAA
BVWS01050 d	GAATTTGCTTCAGCCTTTGG/TTCATTTCTAGGTTGGTTTTAAGATT

Continua nas próximas páginas...

Anexo A. Continuação...

Nome	Sequência do primer (5'-3')
BVWS02384 d	TCCAAGTGGCTTGCTCTTTT/TCTCAACCTCAAATTCCGAGA
BVWS02424 d	ACAGCGTTACTGCCGTCTCT/TCCTCCTTCGTCTTCCTTCA
BVWS01562 d	GGAGATGGTCATGGAAGCAT/TGGCCACTCAACTTCACAAG
BVWS01358 d	CCCTATTGCCTATTTTTTCTCAA/AAATTTGTGCTCTTCGTGGG
BVWS00119 d	TCAATCAATGAAGAATTGGAGAGAAA/CATCCAATGACCATTTTTTAAACCA
BVWS01377 d	GACAAAATGGATCTACAATAGAAACGGCTTTTTAGGCACGAAACCA
BVWS02045 d	AGGAACGAGGCGAGTAGACA/CATTCTTCCTTCTTCCCG
BVWS01724 d	AAAGGTGCGTTTGGTAGTTGA/TTGAACGGTGGAAACAAAAG
BVWS01149 d	GGAGGCAACTGTTTCTGTGC/CGATTTTAAGCTATTGGTTTGG
BVWS02332 d	AACACTTGATTGCGGACACG/AAGCCAACAAATAAATGAGC
BVWS00991 d	TACATGCAGGCATGACCCTA/TTGAAAATGGATTTGATGTTGC
BVWS02430 d	TAAAATTGTGGGACGTGCTG/TTGGAAATGCCAAACGCT
BVWS00373 d	AAGTGCCACTCGAAGCAACATAAC/CGCCATTTTTCTTTTCTTCTCAA
BVWS02009 d	TGGAATCAGAAGATGGAGGG/GCCTTGACAGAGAGAACCAAG
BVWS00193 d	CAATGGTGCTCAATTCAACAAA/ATACAAAACGTCACTTCACCCAAA
BVWS02377 d	CTGAGGTTCAATCCCGCATA/CTCCAATCCCAAGTCCTTCA
BVWS01133 d	CATCCACCTCAAACCTTAGAAACA/TTCTATTCCCGTCATTTTCATTG
BVWS00567 d	GCGCTTCAAAAACCCTTAGA/TGCACGTATGTACGCAAAA
BVWS00959 d	GAGGATAAAAGCGCATTCAACA/TGCATGTATGTGGGCAATTT
BVWS00030 d	ATTCGCCGAGTACACTGAAAATC/GTGAAAATCCACGAAGCTAACCAC
BVWS01136 d	TTGGTCATCAAGGGGGTTAG/AAAACCTGCATTCTCAATTTTCG
BVWS00844 d	CCCAATGTGAGAGGTGGTTT/ATGGATTGTGATGGCTGTGA
BVWS02397 d	GCTTCCGTTGCTACTTCTGG/GCACGCCACAATTACTTCT
BVWI00294 d	CAGGAATCACCTGTTACCCA/CGAGAACTTATATTTACAACAACGATT
BVWS00288 d	TTGCCAACTTATCATGAAACAAAA/AGAAACAATACAAAACCCAACCCA
BVWS00592 d	AGCATGGATAAAGCATGGGA/GACCGATTGATGGCTTTTTG
BVWS02443 d	AAAGTTTTTCATGCCAACGTATC/TCAGCCAATATGGTCAAATAGC
BVWS02429 d	AAGGCAAGCCAAAGTCTCAA/ACACCCTGCAATTTCTGAGC
BVWS02449 d	AATGTTAAGCAGTAAGCACATGG/ACACCGGAGAAGGTGAATTG
SSRM495 e	CATTGCTTCGTGTTACTGGAGA/GAGATTTACCCACCGCAGAAT
SSRW1-115 e	CCTTTCTTCATATTCTTCTCAATCTC/CATGACCGCAACTTCACCTA
SSRW3-2 e	AGATGACCAAACCAAACCCA/CAACGTTATGGGGATGAAGG
SSRM545 e	CCCTTCATTTTCATCATCC/GAAGACGGCAAATTGAGCT
SSRW1-36 e	GGAGCATCGTCAGAAGACAA/TGTAATCGGTTGAGTAAACAGGA
SSRW3-4 e	ATCTCTACCGGAGGTGACCC/TGTAATCGGTTGAGTAAACAGGA
SSRW1-49 e	TTCCCGCATTGATTTTCTC/GAGAAACGCTTCCCACAAAC
SSRM1-174 e	TTCCACATGTCTCTGCCAAA/TCATGGCCTTTGTGTTTTGA
SSRW14 e	ACTTCTTACCCATCCCCCAT/CGACGATTTCTGTGCAGTGT
SSRM390 e	CTTTAGGTGTGAGATTGGTGG/GCACATCATTGGAGTAACTCG
SSRW1-49 e	TTCCCGCATTGATTTTCTC/GAGAAACGCTTCCCACAAAC
SSRW3-6 e	GGAGCATCGTCAGAAGACAA/TGTAATCGGTTGAGTAAACAGGA
SSRW17 e	GTGGATTATCGCAACGTCTGT/CAGGTCTACGAATGGGGAAA
SSRW3-8 e	CGAACTTCGAACAAGATAATGTG/ATGAAAAACCAAAAATGCGG
SSRW3-9 e	CGAACTTCGAACAAGATAATGTG/AAACTCCATATTTGCGCTGC
SSRW58 e	CTGCACACTGCCCTCTTCTT/GAGGGAGAAGCTTTGGGAGT
SSRW36 e	GGAGCATCGTCAGAAGACAA/TGTAATCGGTTGAGTAAACAGGA

Continuação na próxima página...

Anexo A. Continuação

Nome	Sequência do primer (5'-3')
SSRM638 e	TGCCTTCCCATATCAAAAACA/GGTCATTGTCAGGAAACAAAA
SSRW1-86 e	TTGCACAAGACAGCAACCTC/AAGGGGAGAGGACGAAGAGA
SSRW3-13 e	CATCCAACCCTTCCCTCTCT/CACATGCATCACCATCATCA
SSRM2-551 e	GTATTGGAATCCTCTTTCTCC/CCCATTGGAACAATTTTCTGC
SSRM183 e	GAAACCAAAAACGCCATTTT/TAACATCAAGCAGTTCGCCA
SSRW3-14 e	CTCATCCAACCCTTCCCTCT/CACATGCATCACCATCATCA
SSRM244 e	CACTCCCAAATCCTCTTCCA/GAAACATCCATCCATATCCAAAA
SSRM454 e	GGGGTGTGAAGCTGAAGGCAAAGTC/AAAGGAAGAAGAAGAAAAAGGAGAA
SSRM553 e	GGTATTATTTGCCCCACCT/CAAAAGGAAAAGATAGGCC
SSRW3-15 e	CATCCAACCCTTCCCTCTCT/ACGGCGTAGAAGAACGATTG
SSRM1-133 e	GTGGTAAGTTGGGAATGGGA/CCAAAAGGACTCAAAAAGCAAA
SSRM1-134 e	GGAATGGGATTTGTTTCCAA/CCAAAAGGACTCAAAAAGCAAA
SSRM457 e	ACGGATACATCGAGGAGACTTCATG/GTCAGCTTCAACCCTTACTTTTTC
SSRW1-27 e	ATCCGACGACCCATTAACAA/CAGATTTCCGAGAGGGAAAA
SSRW1-28 e	GGCCTTCTTCTTCTTCTTCTTTC/AGCAGAAAAAGGGGGTTGTT
SSRW1-118 e	GAATCATGCACCGATGACAC/GCCAAACAAGTCTCCAAAA
SSRW3-17 e	CGAACTTTCCTCCAGCAATC/GTCTACTAGGGAAACGGCGA
SSRM1-521 e	TCCTTTCCGGTTTGTGCTAAT/GGACCAAACATGGTTGAAAAG
SSRW3-20 e	CTTACCCTCTGCCCAATTT/GTAGGAATCAGTGGGGTCCA
SSRM1-306 e	GAAGCTCATGGGATGAAGGA/TCCATGGATGAGGATACACAA
SSRM309 e	AGAGAGGGAAATGGGATCGAG/TTTGGTGGACTTAGTCTACTAGGA
SSRW3-22 e	TGGAGCCTAAAAGATGTTGGA/ATGTGACCACCTAGGGCTTG
SSRW28 e	GGCCTTCTTCTTCTTCTTCTTTC/AGCAGAAAAAGGGGGTTGTT
SSRW1-241 e	CAATGGACATTCATATTCAGGC/GAAATTCCAGATTCCCGAT
SSRW22 e	TATACTCGCCACCCAACCTC/TCTTCTACGGGCATTGGAAC
SSRW3-23 e	TGGAGCCTAAAAGATGTTGGA/CATGTGACCACCTAGGGCTT

^a Primers desenvolvidos por Joobeur et al. (2006); ^b Primers desenvolvidos por Jarret et al. (1996); ^c Primers desenvolvidos por Guerra-Sáns (2002); ^d Primers desenvolvidos por Ren et al. (2012); ^e Primers desenvolvidos por Cheng et al. (2016).

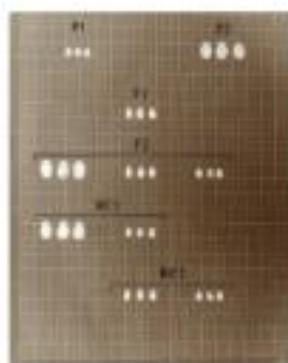
6. APÊNDICES

APÊNDICE – Artigo publicado na Revista Colombiana de Ciências Hortícolas.

Doi: <https://doi.org/10.17384/revh.2020v14i1.10521>

Inheritance of seed size in watermelon populations

Herencia del tamaño de la semilla en poblaciones de sandía



TIAGO LIMA DO NASCIMENTO^{1,*}
FLÁVIO DE FRANÇA SOUZA¹
RITA DE CÁSSIA SOUZA DIAS²
JOICE SIMONE DOS SANTOS³
NATONIEL FRANKLIN DE MELO⁴

Seed phenotype in the studied populations.
Photo: T.L. Nascimento

ABSTRACT

Seed size is an important agronomic trait and is applicable to different abilities. Small seeds guarantee the greater use of the pulp, while larger seeds facilitate sowing. However, there is little work on the genetic control of this characteristic in watermelon. The objective of this work was to study the seed size inheritance in watermelon populations by crossing contrasting genotypes, seeking to gain information to provide technical support during the selection of seed size for the development of new watermelon genotypes. The seed lengths of six populations, P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁ and BC₂, were measured using the GENES software segregating and nonsegregating generations procedure. This trait is controlled by two genes with incomplete dominance. In addition, depending on the populations studied, inheritance for the characteristic in question may behave differently. Nevertheless, the selection of superior individuals within populations can be performed based on this phenotype, which allows the exploitation of these individuals within breeding programs to develop lines or hybrids.

Additional key words: *Citrus lanatus*; seed characteristics; crop improvement; selection; incomplete dominance.



¹ Feira de Santana State University, Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia, CAPES Scholarship Student in Plant Genetic Resources, Department of Biological Sciences, Feira de Santa (Brazil). ORCID Nascimento, T.L.: 0000-0002-0916-6544

² Embrapa, Brazilian Semi-arid Agricultural Research Corporation, Genetics and Plant Breeding, Petrolina (Brazil). ORCID Souza, F.F.: 0000-0002-9632-2666; ORCID Dias, R.C.S.: 0000-0002-5527-9693; Melo, N.E.: 0000-0001-6889-4090

³ Federal Institute of Education, Science and Technology of Ceará, Crato (Brazil). ORCID Santos, J.S.: 0000-0003-3597-2021

* Corresponding author. tiago_lim.a@hotmail.com





RESUMEN

El tamaño de las semillas es un rasgo agronómico importante, pudiendo utilizarse para diferentes habilidades. Mientras que las semillas pequeñas garantizan un mayor aprovechamiento de la pulpa, semillas más grandes facilitan la siembra, sin embargo, existen pocos trabajos sobre el control genético de este carácter en la sandía. El objetivo de este trabajo fue estudiar la herencia del tamaño de las semillas en poblaciones de sandía cruzando genotipos contrastantes, buscando proporcionar soporte técnico durante la selección del tamaño de la semilla en el desarrollo de nuevos genotipos de este fruto. Fue medida la longitud de la semilla de seis poblaciones P1, F2, F1, F2, RC₁ y RC₂, utilizando el procedimiento generaciones segregantes y no segregantes (GENES), por medio del cual fue posible concluir que la herencia del tamaño de semillas en las poblaciones estudiadas es controlada por dos genes con dominancia incompleta. Además, dependiendo de las poblaciones estudiadas la herencia del carácter en cuestión puede comportarse de manera diferente. La selección de individuos superiores dentro de las poblaciones puede ser realizada con base en el fenotipo, lo que posibilita la exploración de estos individuos dentro de los programas de mejoramiento para componer líneas o híbridos.

Palabras clave adicionales: *Citrullus lanatus*; características de la semilla; mejoramiento de cultivos; selección; codominancia incompleta.

Received for publication: 20-01-2020 Accepted for publication: 30-03-2020



INTRODUCTION

Watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai] is one of the highest yielding fruit crops in Brazil, and according to the 2016 world ranking, the country was ranked as the 4th largest watermelon producer, with 2,090,432 t of fruit, second only to China (79,043,138 t), Turkey (3,928,892 t) and Iran (3,813,850 t) (Fao, 2018). The development of new genotypes with commercial attributes different from those already on the market, such as the size of the seeds, can make the production of Brazilian watermelon more expressive. Moreover, the consumer market has increasingly been demanding nutritious and healthy fruits (Farias *et al.*, 2014).

For fresh consumption, the smaller the seed size, the easier it becomes to consume the fruit, while for the production of fruit and sowing in the field, the larger the seed size is, the greater the production and the easier the planting. Thus, understanding the genetic control of traits is important for the development of genotypes aimed at having the most diverse characteristics (Li *et al.*, 2018). However, it is worth mentioning that information about the genetic behavior of watermelon characteristics is scarce. Among these reports, those studying the size of the seeds, besides

being rare, are quite old, which characterizes it as being one of the main obstacles for breeders.

In previous studies, Poole *et al.* (1941), cited by Li *et al.* (2018), described that the genetic control of seed size was controlled by two genes, 's' and 'T', with 's' being epistatic to 'T'. A few years later, the 'Ti' genes for tiny seeds and 'ti' genes for tomato seeds were described (Tanaka *et al.*, 1995; Li *et al.*, 2018). According to Yong *et al.* (2009), watermelon seed size can be classified as giant, large, medium, small, micro and tiny. In addition to seed size, inheritance studies of other characteristics in watermelon have been reported, including fruit yield (Kumar and Wöhner, 2013), seed mass (Adjouman *et al.*, 2016), resistance to the PRSV-W virus (Alves *et al.*, 2014), and egusi seed (Gusmini *et al.*, 2004). This suggests that before performing a characteristic improvement, it is necessary to understand the genetic control mechanisms within the populations of interest.

Thus, the objective of the present work was to study the inheritance of seed size characteristics in watermelon populations through crossing of contrasting genotypes.



MATERIALS AND METHODS

Obtaining the populations

The experiment was conducted from 2017 to 2018 at the Bebedouro Experimental Station at Embrapa Semiárido in Petrolina-PE (Brazil). Two watermelon lines, with contrasting seed size, were used line 31715.001 ("P₁") (small seed) and lineage 31717.005 ("P₂") (large seed), to obtain F₂, F₃, BC₁, and BC₂ populations.

As such, crosses were carried out via controlled hand-pollination (CHP) according to the methods used by Nascimento *et al.* (2018). Regarding the CHP, in the flowering stage, male and female flowers of the lineages and the F₁ hybrids were isolated at preanthesis using aluminum sachet bags. On the following day, the open male flowers were detached from the plants, their petals were removed to expose their anthers, and then pollen grains were gently deposited on the stigmas of the female flowers. After this procedure, the pollinated flowers were identified with cardboard tags containing information on the parental crossings, plant type, and CHP date. Afterward, the flowers were isolated again for a period of 72 h. Between 30 and 35 d after pollination, the fruits were harvested, and their seeds were extracted, washed and left to dry in the shade.

To obtain the F₁ population, between January and April 2017, seeds were sown in polystyrene trays containing proper commercial substrate and then kept in a greenhouse for 12 d. After that period, the seedlings were transplanted to the field.

In the following generation, five seeds from the parents (P₁ and P₂) and from the F₁ population were sown during the months of May to August 2017, and using CHP, the F₁ plants were self-fertilized and simultaneously crossed with the parents, P₁ and P₂, which produced the seeds of F₂, BC₁, and BC₂ populations. All populations obtained were then evaluated in the field, from May to August 2018, under open pollination.

Fertilization was carried out according to a soil analysis and as recommended by Mendes *et al.* (2010), with 30 kg ha⁻¹ of N, 80 kg ha⁻¹ of P₂O₅, and 30 kg ha⁻¹ of K₂O, plus 15 kg ha⁻¹ of ZnSO₄ and 10 kg ha⁻¹ of CuSO₄. Fertilizers were top-dressed with irrigation water containing 50 kg ha⁻¹ of N in the form of Ca

(NO₂)₂ and 40 kg ha⁻¹ of K₂O using KCl, between 50 to 60 d after sowing.

The water was applied by drip irrigation at a daily depth that varied according to the plants' needs depending on climatic conditions, monitored by a weather station located near the experimental area. The crop coefficients (K_c values) used to calculate crop evapotranspiration (ET_c) were those obtained by Freitas and Bezerra (2004) in Canindé, CE, Brazil, for Crimson Sweet watermelon, whose corresponding values were 0.46 to 0.70 at the vegetative stage, 0.89 to 1.22 at the flowering stage, and 1.14 to 0.74 at the fruiting stage.

Phytosanitary treatments were carried out with agrochemicals registered by the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply, and weeds were removed manually.

Phenotypes of seed size in watermelon populations

During the months of April to August 2018, seeds from all the populations were germinated in expanded polystyrene trays containing commercial substrate for vegetables. At 12 d after sowing, the seedlings were transplanted into the field at the Bebedouro Experimental Station in accordance with a completely randomized design, with each plant considered an experimental unit and with a varied number for each population, in soil previously prepared with gray plastic mulching sheets, with 1 m spacing between plants and 2.5 m between rows. After transplanting, the seedlings were covered with an agrotexile blanket until the flowering period, at which point it was removed for pollination. The seeds of each population came from a single fruit.

At 70 d after planting, fruits were harvested. The seeds were subsequently extracted, washed and left to dry in the shade. Eight, 10, 7, 271, 95 and 94 plants from the P₁, P₂, F₂, F₃, BC₁, and BC₂ populations, respectively, were evaluated.

To investigate seed size inheritance, seed length was measured, as this characteristic is highly correlated with width and weight (Hawkins and Dane, 2001). The lengths of 10 seeds were measured with a digital caliper (Stainless Hardened: JLYB6474) following the method used by Nascimento *et al.* (2018), with seeds randomly chosen from one fruit of each plant.



The mean and variance [P_1 ($\sigma_{P_1}^2 = \sigma_{aP_1}^2 + \sigma_d^2$), P_2 ($\sigma_{P_2}^2 = \sigma_{aP_2}^2 + \sigma_d^2$), F_1 ($\sigma_{F_1}^2 = \sigma_{aF_1}^2 + \sigma_d^2$), F_2 ($\sigma_{F_2}^2 = \sigma_{aF_2}^2 + \sigma_{iF_2}^2$), BC_1 ($\sigma_{BC_1}^2 = \sigma_{aBC_1}^2 + \sigma_{iBC_1}^2$) and BC_2 ($\sigma_{BC_2}^2 = \sigma_{aBC_2}^2 + \sigma_{iBC_2}^2$)] of the populations were then estimated.

The mean degree of dominance (MDD) of the characteristic was estimated based on the variances and in accordance with the model $MDD = 2P_1 - (P_1 + P_2)/P_1 - P_2$. Broad-sense (h_b^2) (1) and narrow-sense (h_n^2) (2) heritability were estimated as follows:

$$h_b^2 = \frac{\sigma_{P_1}^2}{\sigma_{P_1}^2} = \frac{\sigma_{aP_1}^2 + \sigma_d^2 + \sigma_{iP_1}^2}{\sigma_{P_1}^2} \quad (1)$$

$$h_n^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_{P_1}^2} = \frac{2\sigma_{aP_1}^2 + \sigma_{aP_2}^2 + \sigma_{aF_1}^2}{\sigma_{P_1}^2} \quad (2)$$

Additionally, the values of k_1 (based on variance) and k_2 (based on the mean) were estimated, where $k = 0$ indicates the absence of dominance ($k=0$ =additive), $0 \leq k \leq 1$ indicates incomplete dominance, $k > 1$ indicates over dominance, and $k=1$ indicates complete dominance.

Additionally, the minimum number of genes (MNG) controlling the characteristic was estimated by the formula $n = (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)^2 / 8 [\sigma_{P_1}^2]$. In terms of computer resources, the "segregating and non-segregating generations" procedure of the GENES software program was used (Cruz, 2016).

Afterward, the characteristic mean was subjected to the chi-square (χ^2) test at a 0.05 significance level for verification of the mendelian pattern within the F_2 population according to the following model (3):

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} \right] \quad (3)$$

where χ^2 is the chi-square value calculated and O_i and E_i are the observed and expected frequencies of

the i -th phenotypic class ($i = 1, 2, \dots, n$), respectively (Schuster and Cruz, 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

The mean, variance and standard deviation of the seed length of the parents of the segregating populations (Tab. 1) were different, which indicated the existence of genetic variability between them.

The results are in line with the assumption of Cruz *et al.* (2014), who stated that better precision in genetic analyses requires parents whose studied characteristics contrast. According to those authors, genetic parameter estimates allow the identification of the nature of the action of the genes involved in characteristic control. Thus, estimates can be used as an advantageous auxiliary tool in breeding program management.

The variance expressed by the parents and the hybrids showed low values, while the F_2 and BC_2 populations presented high values. Similar results were reported by Souza *et al.* (2006), who, when studying seed size inheritance in watermelon generations, observed high values of variance in the F_2 and BC_2 populations. The high values in both studies possibly occurred because gene segregation within these populations is higher than in the other populations.

Although watermelon is an allogamous species, the low values of variance in the P_1 , F_1 and F_2 populations of the present study are due to environmental factors, since the parents used to develop the segregating populations were generated by seven cycles of self-fertilization. Thus, each of the plants of these generations is considered to correspond to the same genotype. However, expecting higher values of the

Table 1. Number of plants, means, variance and standard deviations of seed size, as evaluated for six watermelon populations.

Generation (seed size) ¹	Number of individuals	Mean	Variance	Standard deviation
P_1 (small)	8	5.90	0.0285	0.17
P_2 (largest)	10	11.63	0.0934	0.31
F_1 (medium)	7	6.89	0.0214	0.15
F_2 (¼ small, ½ medium and ¼ largest)	271	7.71	5.4044	2.32
BC_1 (½ small and ½ medium)	95	6.24	0.2474	0.50
BC_2 (½ medium and ½ largest)	94	9.68	5.4711	2.34

¹ Seed size in populations.



The mean and variance [P_1 ($\sigma_{P_1}^2 = \sigma_{a(P_1)}^2 + \sigma_{d(P_1)}^2$), P_2 ($\sigma_{P_2}^2 = \sigma_{a(P_2)}^2 + \sigma_{d(P_2)}^2$), F_1 ($\sigma_{F_1}^2 = \sigma_{a(F_1)}^2 + \sigma_{d(F_1)}^2$), F_2 ($\sigma_{F_2}^2 = \sigma_{a(F_2)}^2 + \sigma_{d(F_2)}^2$), BC_1 ($\sigma_{BC_1}^2 = \sigma_{a(BC_1)}^2 + \sigma_{d(BC_1)}^2$) and BC_2 ($\sigma_{BC_2}^2 = \sigma_{a(BC_2)}^2 + \sigma_{d(BC_2)}^2$)] of the populations were then estimated.

The mean degree of dominance (MDD) of the characteristic was estimated based on the variances and in accordance with the model $MDD = 2P_1 - (P_1 + P_2)/P_1 - P_2$. Broad-sense (h_b^2) (1) and narrow-sense (h_n^2) (2) heritability were estimated as follows:

$$h_b^2 = \frac{\sigma_{a(P_1)}^2}{\sigma_{P_1}^2} = \frac{2\sigma_{a(P_1)}^2 - (\sigma_{d(P_1)}^2 + \sigma_{d(P_2)}^2)}{\sigma_{P_1}^2} \quad (1)$$

$$h_n^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_{P_1}^2} = \frac{2\sigma_{a(P_1)}^2 - (\sigma_{d(P_1)}^2 + \sigma_{d(P_2)}^2)}{4\sigma_{P_1}^2} \quad (2)$$

Additionally, the values of k_1 (based on variance) and k_2 (based on the mean) were estimated, where $k = 0$ indicates the absence of dominance ($k=0$ =additive), $0 \leq k \leq 1$ indicates incomplete dominance, $k > 1$ indicates over dominance, and $k=1$ indicates complete dominance.

Additionally, the minimum number of genes (MNG) controlling the characteristic was estimated by the formula $n = (P_1 + P_2)^2 / 8 [\sigma_{P_1}^2]$. In terms of computer resources, the "segregating and non-segregating generations" procedure of the GENES software program was used (Cruz, 2016).

Afterward, the characteristic mean was subjected to the chi-square (χ^2) test at a 0.05 significance level for verification of the mendelian pattern within the F_2 population according to the following model (3):

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(Obs_i - Exp_i)^2}{Exp_i} \quad (3)$$

where χ^2 is the chi-square value calculated and Obs_i and Exp_i are the observed and expected frequencies of

the i -th phenotypic class ($i = 1, 2, \dots, n$), respectively (Schuster and Cruz, 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

The mean, variance and standard deviation of the seed length of the parents of the segregating populations (Tab. 1) were different, which indicated the existence of genetic variability between them.

The results are in line with the assumption of Cruz *et al.* (2014), who stated that better precision in genetic analyses requires parents whose studied characteristics contrast. According to those authors, genetic parameter estimates allow the identification of the nature of the action of the genes involved in characteristic control. Thus, estimates can be used as an advantageous auxiliary tool in breeding program management.

The variance expressed by the parents and the hybrids showed low values, while the F_2 and RC_2 populations presented high values. Similar results were reported by Souza *et al.* (2006), who, when studying seed size inheritance in watermelon generations, observed high values of variance in the F_2 and BC_2 populations. The high values in both studies possibly occurred because gene segregation within these populations is higher than in the other populations.

Although watermelon is an allogamous species, the low values of variance in the P_1 , P_2 and F_1 populations of the present study are due to environmental factors, since the parents used to develop the segregating populations were generated by seven cycles of self-fertilization. Thus, each of the plants of these generations is considered to correspond to the same genotype. However, expecting higher values of the

Table 1. Number of plants, means, variance and standard deviations of seed size, as evaluated for six watermelon populations.

Generation (seed size) ¹	Number of individuals	Mean	Variance	Standard deviation
P_1 (small)	8	5.90	0.0285	0.17
P_2 (largest)	10	11.63	0.0934	0.31
F_1 (medium)	7	6.89	0.0214	0.15
F_2 (¼ small, ½ medium and ¼ largest)	271	7.71	5.4044	2.32
BC_1 (½ small and ½ medium)	95	6.24	0.2474	0.50
BC_2 (½ medium and ½ largest)	94	9.68	5.4711	2.34

¹ Seed size in populations.



the smallest seed mass was monogenic and dominant over the largest seed mass (Weetman, 1937).

Similar results were observed in the present study for seed size, where the smallest size, although not in accordance with the expected 3:1 ratio, was quite close to a ratio of 1:2:1, thus suggesting that the characteristic is controlled by two genes.

In addition, the seed size characteristic showed high broad-sense and narrow-sense heritability (Tab. 2). Similar results were observed by Amburani (2018), who, when studying the heritability of morphoagronomic traits in 30 watermelon genotypes, obtained heritability estimates of more than 80% for seven of the 13 traits evaluated, including 100-seed weight and number of seeds per fruit. According to Cruz *et al.* (2014), narrow-sense heritability represents the variance of the additive type fixed in the populations as a result of the advancement of generations. Based on this information, the correlation between phenotypic values and genetic values is considered high for the characteristic in question, and it is possible to select individuals with relatively small seed sizes based on their phenotype.

To infer the mean degree of dominance and determine the best strategy to improve various characteristics, the values of k_1 (0.33) and k_2 (0.66) (Tab. 2) were calculated and showed mutual agreement, indicating the existence of incomplete dominance for seed size in the studied populations. Adjoumani *et al.* (2016), when studying the genetics of seed traits resulting from the intraspecific crossing of distinct watermelon varieties, obtained the same results. In both studies, these results reinforce the efficiency of genotype selection of individuals of interest based on the phenotype.

The minimum value for the number of genes involved in the control of the studied characteristic was 1.83 (Tab. 2). This information is important for estimating the type of inheritance that controls a given characteristic (Lobo *et al.*, 2005). In the present study, seed size is controlled by two genes, indicating that simpler breeding methods, such as mass selection, can be used to obtain small-seed-size cultivars.

When we performed the chi-square test on the populations (Tab. 3), there were no significant differences between populations for observed and expected frequencies associated with phenotypic segregation of the BC₁ population, in which all individuals should present the same seed size. However, it was observed that the seeds of the individuals were divided into small and medium sizes, confirming the hypothesis by which two genes control the characteristic under incomplete dominance.

Similarly, Foole *et al.* (1941), cited by Prothro *et al.* (2012) studied seed length inheritance by evaluating crosses between plants that produce small and large, small and medium, and medium and large seeds and proposed that this characteristic is controlled by two genes because medium-size seeds were dominant over small- and large-size seeds. These authors proposed that the recessive l and s genes afforded large- and small-seed phenotypes, respectively. In addition, among the evaluated genotypes, the s gene was epistatic for l , and $LL\ SS$ was assigned to medium-size seeds; $ll\ SS$, large-size seeds; and $LL\ ss$ or $ll\ ss$, small-size seeds.

On the other hand, Tanaka *et al.* (1995) proposed that, in a Sweet Princess watermelon population, tiny seed size was monogenic, controlled by the T gene and dominant over medium seed size; thus, the

Table 3. Chi-square test results of the watermelon populations to investigate the segregation of two loci based on the 1:2:1 ratio.

Generation	Observed			Expected			χ^2	DF	P
	Small	Medium	Large	Small	Medium	Large			
P ₁	0	0	0	0.0	0	0	-	-	-
P ₂	0	0	10	0	0	10.0	-	-	-
F ₁	0	7	0	0	7.0	0	-	-	-
F ₂	64	130	49	67.5	135	67.5	5.62*	2	0.05
BC ₁	45	60	0	47.5	47.5	0	0.263*	1	0.05

* not significant at the 0.05 significance level (P) by the chi-square test; (DF): degree of freedom.

tiny seed size characteristic was possibly governed by simple inheritance.

The differences observed in the results of the present study possibly show that, for the characteristic in question and depending on the cultivars involved in the crosses, inheritance may behave differently with respect to the populations under study, so it is not possible to extrapolate these results to other populations. Furthermore, the method adopted here for seed size measurement was quantitative, expressed in millimeters, while the study by Polle *et al.* (1941) categorized seed size into classes; that is, they performed a qualitative assessment, disregarding minimal size differences and limiting the population.

The results obtained by means of the predicted gain from selection (Tab. 4) reinforce that, for the improvement of the characteristic under study, the use of simpler breeding methods can be effective, since the gain from the selection was 59% for relatively large seeds and a decrease of just under 30% for relatively small ones. In other words, it is possible to select and recombine individuals that produce large seeds and small seeds, seeking to develop hybrid combinations that produce seeds of intermediate size; this is in addition to the possibility of exploiting these individuals to develop new cultivars for different purposes.

Table 4. Predicted gain from selection for seed size in a watermelon F_2 population obtained by crossing contrasting varieties.

Parameter	Selection	
	Highest values	Lowest values
MG	12.677	6.236
S	4.870	-2.432
GS (%)	66.516	-25.805
PM 1°S	12.294	6.425

MG: mean of selected individuals; S: selection differential; GS (%): gain from selection (in percentage); and PM 1°S: predicted mean for a selection cycle.

CONCLUSIONS

In the present work, inheritance of the smallest seed size trait in the studied populations is controlled by two genes with incomplete dominance;

Depending on the population under study, the inheritance behavior for the seed size characteristic may behave differently.

Selection of superior individuals for the smallest seed size within an F_2 population can occur based on phenotype;

Increased numbers of individuals can be exploited within breeding programs to develop lines or hybrids.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the granting. The author is grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB - Bahia Research Foundation) for the doctoral scholarship granted; to Embrapa Semárido (a unit of the Brazilian Agricultural Research Corporation) for the partnership and the infrastructure made available; to the Graduate Program in Plant Genetic Resources (PGGRGV) of the State University of Feira de Santana for support in the courses; and to the Embrapa Semárido trainees and the Biological Sciences undergraduates at the University of Pernambuco (UPE), Karina Branco, Jackson, Ingrid Caroline, Débora Eduarda and André Genjo for their help in the experiment evaluations.

Conflict of interests: The manuscript was prepared and reviewed with the participation of the authors, who declare that there exists no conflict of interest that puts at risk the validity of the presented results.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Adjoumani, K., S.B. Bony, G.K. Koffi, L.C. Koussou, F.K. Brou, and R. Sié. 2016. Genetic evaluation of seed traits from intraspecific crossing of genetically distinct watermelon varieties. *Afr. Crop Sci. J.* 24(2): 143-154. Doi: 10.4314/acsj.v24i2.3
- Alves, A.E., I.R. Nascimento, C.A. Ticona-Benavente, M.V. Faria, B.A. Sarmiento, A.R. Figueira, and W.R. Maluf. 2014. Herança da resistência do acesso de melancia PI 595201 a isolado de FRSVW do Estado do Tocantins. *Bragantia* 73(2): 138-142. Doi: 10.1590/brag.2014.022
- Amburani, A. 2016. Studies on genetic variability and genetic advance for yield parameters in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.). *Asian J. Hortic.* 13(2): 39-44. Doi: 10.15790/HAS/TAJH/13.2/39-44
- Cruz, C.D. 2016. Genes Software - extended and integrated with the R, Matlab and Seligen. *Acta Sci.-Agron.* 38(4): 547-552. Doi: 10.4013/actaaciagn.v38i4.52629
- Cruz C.D., P.C.S. Carneiro, and A.J. Regazzi. 2014. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4th ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil.



- IAO. 2019. FAOSTAT - Production crops. In: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/OC>; consulted: June, 2019.
- Farias, R.M., C.F. Barreto, R.R. Zandoná, J.P. Rosado, and C.R. Martins. 2014. Comportamento do consumidor de frutas na região da fronteira Oeste do Rio Grande do Sul com Argentina e Uruguai. *Rev. Bras. Frutic.* 36(4), 872-883. Doi: 10.1590/0100-2945-417/13
- Freitas, A.A. and E.M.L. Bezerra. 2004. Coeficientes de cultivo para melancia nas suas fases fenológicas. *Rev. Ciênc. Agron.* 35(2), 319-325.
- Guner, N. and T.C. Wehner. 2004. The genes of watermelon. *HortScience* 39(6), 1175-1182. Doi: 10.21273/HORTSCI.39.6.1175
- Guzmán, G., T.C. Wehner, and R.L. Jarret. 2004. Inheritance of Egusi seed type in watermelon. *J. Hered.* 95(3), 268-270. Doi: 10.1093/jhered/esh031
- Hawkins, L.E. and E. Dane. 2001. Molecular markers associated with morphological traits in watermelon. *HortScience* 36(7), 1318-1322. Doi: 10.21273/HORTSCI.36.7.1318
- Kumar, R. and T.C. Wehner. 2013. Quantitative analysis of generations for inheritance of fruit yield in watermelon. *HortScience* 48(7), 844-847. Doi: 10.21273/HORTSCI.48.7.844
- Li, N., J. Shang, J. Wang, D. Zhou, N. Li, and S. Ma. 2018. Fine mapping and discovery of candidate genes for seed size in watermelon by genome survey sequencing. *Sci. Rep.* 8(17843), 1-11. Doi: 10.1038/s41598-018-36104-w
- Lobo, V.L.S., L.B. Glodano, and C.A. Lopes. 2008. Herança da resistência à mancha bacteriana em tomate. *Fitopatol. Bras.* 30(4), 343-349. Doi: 10.1590/S0100-41582005000400002
- Mendes, A.M.S., C.M.B. Faria, and D.J. Silva. 2010. Aducação. In: Dias, R.C.S., G.M. Resende, and N.D. Costa (eds.). Sistema de produção de melancia. In: *Embrapa Semáforo*, <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/aduacao.htm>; consulted: April, 2019.
- Nascimento, T.L. 2017. Divergência genética, capacidade de combinação e heterose em melancia. PhD thesis. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil.
- Nascimento, T.L., F.F. Souza, R.C.S. Dias, and E.F. Silva. 2018. Agronomic characterization and heterosis in watermelon genotypes. *Pesqui. Agropecu. Trop.* 48(2), 170-177. Doi: 10.1590/1983-40632018v48n21779
- Pool, C.E., R.C. Gimball, and D.R. Porter. 1941. Inheritance of seed characters in watermelon. *J. Agric. Res.* 63(3), 433-456.
- Prothro, J., K. Sandlin, and H. Adel-Haleem. 2013. Main and epistatic quantitative trait loci associated with seed size in watermelon. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 137(6), 432-437. Doi: 10.21273/JASHS.137.6.432
- Schuster, I. and C.D. Cruz. 2013. Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados. 2nd ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil.
- Souza, F.F., E.B.A. Souza, A.C. Silva, L.R.S. Neves, R.C.S. Dias, and M.A. Queiroz. 2006. Estudo de herança do tamanho da semente em melancia. pp. 1613-1616. In: *Proc. 46 Congresso Brasileiro de Olericultura, Associação Brasileira de Horticultura (ABH)*, Goiânia, Brazil.
- Tanaka, T., S. Wimal, and T. Mizutani. 1995. Inheritance of fruit shape and seed size of watermelon. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 63(3), 543-548. Doi: 10.2503/jjsha.64.543
- Weetman, L.M. 1937. Inheritance and correlation of shape, size, and color in the watermelon, *Citrullus vulgaris* Schrad. *Res. Bull. Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station* 20(228), 222-236.
- Yong-Jae, K., Y. The-Jin, E. Young-Hoon, L. Yong-Jik, K. Sun-Cheol, K. Yong-Kwon, and C. Jeoung-Lai. 2009. Development of near isogenic lines with various seed sizes and study on seed size-related characteristics in watermelon. *Korean J. Breed. Sci.* 41(4), 403-411.
- Zewdie, Y. and E. Bosland. 2000. Capsaicinoid inheritance in an interspecific hybridization of *Capsicum annuum* 9 C. chinense. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 125(4), 448-453. Doi: 10.21273/JASHS.125.4.448