



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓSGRADUAÇÃO EM RECURSOS**  
**GENÉTICOS VEGETAIS**



**CLISNEIDE COELHO DE AMORIM**

**CARACTERIZAÇÃO EM ACESSOS DE MELÃO DO BANCO ATIVO  
DE GERMOPLASMA DE CUCURBITÁCEAS PARA O NORDESTE  
BRASILEIRO**

FEIRA DE SANTANA - BA

2016

**CLISNEIDE COELHO DE AMORIM**

**CARACTERIZAÇÃO EM ACESSOS DE MELÃO DO BANCO  
ATIVO DE GERMOPLASMA DE CUCURBITÁCEAS PARA O  
NORDESTE BRASILEIRO**

FEIRA DE SANTANA - BA

2016

**CLISNEIDE COELHO DE AMORIM**

**CARACTERIZAÇÃO EM ACESSOS DE MELÃO DO BANCO  
ATIVO DE GERMOPLASMA DE CUCURBITÁCEAS PARA O  
NORDESTE BRASILEIRO**

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

Orientador: Prof<sup>o</sup>. PhD. Manoel Abilio de Queiróz

FEIRA DE SANTANA – BA

2016

## Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

Amorim, Clisneide Coelho de  
A543c Caracterização em acessos de melão do Banco Ativo de Germoplasma  
de cucurbitáceas para o nordeste brasileiro / Clisneide Coelho de Amorim  
. – Feira de Santana, 2016.  
63 f. : il.


Orientador: Manoel Abilio de Queiróz.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana,  
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2016.


1. *Cucumis melo* L. 2. Germoplasma. 3. Acessos de melão. 4. Agricultura  
tradicional. 5. Variedade botânica. 6. Melão - produção - Nordeste, Brasil. I.  
Queiróz, Manoel Abilio de, orient. II. Universidade Estadual de Feira de  
Santana. III. Título.

CDU: 635.61:581

**BANCA EXAMINADORA**

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

  
**Prof. Dr. Ronaldo Simão de Oliveira**  
**(Universidade Estadual de Feira de Santana)**

  
**Prof. Dr. Manoel Abilio de Queiróz**  
**(Universidade do Estado da Bahia)**  
**Orientador e Presidente da Banca**

Ao meu pai **Eluzimar N. Amorim** e minha mãe **Ednete C. Amorim**

Dedico

## AGRADECIMENTOS

- ✓ A **DEUS**, pelo dom da vida, por ser meu amparo e refúgio, por todas as graças alcançadas e por conceder as forças necessárias para conquistá-las.
- ✓ A meus pais, **Ednete e Eluzimar**, pela educação, dedicação, amor, apoio e incentivo em minhas escolhas.
- ✓ A meus irmãos Clebson, Clebismar e Jakson, pelo incentivo, apoio e descontração. A minha sobrinha **Milena**, a alegria da casa e minhas cunhadas Sandra, Arlandia e Adelante pelo incentivo.
- ✓ Ao meu esposo, **José Timóteo**, pela ajuda, amizade, paciência, pelo apoio durante o mestrado e companhia.
- ✓ Ao meu orientador, **Manoel Abílio de Queiroz**, pela confiança, orientação, paciência, disponibilidade e incentivo.
- ✓ A equipe do laboratório de Biologia da UNEB (Iana, Simone e Graziela) pela ajuda, amizade e apoio.
- ✓ A Barbara e Eliza, pela amizade e disponibilidade sempre que precisei.
- ✓ A Ronaldo, pela orientação e ajuda nas análises estatísticas.
- ✓ A Universidade Estadual de Feira de Santana, pela oportunidade.
- ✓ A CAPES pela concessão da bolsa e financiamento deste projeto.
- ✓ Aos professores do RGV, pelas contribuições científicas e pelo conhecimento adquirido.
- ✓ A UNEB de Juazeiro-BA, pelo espaço para a realização dos experimentos e aos funcionários e colaboradores dos trabalhos de campo, muito obrigada.
- ✓ A Embrapa Agroindústria Tropical, em nome de Fernando Aragão e Patricia Bordallo, pela parceria e orientação e à equipe (Graziela, Elaine, Davi, Eveline e Fred) pelo apoio no estudo molecular.
- ✓ A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para o sucesso deste trabalho, o meu **MUITO OBRIGADA!**

"Lutar sempre, vencer talvez, desistir jamais."



# CARACTERIZAÇÃO EM ACESSOS DE MELÃO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE CUCURBITÁCEAS PARA O NORDESTE BRASILEIRO

## RESUMO

A produção do melão (*Cucumis melo* L.) no Brasil vem aumentando significativamente nos últimos anos, sendo apreciado nos mercados internos e externos. O melão mais produzido é do grupo botânico *inodorus*, tipo “amarelo”, porém, as cultivares apresentam suscetibilidade a estresses bióticos e, portanto, há necessidade de busca por novo germoplasma para dar suporte aos programas de melhoramento de melão. Por outro lado, existem melões cultivados por pequenos agricultores e uma boa amostra desses melões foi coletada e encontra-se armazenada no BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro localizado na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. Assim, o presente estudo teve como objetivo estudar uma amostra de acessos de melão da agricultura tradicional e estimar a variabilidade genética entre e dentro de uma amostra de acessos desses melões utilizando descritores morfológicos e moleculares, a fim de identificar as subespécies e seus respectivos grupos botânicos. Na caracterização morfológica foram usadas as gerações parentais e S<sub>1</sub> utilizando descritores quantitativos e qualitativos e alguns acessos foram desdobrados em subacessos. Para a caracterização molecular os subacessos foram analisados com 28 *primers* ISSR. Com os dados morfológicos foi possível identificar a subespécie *agrestis* com os grupos botânicos *makuwa* e *momordica* e a subespécie *melo* com o grupo botânico *cantalupensis*. Os agrupamentos pelo método UPGMA mostraram grande diversidade genética entre e dentro dos acessos e dos subacessos. Houve uma razoável concordância entre os dados morfológicos e moleculares, embora os dados moleculares foram mais precisos na separação dos grupos. Contudo, há indicação de que houve introgressão de caracteres das diferentes subespécies e diferentes grupos botânicos no material cultivado pelos pequenos agricultores.

**Palavras chaves:** *Cucumis melo*, Germoplasma, ISSR, variedade botânica, agricultura tradicional.

## CHARACTERIZATION OF MELON ACCESSIONS OF THE ACTIVE CUCURBIT GERMPLASM BANK FOR THE NORTHEAST BRAZIL

### Abstract

The melon (*Cucumis melo* L.) production is growing steadily in the last years and it is demanded for the internal as well as the external markets. The melon produced belongs to the botanical group *inodorus*, yellow type, although the cultivars used present susceptibility to biotic stresses and, therefore, there is a need to search new germplasm in order to give support to melon breeding programs. On the other hand, there are melons cultivated by small farmers in the traditional agriculture of Northeast Brazil and a sample of these melons is stored in the Active Germplasm Bank of Cucurbits for the Northeast Brazil, located in the Semiarid Embrapa, at Petrolina-PE. Thus, the present study aimed at to estimate the genetic variability within and among melon accessions using morphological and molecular markers in order to identify the melon subspecies and their respective botanical groups. In the morphological characterization the parental e S1 generations were used recording quantitative and qualitative descriptors and some accessions were partitioned in subaccessions. In the molecular characterization 28 ISSR primers were used. Using the morphological data it was possible to identify the subspecies *agrestis* with the botanical groups *makwua* and *momordica* and the subspecies *melo* with the botanical group *cantalupensis*. The UPGMA clusters showed great genetic diversity within and among the accessions and subaccessions. There was a reasonable agreement between the clusters based on morphological and molecular data, although the molecular data were more precise in the separation of the clusters. However, there is indication of introgression of traits of different subspecies and their botanical groups in the melon cultivated in the traditional agriculture of Northeast Brazil.

**Kew-words:** *Cucumis melo*, germplasm, ISSR, botanical variety, traditional agriculture.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	10
<b>REFERÊNCIAS</b>	17
<b>CAPÍTULO I - DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS BOTÂNICOS EM ACESSOS DE MELÃO</b>	21
<b>RESUMO</b>	22
<b>ABSTRACT</b>	23
<b>INTRODUÇÃO</b>	24
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	26
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	29
<b>CONCLUSÕES</b>	39
<b>REFERÊNCIAS</b>	39
<b>CAPÍTULO II - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ACESSOS DE MELOEIRO DA AGRICULTURA TRADICIONAL DO NORDESTE BRASILEIRO</b>	43
<b>RESUMO</b>	44
<b>ABSTRACT</b>	45
<b>INTRODUÇÃO</b>	46
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	47
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	51
<b>CONCLUSÕES</b>	56
<b>REFERÊNCIAS</b>	56
<b>CONCLUSÃO GERAL</b>	59
<b>ANEXO A: COMPARAÇÃO ENTRE OS AGRUPAMENTOS DOS DADOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES.</b>	61

## INTRODUÇÃO GERAL

### Taxonomia e classificação botânica

Segundo Jeffrey (1990), a classificação do meloeiro obedece à seguinte ordem:

Classe: *Dicotyledoneae*

Subclasse: *Dilleniidae*

Subordem: *Violanae*

Ordem: *Cucurbitales*

Família: *Cucurbitaceae*

Tribo: *Melothiriae*

Subtribo: *Cucumerinae*

Gênero: *Cucumis*

Subgênero: *Melo*

Espécie: *Cucumis melo* L.

O melão é uma cultura que apresenta um alto polimorfismo principalmente nas características de fruto e conseqüentemente essa variação é muito importante para a classificação das espécies. Existem muitas classificações, mas, três delas se destacam. A primeira desenvolvida por Munger e Robinson (1991) considera que a espécie *Cucumis melo* L. tem sete grupos botânicos, sendo um deles silvestre (var. *agrestis* Naudin) e os outros seis cultivados (*cantalupensis* Naudin, *inodorus* H. Jacq., *flexuosus* (L.) Naudin, *conomom* (Roxb.) Duthie & Fuller, *dudaim* (L.) Naudin e *chito* (C. Morren) Naudin. Mais tarde, Robinson e Decker-Walters (1997) estabeleceram seis grupos para a espécie de melão (*cantalupensis*, *inodorus*, *conomom*, *dudaim*, *flexuosus* e *momordica*). A espécie *C. melo* compreende duas subespécies (JEFFREY, 1980; KIRKBRIDE, 1993), *C. melo* ssp. *agrestis* (com tricomas curtos e adensados no ovário), compreendendo cinco grupos botânicos e *C. melo* ssp. *melo* (com tricomas longos e dispersos no ovário) abrangendo onze grupos botânicos (PITRAT et al. 2000), os quais estão descritos a seguir:

#### 1. *agrestis*:

- 1.1 var. *conomom* Thunberg: folhagem verde escura, planta andromonóica, fruto com formato alongado, casca lisa e fina, branca ou verde claro, polpa firme, branca, não doce, não aromático, não climatérico, sementes pequenas amarelas. Usado como pepino. Leste da Ásia.
- 1.2 var. *makuwa* Makino: folhagem verde escura, planta andromonóica, fruto com formato achatado, redondo, oval ou piriforme. Casca lisa, fina, branca, amarelo brilhante ou verde

claro, polpa branca, doce, pouco aromático, maturação precoce, climatérico, sementes pequenas amarelas. Leste da Ásia.

- 1.3 var. *chinensis* Palango: folhagem verde escura, planta andromonóica, formato do fruto piriforme, coloração da casca verde claro ou escuro com manchas (pontos), polpa verde ou alaranjada, não aromático, teor médio de açúcar, maturação tardia, não climatérico, sementes pequenas amarelas. Leste da Ásia.
- 1.4 var. *momordica* Roxburgh: planta monóica, formato do fruto achatado a alongado, sem rugosidade ou gomos superficiais, casca fina rachando quando maduro, baixo teor de açúcar, polpa branca farinhenta quando maduro, não aromático, maturação precoce, climatérico, sementes médias, brancas. Colhido geralmente antes de maduro e cozido. Índia.
- 1.5 var. *acidulus* Naudin: plantas monóicas, formato do fruto oval ou elíptico, sem rugosidade, coloração da casca uniforme alaranjada ou com manchas (pontos), branca muito firme, polpa quebradiça, sem doce, não aromático, usado principalmente cozido. Índia.

## 2. *melo*:

- 2.1 var. *cantalupensis* Naudin: planta geralmente andromonóica mas também monóica, formato do fruto achatado ou ligeiramente oval, gomos médios a forte, casca lisa, doce, polpa alaranjada (às vezes, verde), aromático, climatérico, sementes médias, amarelas. Europa, oeste da Ásia, norte e sul da América.
- 2.2 var. *reticulatus* Séringe: planta andromonóica, formato do fruto redondo a ligeiramente oval, casca rendilhada com ou sem gomos, doce, polpa alaranjada (algumas vezes verde), aromático, climatérico, sementes medias, amarelas. Europa, oeste Ásia, norte e sul da América, Japão, principalmente desenvolvido neste século nos EUA.
- 2.3 var. *adana* Palango: planta monóica, fruto com formato redondo a alongado, com ou sem gomos, ligeiramente rendilhado, casca fina alaranjada, marrom ou creme, polpa alaranjada (às vezes branca), fina, baixo teor de açúcar, farinhenta, maturação precoce, climatérico, oeste da Ásia, sudeste da Europa.
- 2.4 var. *chandalak* Palango: grupo bastante polimórfico, plantas andromonóicas, formato do fruto achatado a redondo, com ou sem gomos, cor da casca verde a amarela com ou sem manchas (pontos), às vezes enrugado ou com rendilhamento, polpa branca ou verde, baixo aroma, bom teor de açúcar, maturação precoce a média, climatérico. Ásia Central.
- 2.5 var. *ameri* Palango: plantas andromonóicas, formato do fruto alongado oval, coloração da casca amarela a verde claro, cor uniforme ou com manchas (pontos), geralmente sem gomos, ligeiramente rendilhado, polpa branca (às vezes alaranjada), baixo aroma, bom teor de açúcar, climatérico. Ásia Central.

- 2.6 var. *inodorus* Jacquin: plantas andromonóicas, formato do fruto redondo a elíptico frequentemente pontiagudo no pedúnculo, cor da casca branca, amarela, verde escura, cor uniforme ou com manchas (pontos), frequentemente rugosa, com ou sem gomos, polpa branca succulenta, maturação tardia, não aromático, não climatérico com longa vida de prateleira (até vários meses), sementes grandes. Ásia central, países do mediterrâneo (Espanha), América.
- 2.7 var. *flexuosus* Linné: plantas monóicas, fruto muito longo (até dois metros, mais que seis vezes mais longo do que largo), casca verde clara ou listado verde claro/verde escuro, com gomos ou rugoso, fruto maduro não doce, polpa branca, frutos novos comido cru ou como picles (como pepino), climatérico, sementes médias, brancas. Norte da África, leste e Ásia Central, Índia.
- 2.8 var. *chate* Hasselquist: plantas monóicas (às vezes andromonóicas), fruto muito parecido com *flexuosus* mais curto (redondo a alongado) fruto maduro não doce, colhido antes do amadurecimento e comido cru ou às vezes como picles (como pepino), com gomos, verde claro a verde escuro, polpa branca a alaranjada clara, climatérico. Norte da África, leste e Ásia Central.
- 2.9 var. *tibish* Mohamed: planta andromonóica, fruto pequeno, oval, verde escuro com listas verde claro, polpa firme, branca, não doce, colhido antes do amadurecimento e comido cru ou como pepino, sementes pequenas amarela. Tipo muito similar é cultivado para comer as sementes no Sudão.
- 2.10 var. *dudaim* Linné: planta andromonóica, fruto pequeno com formato redondo ligeiramente oval, amarelo com listas, casca aveludada, forte aroma típico, polpa branca fina, não doce, sem gosto, climatérico, sementes pequenas, amarelas. Cultivadas como ornamentais ou aromáticas. Oeste e Ásia Central, norte da África, sudeste da Europa.
- 2.11 var. *chito* Morren: plantas andromonóicas ou monóicas, frutos muito pequenos com formato redondo, casca lisa, amarelo, polpa branca, fina, não aromático, não doce, sem gosto, climatérico ou não climatérico. (cultivado na América, mas, existem questionamentos).

### **Origem e domesticação**

As formas silvestres de *C. melo* são encontradas no leste da África tropical (WHITAKER e BEMIS, 1976; AKASHI et al., 2001). Mallick e Massui (1986) relatam que o melão se originou na África e que a ocorrência dessas plantas em diferentes partes do mundo pode ser o resultado de dispersão por pássaros, animais e pelo homem. Por exemplo, há registro de ocorrência de melão no Japão, Europa, Austrália, Índia, Arábia Saudita, Irã e

outros. Pitrat (2013) relata que os melões silvestres podem ser observados na África e na Ásia. O mesmo autor também comenta sobre a diferença entre os melões silvestres e cultivados, pois para ele os melões silvestres caracterizam-se por apresentar pequenas folhas, flores, frutos (20 a 50 g) e sementes. Já nos melões cultivados são observados frutos e sementes maiores, diversos formatos, coloração de polpa laranja, sendo esses fatores resultantes da seleção.

O melão foi para a Europa no declínio do Império Romano (PURSEGLOVE, 1977), de lá foi levado para as Américas por diferentes caminhos (CORREA, 2010) e instituiu-se na agricultura tradicional no Nordeste brasileiro e no Sul do Brasil onde parte da diversidade foi coletada para a formação do banco de germoplasma (QUEIRÓZ, 2004; PRIORI et al., 2010).

O homem é dependente de plantas domesticadas para sua alimentação e as plantas domesticadas são dependentes do homem, pois elas não conseguem sobreviver na competição com ervas daninhas na agricultura (PITRAT, 2013). Ainda segundo o autor, as populações silvestres observadas hoje não podem ser consideradas como ancestrais dos tipos cultivados. Estas populações correspondem à evolução por seleção natural, enquanto as cultivadas correspondem à evolução sob a ação do homem ou seleção artificial, a partir de uma ancestralidade comum.

### **Importância econômica da cultura**

O melão é uma hortaliça bastante apreciada no mercado interno e externo. Sua produção vem aumentando significativamente nos últimos anos. Segundo os dados da FAO (2012) China, Turquia e Irã são os maiores produtores mundiais de melão, enquanto que o Brasil ocupa o 12º lugar. Entretanto, a cultura do melão, no Brasil, é praticada em cerca de 22 mil hectares com uma produção de 565,9 mil toneladas, sendo que o Nordeste brasileiro representa, um pouco mais de 19 mil hectares, com uma produção de 523,4 mil toneladas, representando 86,4% da produção. Os 13,6% restantes estão distribuídos nas diversas regiões do país, porém o Rio Grande do Sul tem uma área de cerca de 9,7% do total e assim, os demais estados do país, apresentam uma área cultivada de apenas 2,9% (IBGE, 2013). Dentre os estados do Nordeste brasileiro, se destacam o Rio Grande do Norte com 8.900 hectares (46,8%) e Ceará com 7.329 (38,6%), seguidos pela Bahia com 1.589 (8,4%) e Pernambuco com 870 (4,6%), totalizando, 98,4% da área do Nordeste brasileiro, cultivada com melão (IBGE, 2013). Ainda, de acordo com a mesma estatística o valor da produção da cultura no

Brasil está estimado em R\$ 501,7 milhões de reais. Grande parte dessa produção é destinada ao mercado externo.

A grande produção do melão na região do Nordeste brasileiro se deve ao potencial produtivo do mesmo com os cultivos irrigados e a boa localização da região em relação aos portos para atender os mercados internacionais, alcançando o terceiro lugar no *ranking* das exportações brasileiras (AGRIANUAL, 2014). Além das exportações, o melão também é comercializado nacionalmente em supermercados e feiras livres.

No Brasil as cultivares mais produzidas são do grupo botânico *inodorus*, tipo “amarelo”. Contudo, há um aumento na demanda de mercado por melões do grupo *cantalupensis*, aromáticos, de polpa salmão, com bom sabor e maior teor de açúcar (°Brix). Além desses, também são cultivados outros tipos: “Pele de Sapo”, “Gália” e “Charentais” (COSTA, 2008). Entretanto, por serem produtos oriundos do melhoramento, essas cultivares apresentam-se uniformes para as características de planta e fruto embora apresentem algumas limitações quanto à tolerância ou resistência a estresses bióticos e abióticos. Alguns trabalhos de melhoramento vêm sendo conduzidos em unidades da Embrapa e na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) enfocando a qualidade do fruto e a resistência a pragas e patógenos e na Universidade Federal de Alagoas buscando obter híbridos entre os grupos botânicos *inodorus* e *reticulatus* (NUNES et al., 2016). O melão é rico em elementos minerais, em particular potássio, sódio e fosforo. Já o valor energético é relativamente baixo, de 20 kcal/100g a 62 kcal/100 g de polpa e a porção comestível representa 55% do fruto. O fruto pode ser consumido *in natura*, como ingrediente de saladas e também na forma de suco (COSTA, 2008).

### **Banco de germoplasma**

Segundo Querol (1993), do ponto de vista etimológico, a palavra germoplasma, tem duas raízes: *germo* (de origem latina), que significa “princípio rudimentar de um novo ser orgânico”; e *plasma* (de origem grega), que significa “ formação”. Portanto, germoplasma é definido como a matéria onde se encontra um princípio que pode crescer e se desenvolver. Para Torres Filho (2008), do ponto de vista técnico, germoplasma compreende a soma total dos materiais hereditários de uma espécie. Assim, o germoplasma compõe a base física da herança, sendo transmitido de uma geração para outra.

O germoplasma de uma espécie fica armazenado em um banco que compõe um reservatório de alelos. Entretanto, pode ser composto por parentes silvestres da espécie,



cultivares locais (*landraces*), linhagens melhoradas e cultivares atuais (QUEROL, 1993). As atividades de um banco de germoplasma compreendem a coleta, caracterização, avaliação, documentação e conservação / preservação. O material genético pode ser obtido em lavouras familiares, hortas e pomares caseiros, mercados, feiras e *habitats* silvestres (QUEROL, 1993).

De acordo com Queiróz (2011), os bancos de germoplasma de cucurbitáceas existentes no Brasil já contêm ao redor de 6.500 acessos, sem considerar as multiplicações, e uma grande parte desta variabilidade não foi caracterizada nem avaliada e, assim, existe uma grande possibilidade de encontrar novos genes úteis para o melhoramento das espécies de cucurbitáceas que já foram resgatadas. Segundo Queiroz (2004), o banco ativo de germoplasma de cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido Petrolina - PE teve início em 1985.

Santos (2011) relata que o BAG de Cucurbitaceas do nordeste brasileiro conta com 150 acessos de *Cucumis* spp. (melão e maxixe), coletados em seis estados do Nordeste entre os anos de 1991 a 2000, por meio de expedições de coleta. Entre os estados, o Maranhão é o de maior representatividade, possuindo 96 acessos, seguido da Bahia com 39. Os estados de Pernambuco, Piauí e o Rio Grande do Norte contam com apenas três acessos cada e o estado de Sergipe com apenas um acesso. O banco conta ainda com cinco acessos estrangeiros sendo quatro da Espanha e um do México.

### **Caracterização de germoplasma**

O incremento das atividades de caracterização e avaliação do germoplasma é muito importante, pois através dessas informações o germoplasma torna-se útil para os programas de melhoramento. Nessas atividades, o papel do curador é fundamental, uma vez que as informações sobre os acessos do banco de germoplasma correspondem a uma de suas atribuições. Para o processo de caracterização e avaliação, são consideradas cinco etapas: correta identificação botânica; elaboração do cadastro de acessos; caracterização propriamente dita; avaliação preliminar e avaliação aprofundada (HAWKES, 1982; VALLS, 1998).

Para que sejam realizados estudos de caracterização de germoplasma é necessária uma sistematização de descritores compreendendo os caracteres botânicos da espécie de interesse. O Instituto Internacional de Recursos Genéticos Vegetais (IPGRI, 2003), hoje Bioversity International, publicou uma lista de descritores para a cultura do meloeiro. Dentre estes, estão os descritores de caracterização, que permitem a discriminação dos fenótipos em diferentes ambientes, por meio da análise visual, já que os caracteres são de natureza qualitativa e se

expressam nos diferentes ambientes. No entanto, para avaliar os caracteres quantitativos é necessário o auxílio de alguns equipamentos, como por exemplo, o uso de régua, balança, paquímetro e entre outros, uma vez que esses caracteres sofrem interferência dos efeitos ambientais, podendo também sofrer interação genótipo x ambiente. Contudo, a caracterização morfológica sofre interferência dos efeitos do ambiente e essas limitações têm estimulado o incremento de abordagens e técnicas que permitem a obtenção de informações diretamente do DNA (Ácido Desoxirribonucléico) (WILLIAMS et al., 1990) complementando os estudos morfológicos.

Nos últimos anos, teve um aumento significativo no uso de metodologias da genética molecular e suas aplicações. As metodologias para detectar e analisar a variabilidade genética em nível molecular proporcionam informações adicionais a outros estudos relativos à conservação e ao uso de banco de germoplasma (FALEIRO, 2007). Segundo Ferreira & Grattapaglia (1998) existem hoje diversas técnicas de biologia molecular disponíveis para a detecção da variabilidade genética ao nível de sequência de DNA. Ainda segundo o autor o desenvolvimento tecnológico na área de marcadores moleculares foi extremamente rápido. Dentre as vantagens dos marcadores moleculares, pode-se citar a aquisição de polimorfismo genético e a identificação direta do genótipo (FALEIRO, 2007). Dentre os marcadores utilizados, está o *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) que é um marcador dominante, amplificado via técnica de PCR. Pode ser obtido através das seguintes etapas: extração e amplificação do DNA via PCR, eletroforese em géis de poliacrilamida ou agarose visualizando o polimorfismo através de auto-radiografia; a coloração pode ser feita com prata ou fluorescência (géis de poliacrilamida) ou com brometo de etídio sob luz ultravioleta (géis de agarose). As principais vantagens apresentadas pelo ISSR são a geração de um grande número de bandas informativas por reação e não ser necessário ter um conhecimento prévio de sequência de DNA para a construção do *primer* (FALEIRO, 2007).

Entretanto, poucos estudos vêm sendo desenvolvidos com germoplasma de melão da agricultura tradicional. Torres Filho et al. (2009) realizaram a caracterização de 42 acessos de meloeiro da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro e encontraram grande variação entre os acessos. Neitzke et al. (2009) ao avaliarem a variabilidade genética de variedades crioulas de melão do Sul do Brasil, notaram a existência de uma grande variabilidade genética, para os 14 acessos analisados. Aragão et al. (2013) em seu estudo sobre diversidade genética entre acessos de meloeiro da agricultura tradicional do nordeste brasileiro, utilizando os dados da caracterização morfológica realizado por Torres Filho et al. (2009) e adicionalmente a caracterização molecular, observaram uma ampla variabilidade entre os acessos. Santos

(2011) avaliou a reação de acessos de melão do banco de germoplasma de cucurbitácea do Nordeste brasileiro ao oídio e verificou que existe variabilidade para a reação dos acessos ao ataque do fungo, bem como, observou fontes de resistência ao oídio entre e dentro dos acessos estudados.

Recentemente, Santos (2015) realizou um estudo de diversidade genética e classificação botânica de uma amostra de acessos de melão da agricultura tradicional do estado do Maranhão e foi possível observar grande variabilidade genética entre e dentro dos acessos assim como diferentes grupos botânicos (*conomon*, *mormodica*, *chandalak*, *cantalupensis*), de acordo com a classificação de Pitrat et al. (2000). No entanto, é necessário ampliar o tamanho da amostra avaliada, tendo em vista que existe uma grande variabilidade entre os acessos que foram estudados e que apenas Santos (2015) realizou a separação dos grupos botânicos seguindo a classificação de Pitrat et al. (2000) que atualmente é a mais completa.

Assim, o presente estudo teve como objetivo estimar a variabilidade genética entre e dentro de uma amostra de acessos de melão, do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, a fim de identificar grupos botânicos existentes na agricultura familiar por meio de descritores morfológicos e moleculares.

## REFERÊNCIAS

AGRIANAUL. **Anuário da agricultura brasileira. Cultura do melão.** 2014.

AKASHI, Y. et al. Genetic variation and phylogenetic relationships in East and South Asian melons, *Cucumis melo* L., based on the analysis of five isozymes. **Euphytica**, v. 125, p. 385–396, 2002.

ARAGÃO, F. A. S. et al. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n.4, p. 6356-6371, 2013.

CORREA, S. M. S. Africanidades na paisagem brasileira. **Revista Internacional Interdiscinar Interthesis**, v.7, n.1, p. 96-116, 2010.

COSTA, N. D. **A cultura do melão**/ Embrapa Semi- Árido; 2. Ed. Ver. Ampl.- Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, p 18-20.

FAO. **Faostat database results**. 2012. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 25 jun. 2015.

FALEIRO, F. **Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ªed. Brasília: EMBRAPA - CENARGEN. 1998, 220 p.

HAWKES, J. G. Germplasm collection, preservation and use. In: FREY, K. J., (ed.) **Plant breeding II**. Ames: Iowa State University Press, 1982. p. 57-83.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção agrícola municipal. Brasília: IBGE, 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 08 out. 2013.

IPGRI. **Descriptors for melon (*Cucumis melo* L.)**.Rome: IPGRI. 65 p., 2003.

JEFFREY, C. Systematics of the Cucurbitaceae: an overview. In: BATES, D.M.; ROBINSON, R. W.; JEFFREY C., Eds., **Biology and Utilization of the Cucurbitaceae**, Cornell University Press, Ithaca, NY. p. 449–463, 1990.

JEFFREY, C. Further notes on Cucurbitaceae: V. The Cucurbitaceae of the Indian subcontinent. **Kew Bull**, v. 34, p. 789–809, 1980.

KIRKBRIDE, J. H. Jr. **Biosystematic monograph of the genus *Cucumis* (Cucurbitaceae)**. Parkway Publishers, Boone, North Carolina, 1993.

MALLICK, M.F.R. e MASUI, M. Origin, distribution and taxonomy of melons. **Scientia Horticulture**, v. 28, p. 251–261, 1986.

MUNGER, H. M.; ROBINSON, R.W. Nomenclature of *Cucumis melo* L. Cucurbit **Cucurbits Genetic Cooperative**, v.14, p. 43–44, 1991.

NEITZKE, R.S. et al. Caracterização morfológica e dissimilaridade genética entre variedades crioulas de melão. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 534-538, 2009.

NUNES, G. H. S. et al. Melhoramento de melão. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Org.). **Melhoramento de Hortaliças**. Viçosa, MG: UFV, 2016, p. 331-363.

PITRAT, M.; HANELT. P.; HAMMER K. Some comments on interspecific classification of cultivars of melon. **Acta Horticulturae**, v. 510, p. 29-36, 2000.

PITRAT, M. Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*). **Plant Biotechnology**, v. 30, p. 273–278, 2013.

PRIORI, D. et al. (2010) Acervo do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas da Embrapa Clima Temperado — 2002 a 2010. (Documentos/Embrapa Clima Temperado, ISSN 1806-9193; 295) <[http : //www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/onlinei\\_documento. php](http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/onlinei_documento.php)>Purseglove, J. W. 1977. Tropical corps. **In: Dicotyledons**. Longman, London, p. 273-276.

QUEIRÓZ, M. A. Germplasm of Cucurbitaceae in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 4:377-383. 2004.

QUEIRÓZ, M. A. Germoplasma de Cucurbitáceas no Brasil. In: LI Congresso Brasileiro de Olericultura. **Anais**. Viçosa: UFV, 2011. p. 5946-5954.

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

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS. DS. **Cucurbits**. CAB International. Oxon (GB). 226 p.,1997.

SANTOS, A. S. **Reação de acessos de melão do BAG de cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro ao oídio**. 2011. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia:Horticultura Irrigada) – Universidade do Estado da Bahia (UNEB).

SANTOS, S. S. **Diversidade genética entre e dentro de acessos de melão da agricultura tradicional do Estado do Maranhão**. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro.

TORRES FILHO, J. **Caracterização morfo-agronômica de acessos de meloeiro coletados no nordeste brasileiro**. 2008. 150 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

TORRES FILHO, J. et al. Caracterização morfológica de acessos de meloeiro coletados no nordeste brasileiro. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p.174-181, 2009.

VALLS, J.F.M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENETICOS, 1., Jaboticabal, 1988. **Anais...** Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1988. p. 106-128.

WHITAKER, T. W. e W. P. BEMIS. Cucurbits. pp. 64–69. In: N. W. Simmonds (ed.), **Evolution of crop plants**. Longman, London, 1976.

WILLIAMS, J. G. K. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p. 6531-6535, 1990.

**CAPÍTULO I**  
**DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS BOTÂNICOS EM**  
**ACESSOS DE MELÃO**

## DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO DE VARIEDADES BOTÂNICAS EM ACESSOS DE MELÃO

Clisneide Coelho de Amorim<sup>1\*</sup>, Manoel Abílio de Queiróz<sup>2</sup>, Iana Priscila Freitas de Aquino<sup>2</sup>, Ronaldo Simão de Oliveira<sup>1</sup>, Simone de Souza Santos<sup>2</sup>, Graziela da Silva Barbosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade do Estado da Bahia - UNEB, Brasil.

### RESUMO

A agricultura familiar, onde ocorre, é uma rica fonte de germoplasma, porém, no Brasil as informações são escassas sobre a variabilidade genética existente nesse tipo de cultivo. Amostras de acessos de melão da agricultura familiar foram resgatadas e armazenadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro e o presente estudo objetivou caracterizar a variabilidade genética em uma amostra desses acessos de modo a identificar as subespécies e os respectivas variedades botânicas existentes. Foram conduzidos dois experimentos em blocos casualizados, onde foram selecionados 15 acessos provenientes de polinização livre, os quais foram caracterizados (descritores quantitativos e qualitativos) e também foram obtidas progênies S<sub>1</sub> (autofecundação) que foram avaliadas no segundo experimento usando os mesmos descritores. Os dados das gerações parental e S<sub>1</sub> foram comparados e foi possível identificar a subespécie *agrestis* com as variedades botânicas *makuwa* e *momordica* e a subespécie *melo* com a variedade botânica *cantalupensis*, porém, alguns subacessos permaneceram indefinidos. Foram estabelecidos 26 subacessos. O agrupamento pelo método UPGMA mostrou grande diversidade genética entre e dentro dos acessos e dos subacessos. Os grupos foram formados pelas subespécies, porém houve discrepâncias. Contudo, há indicação de que houve introgressão de caracteres das diferentes subespécies e diferentes grupos botânicos no material cultivado pelos pequenos agricultores.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, variedade botânica, agricultura tradicional.



## MORPHOLOGICAL DIVERSITY AND IDENTIFICATION OF BOTANICAL VARIETY OF MELON ACCESSIONS

### ABSTRACT

Family agriculture is a rich germplasm source wherever it takes place; however, information on genetic variability of this type of culture in Brazil is scarce. Samples of melon accessions grown by family agriculture of the state of Maranhão were rescued and stored at the Cucurbitaceae Active Germplasm Bank (BAG) of the Brazilian Northeast, and this study aims at characterizing the genetic variability in one sample of these accessions so as to identify subspecies and corresponding botanical groups. Two field experiments were conducted in randomized blocks. In the first experiment 15 accessions derived from open pollination were used. These accessions were then characterized (quantitative and qualitative descriptors) and  $S_1$  progenies (self-fertilization) were also obtained and evaluated in the second experiment using the same descriptors. Data on the parental and  $S_1$  generations were compared and it was possible to identify the subspecies *agrestis* and the botanical variety *makuwa* and *momordica*, and the subspecies *melo* and the botanical variety *cantalupensis*, although some subaccessions remained unidentified. A total of 26 subaccessions were found. UPGMA grouping method showed a high genetic diversity among and within accessions and subaccessions. Clusters were formed by the melon subspecies, although there were discrepancies. Nonetheless, there is indication of trait introgression from the two melon subspecies and their botanical variety in the material grown by the family farmers of the state of Maranhão.

**Key words:** *Cucumis melo*, botanical variety, traditional agriculture.

## INTRODUÇÃO

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma hortaliça pertencente à família das cucurbitáceas de grande importância econômica em várias partes do mundo. É originário da África tropical (BURGUER ET AL., 2010), porém existem estudos que indicam o gênero *Cucumis* como originário da Ásia (RENNER ET AL., 2007; SCHAEFER ET AL., 2009; SEBASTIAN ET AL., 2010). No Brasil, a região Nordeste é responsável por 94% da produção nacional do melão (AGRIANUAL, 2014) e o melão mais produzido é o do tipo Amarelo (variedade *inodorus*), do qual fazem parte diversas cultivares e híbridos (AF-682, Tropical, AF-646, Gold Mine, Vereda, Goldex e Jangada). Além desses, há outros tipos, da variedade botânica *cantalupensis*: Pele de Sapo, Gália, Charentais, Cantaloupe e Honey Dew (COSTA, 2008). Porém, por serem produtos oriundos do melhoramento, essas cultivares mostram-se uniformes e com boas características de planta e fruto embora apresentem algumas limitações quanto à tolerância ou resistência a estresses bióticos e abióticos. Alguns trabalhos de melhoramento vêm sendo conduzidos em unidades da Embrapa e na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e, portanto, existe uma demanda de germoplasma para poder se avançar no desenvolvimento de novas cultivares (ARAGÃO, 2015, comunicação pessoal).

Por outro lado, existe uma grande variabilidade entre acessos de melão cultivados por pequenos agricultores, principalmente nos estados do Piauí e Maranhão, os quais encontram-se armazenados no BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro (QUEIROZ, 2004) dos quais mais de 100 acessos são de *C. melo*. Esta espécie apresenta grande polimorfismo principalmente nas características de frutos, como tamanho, forma, cor, textura e sabor, sendo considerada a espécie mais diversa do gênero *Cucumis* (BATES E ROBINSON, 1995).

A espécie *Cucumis melo* é subdividida em duas subespécies: *C. melo* ssp. *agrestis* e *C. melo* ssp. *melo* (JEFFREY, 1980). A subespécie *agrestis* abrange cinco variedades botânicas e a subespécie *melo* é dividida em onze (PITRAT et al., 2000). A divisão entre os dois grupos é feita por meio da presença de tricomas nos ovários e nos frutos jovens. As plantas que têm ovários e frutos jovens com tricomas grandes e dispersos são classificadas como subespécie *melo* e as plantas que apresentam ovários e frutos jovens sem tricomas ou com tricomas curtos e adensados são classificadas como subespécie *agrestis*. Outro fator importante para a separação das variedades botânicas é a expressão sexual, onde se encontram plantas monóicas e andromonóicas. Estes grupos de melões se inter cruzam sem obstáculos (DECKER-WALTERS et al., 2002).

As espécies de cucurbitáceas introduzidas no Nordeste brasileiro, por diferentes rotas (CORREA, 2010) são cultivadas até hoje na agricultura de sequeiro e em pequenos estabelecimentos agrícolas onde os agricultores usam as próprias sementes para os novos plantios e, assim, constituem as variedades ou populações tradicionais (QUEIROZ, 1993). Os estudos da variabilidade nas cucurbitáceas que foram resgatadas contemplaram razoavelmente os acessos de melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun e Nakai), porém, poucos estudos foram realizados com os acessos de *C. melo*. Neitzke et al. (2009) estudaram a variabilidade genética em variedades crioulas de melão do sul do Brasil, mas, os autores não fazem nenhuma alusão às subespécies nem as variedades botânicas nos acessos estudados. Contudo, Torres Filho et al. (2009) realizaram a caracterização de 42 acessos de meloeiro da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro e encontraram grande variação entre os acessos, assim como diferentes variedades botânicas seguindo a classificação de Munger e Robinson (1991). Já Aragão et al. (2013) avaliaram a diversidade genética entre acessos de meloeiro da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro, utilizando os dados da caracterização morfológica realizado por Torres Filho et al. (2009) e adicionalmente fizeram a caracterização molecular. Observaram uma ampla variabilidade entre os acessos e diferentes grupos botânicos utilizando a classificação de Robinson e Decker-Walters (1997). Recentemente, Santos (2015) realizou um estudo de diversidade genética seguindo a classificação botânica de Pitrat et al. (2000) avaliando uma amostra de acessos de melão da agricultura tradicional do estado do Maranhão. Portanto, mesmo sendo uma amostra relativamente pequena foi suficiente para se identificar a ocorrência das duas subespécies de melão (*agrestis* e *melo*) e algumas variedades botânicas (*conomon*, *momordica*, *chandalak* e *cantalupensis*). Entretanto, existem no Banco de Germoplasma de melão mais de 100 acessos, dos quais cerca de 80 acessos que foram coletados também na agricultura tradicional, ainda não foram estudados de forma aprofundada, tornando-se necessário continuar a pesquisa.

Assim, o presente estudo objetivou caracterizar morfológicamente uma segunda amostra de acessos de melão do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro que foram coletados no estado do Maranhão.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 15 acessos de melão coletados na agricultura tradicional do estado do Maranhão entre os anos de 1996 a 1998 (Tabela 1), os quais passaram por fase de multiplicação e estavam armazenados no Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE em câmara fria de 10 °C e 40% de umidade relativa.

Os experimentos foram conduzidos no Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais da Universidade do Estado da Bahia (DTCS/UNEB), localizado no município de Juazeiro-BA, situado a 09°24'50'' Sul de latitude e 40°30'10'' Oeste de longitude com uma altitude de 368 metros, durante os anos de 2014 e 2015.

**Tabela 1.** Dados de passaporte de acessos do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro.

<b>Acesso</b>	<b>Município</b>	<b>Coordenadas da sede do município</b>
BGMEL 63	Colinas	7° 6' 59" Sul, 46° 15' 26" Oeste
BGMEL 66	Colinas	7° 6' 59" Sul, 46° 15' 26" Oeste
BGMEL 67	Colinas	7° 6' 59" Sul, 46° 15' 26" Oeste
BGMEL 68	Colinas	7° 6' 59" Sul, 46° 15' 26" Oeste
BGMEL 78	Codó	4° 27' 18" Sul, 43° 52' 44" Oeste
BGMEL 79	Itapecuru Mirim	3° 23' 42" Sul, 44° 21' 36" Oeste
BGMEL 86	Codó	4° 27' 18" Sul, 43° 52' 44" Oeste
BGMEL 87	São Luis Gonzaga do Maranhão	4° 22' 51" Sul, 44° 40' 14" Oeste
BGMEL 97	Caxias	4° 52' 29" Sul, 43° 20' 49" Oeste
BGMEL 101	Caxias	4° 52' 29" Sul, 43° 20' 49" Oeste
BGMEL 103	Caxias	4° 52' 29" Sul, 43° 20' 49" Oeste
BGMEL 108	Caxias	4° 52' 29" Sul, 43° 20' 49" Oeste
BGMEL 111	Colinas	7° 6' 59" Sul, 46° 15' 26" Oeste
BGMEL 112	Colinas	7° 6' 59" Sul, 46° 15' 26" Oeste
BGMEL 115	São Vicente Ferrer	2° 53' 44" Sul, 44° 52' 53" Oeste

Para a implantação do primeiro experimento foram utilizadas sementes dos acessos provenientes de polinização livre (geração paternal) e no segundo experimento utilizou-se as sementes provenientes da geração S<sub>1</sub>. As progênies foram obtidas através de polinizações controladas (autofecundação).

No processo de produção das mudas foram semeadas 20 sementes de cada acesso em bandejas de isopor preenchidas com substrato comercial *Plantmax*® em casa de vegetação coberta com sombrite de 50% de luminosidade, sendo irrigadas duas vezes ao dia. Após 15 dias da semeadura, as mudas foram transplantadas para local definitivo cujo solo foi previamente preparado com aração, gradagem e sulcamento. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados completos com quatro repetições no experimento I e duas repetições no segundo experimento. Foram utilizadas cinco plantas por parcela num espaçamento de 2,5 m entre fileiras e 0,8 m entre plantas, mantidas sob irrigação por sulcos de infiltração.

Para realizar a autofecundação, um botão floral feminino e dois botões florais masculinos de cada planta, foram protegidos, utilizando copos descartáveis de 200 mL e suporte de madeira e após 24 horas foram realizadas as polinizações (Figura 1). Durante a condução dos experimentos foram realizadas capinas e monitoramento do estado fitossanitário das plantas.

A caracterização, nos dois experimentos foi feita usando descritores quantitativos e qualitativos de planta e fruto do IPGRI (2003) inclusive os descritores propostos por Pitrat et al. (2000). Os descritores quantitativos avaliados, quando os frutos foram colhidos entre 30 a 45 dias após a fixação dos mesmos, foram: MF - massa média dos frutos (kg), DCE - diâmetro da cicatriz estilar do fruto (mm), CCE - comprimento da cicatriz estilar do fruto (mm), EPL - espessura de polpa da parte lateral do fruto (cm), EPS - espessura de polpa da parte superior do fruto (cm), EPI - espessura de polpa da parte inferior do fruto (cm), CC - comprimento da cavidade do fruto (cm), DC - diâmetro da cavidade do fruto (cm), CP - comprimento do pedúnculo do fruto (mm), DP - diâmetro do pedúnculo do fruto (mm), DF - diâmetro do fruto (cm), CF - comprimento do fruto (cm), SSL - sólidos solúveis lateral do fruto (°Brix), SSH - sólidos solúveis homogeneizados (°Brix) e MS - massa média de 100 sementes (g). Os descritores qualitativos foram: formato do fruto (globular, achatado, elíptico, piriforme, oval, alongado, bolota e má formação), cor da epiderme do fruto (amarelo claro, amarelo, amarelo esverdeado, amarelo intenso, amarelo claro manchado com verde médio, amarelo manchado com verde escuro, verde claro, verde escuro, verde claro riscado com verde escuro, verde claro riscado com verde médio e verde claro manchado com verde

escuro), cor das listas no fruto (ausente, verde claro, verde médio e verde escuro), grau dos gomos no fruto (ausente, superficial, médio e profundo), rachadura da epiderme do fruto (presente e ausente), rugosidade do fruto (ausente, fraca, média e forte), rendilhamento (ausente, fraca, média e forte), cor da polpa do fruto (branca, esverdeada, alaranjada), cor da placenta do fruto (branca, esverdeada e alaranjada), aroma do fruto (ausente, presente), desprendimento do pedúnculo (ausente, presente), pilosidade no ovário e frutos jovens (curtos, longos) e expressão sexual (monoica, andromonoica).

Para a complementação do estudo dos fenótipos dos frutos, foi feita a documentação fotográfica sistematizada dos mesmos (parte interna e externa) das progênes parentais e das respectivas progênes S<sub>1</sub>.



**Figura 1:** Representação da pilosidade no ovário das flores femininas. A - pelos curtos e adensados no ovário (subespécie *agrestis*). B – pelos longos no ovário (subespécie *melo*); C – proteção dos botões florais e D – Processo de polinização.

Caso ocorresse segregação entre as gerações parental e S<sub>1</sub> em cada acesso foi criado um novo código adicional ao código dos acessos no BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro (Tabela 1) para representar essa variação e, assim, esses variantes foram designados de subacessos. Portanto, para as progênes que não apresentaram variação entre as gerações parental e S<sub>1</sub>, foi acrescentado um zero (0) junto ao código do acesso. Por exemplo, o acesso BGMEL63, caso não apresentasse segregação, o novo código passaria a ser BGMEL63.0 ou subacesso BGMEL63.0. Já os acessos que apresentaram variação entre os fenótipos nas duas gerações no tocante às características de planta, flor e frutos receberam um número de acordo com as subdivisões ocorridas. Assim, tomando o exemplo do acesso BGMEL63 caso na geração S<sub>1</sub> tenha ocorrido três tipos de progênes, então os subacessos seriam designados BGMEL63.1, BGMEL63.2 e BGMEL 63.3 e, assim por diante.

A análise de diversidade foi baseada nos descritores qualitativos e quantitativos. Para determinar a matriz de distância da análise conjunta (descritores quantitativos e qualitativos)

utilizou-se o algoritmo de Gower (1971). A partir da matriz de dissimilaridade foi obtida a análise de agrupamento pelo método UPGMA e o ponto de corte foi baseado no método de Mojena (1977). A fim de validar os agrupamentos gerados pelo método UPGMA, o coeficiente de correlação cofenético (CCC) foi estimado a partir do coeficiente de correlação de Pearson entre a matriz de distância e a matriz cofenética (matriz de distância entre os genótipos) (CRUZ e CARNEIRO, 2003). Todos estes procedimentos foram realizados com o auxílio do programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando os fenótipos das gerações parentais e  $S_1$  observou-se que alguns acessos não apresentaram variação para as características de flor e fruto, enquanto outros apresentaram grande variação (Tabela 2). Assim, dos 15 acessos estudados inicialmente, os mesmos foram subdivididos em 26 subacessos de acordo com as características apresentadas como se detalha a seguir.

**Tabela 2.** Classificação dos subacessos nas respectivas subespécies (ssp.), grupo botânico (GB), pilosidade do ovário (PO), expressão sexual (ES), grau dos gomos (GG), cor das listas (CL) e cor da polpa (CP), nas gerações parentais e  $S_1$  (G).

Acesso	ssp.	GB	G	PO	ES	GG	CL	CP
BGMEL63.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	1 2 3	0	1 3
			(S1)	L	M	3	0	3
BGMEL66.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1
BGMEL67.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1
BGMEL78.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	1 2	0	3
			(S1)	L	M	1 2	0	3
BGMEL79.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1
BGMEL101.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	1 2 3	0	2
			(S1)	L	M	3	0	2
BGMEL111.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1

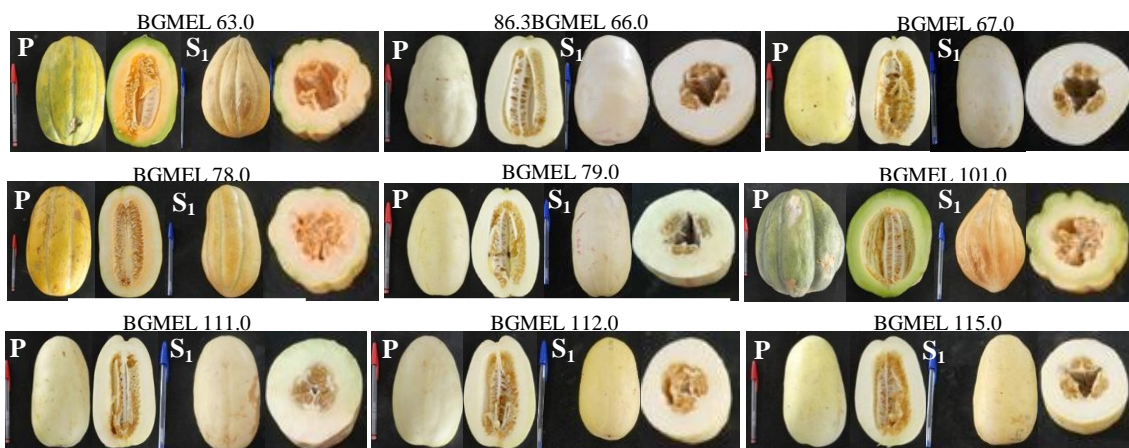
BGME112.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1
BGME115.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1
BGME168.1	<i>agrestis</i>	<i>momordica</i>	(P)	C	M	0	0	1
			(S1)	C	M	0	0	1 3
BGME168.2	<i>agrestis</i>	ND	(P)	C	M	0	0	1
			(S1)	C	M	0	0	1 3
BGME168.3	ND	ND	(P)	C	M	0 1	0	1 3
			(S1)	C L	M	0 1	0	1 3
BGME186.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	1 3	0	3
			(S1)	L	M	2 3	0	2 3
BGME186.2	<i>agrestis</i>	ND	(P)	C	M	0	0	2 3
			(S1)	C	M A	0	0	1 3
BGME186.3	<i>melo</i>	ND	(P)	L	M	1	0	3
			(S1)	L	M	1	0	3
BGME187.1	<i>agrestis</i>	<i>momordica</i>	(P)	C	M	0	0	1
			(S1)	C	M	0	0	3
BGME187.2	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	2 3	0	3
			(S1)	L	M	2 3	0	3
BGME187.3	ND	ND	(P)	C	M	0 1	0	1 3
			(S1)	C L	M	1 2	0	1 3
BGME197.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	1 3	0	3
			(S1)	L	M	2	0	3
BGME197.2	<i>melo</i>	ND	(P)	L	M A	0 1	0	2 3
			(S1)	L	M A	0 1 2	0	1 3
BGME1103.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	(P)	L	M	2 3	0	2 3
			(S1)	L	M	2	0	3
BGME1103.2	ND	ND	(P)	C	M	1	0	3
			(S1)	C L	A	0 1 2	0	2 3
BGME1108.1	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	(P)	C	A	0	0	1
			(S1)	C	A	0	0	1
BGME1108.2	<i>melo</i>	ND	(P)	L	M	0	0	3
			(S1)	L	M A	0	0	1 3
BGME1108.3	<i>agrestis</i>	ND	(P)	C	M	0	0	1
			(S1)	C	M	1	0	1 3
BGME1108.4	ND	ND	(P)	C	M	0	4	1
			(S1)	C L	M	0	0 4	1 2 3



<sup>0</sup>Não apresentou variação dentro do acesso; <sup>1,2,3,4</sup> Indica a segregação ocorrida dentro de cada um dos acessos.

PO -Pilosidade do ovário: C - curto, L - longo. ES - Expressão sexual: M - monóica, A- andromonóica. GG - Grau dos gomos: 0 - ausente, 1 - superficial, 2- médio, 3 - profundo. CL -Cor das listas: 0 - ausente, 1 - verde claro, 2 - verde médio, 3 – verde escuro 4- amarelo claro. CP -Cor da polpa: 1 - branca, 2 - esverdeada, 3 - alaranjada.

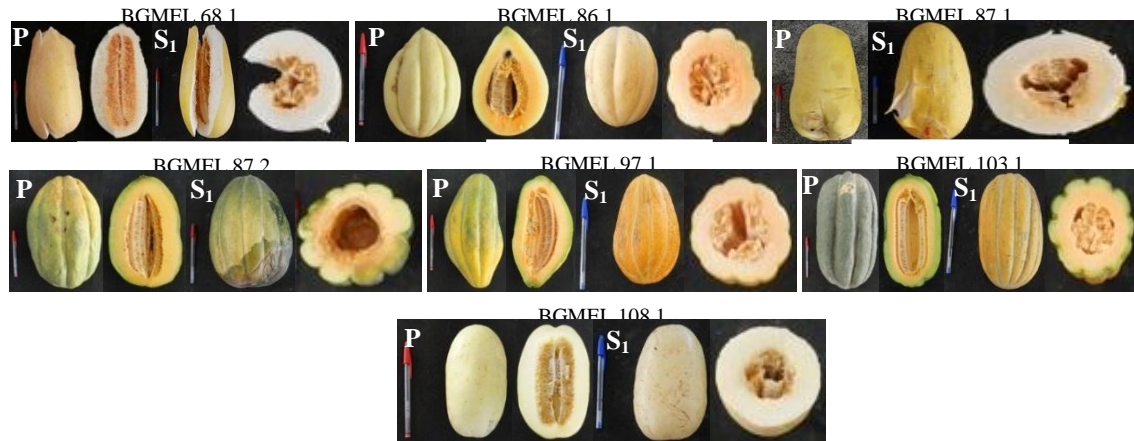
Confrontando os dados das duas gerações, notou-se a formação de quatro conjuntos. O primeiro foi formado por nove subacessos sendo que alguns deles foram formados pela subespécie *melo* variedade *cantalupensis* (BGMEL63.0, BGMEL78.0 e BGMEL101.0) e outros pela subespécie *agrestis* variedade *makua* (BGMEL66.0, BGMEL67.0, BGMEL79.0, BGMEL111.0, BGMEL112.0 e BGMEL115.0). Todas as plantas desses subacessos mostraram o mesmo fenótipo para caracteres de flor e fruto (homozigotas) e, ainda, apresentaram os descritores que permitiram a definição da subespécie e dos respectivos grupos botânicos (Figura 2 e Tabela 2).



**Figura 2:** Subacessos que se apresentaram homozigotos para as características de flor e fruto nas duas gerações estudadas.

O segundo conjunto foi composto por sete subacessos oriundos da variação dentro dos acessos (geração paternal) BGMEL68, BGMEL87, BGMEL108, BGMEL86, BGMEL 87, BGMEL 97 e BGMEL 103 (Tabela 2 e Figura 3). As plantas se mostraram homozigotas e também apresentaram caracteres de planta e fruto que permitiram a identificação da subespécie e das respectivas variedades botânicas. Assim, foi identificada a subespécie *agrestis*, na qual foram encontradas a variedade *momordica* (subacessos BGMEL68.1 e BGMEL87.1) e a variedade *makua* (subacesso BGMEL108.1). Também foi identificada a subespécie *melo* com a variedade *cantalupensis* (subacessos BGMEL86.1, BGMEL87.2,

BGMEL97.1 e BGMEL103.1) (Figura 3). Assim, esses subacessos, selecionados a partir das progênies que não mostraram segregação entre os parentais e a geração  $S_1$ , também apresentaram caracteres morfológicos de flor e fruto que permitiram a identificação da subespécie e da variedade botânica para cada um dos subacessos.



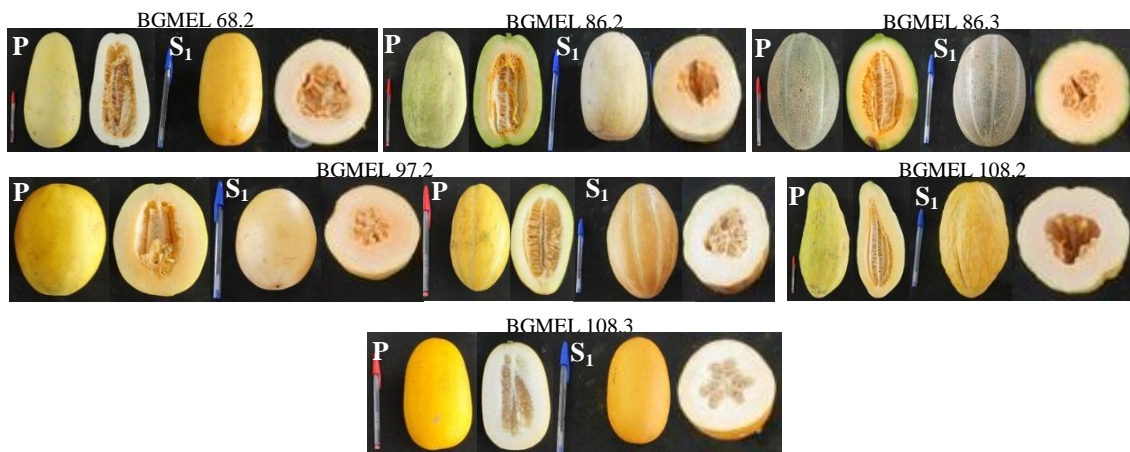
**Figura 3:** Subacessos oriundos da variação dentro dos parentais que mantiveram as características de planta e fruto na geração  $S_1$ .

No terceiro conjunto um grupo de progênies mostrou variação acentuada nos caracteres de fruto entre as duas gerações (Figura 4), porém, os caracteres de pilosidade do ovário não variaram entre a geração parental e geração  $S_1$  (Tabela 2) e assim foi possível a identificação das subespécies. Nesse conjunto se encontram seis subacessos BGMEL68.2, BGMEL86.2, BGMEL108.3, BGMEL86.3, BGMEL97.2 e BGMEL108.2 sendo os três primeiros pertencentes à subespécie *agrestis* e os três seguintes à subespécie *melo* (Figura 4 e Tabela 2).

Osubacesso BGMEL 68.2, ssp. *agrestis*, apresentou a maioria dos caracteres condizentes com a variedade *momordica*, porém, não apresentou rachadura (Figura 4). Os acessos pertencentes a var. *momordica* apresentam rachaduras na casca do fruto quando maduro, polpa branca, creme ou alaranjada e ausência de açúcar e aroma (FERGANY et al.,2010) e, portanto, os dados do presente trabalho não corroboram com a inclusão desse subacesso na variedade *momordica*. A ruptura do fruto, embora determinante para da variedade botânica *momordica*, é um caráter indesejável, pois afeta a aparência e diminui a durabilidade pós-colheita, comprometendo a comercialização (NEITZKE et al.,2009). No entanto, foram observadas populações de melões da variedade *momordica* com leve aroma quando maduros, pouco doce e coloração de polpa variando de creme para alaranjada

(MANOHAR E MURTHY, 2012). Já o subacesso BGMEl 86.2, também *ssp. agrestis*, mostrou uma variação nos caracteres, não sendo possível determinar a variedade botânica. O mesmo apresentou cor da epiderme verde claro e amarelo claro, coloração da polpa esverdeada e alaranjada, ausência de sulco e rendilhamento fraco (Figura 4), possivelmente uma característica de grupos da subespécie *melo*. O subacesso BGMEl108.3, *ssp. agrestis*, mostrou frutos com características da var. *acidulus*, porém a coloração da casca e alguns dados relacionados à polpa do fruto não permitiram a inclusão nessa variedade, pois os acessos pertencentes a variedade *acidulus* são caracterizados principalmente por apresentar polpa branca muito firme, ausência de açúcar e aroma (Figura 4) (FERGANY et al., 2010).

Considerando os subacessos da subespécie *melo* o subacesso BGMEl86.3 apresentou todas as características da variedade botânica *reticulatus*, porém a expressão sexual monóica não foi condizente com esse grupo (Tabela 2 e Figura 4). Para o subacesso BGMEl108.2 (Figura 4), a maioria das características (rugosidade, maturação tardia, formato e cor da casca) foram similares com a variedade botânica *inodorus*, porém, a expressão sexual e coloração de polpa não permitiram a inclusão do subacesso nesse grupo. Finalmente, o subacesso BGMEl97.2 mostrou frutos com características da variedade *chito*. Entretanto, a coloração de polpa alaranjada não é característica dessa variedade, impossibilitando sua classificação nessa variedade botânica (Figura 4).



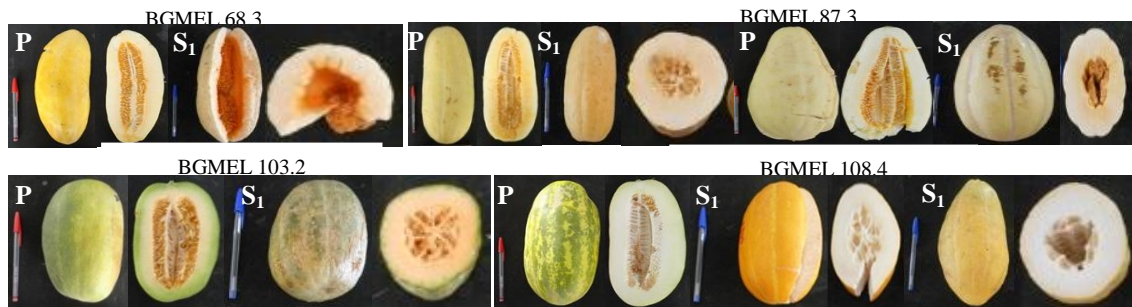
**Figura 4:** Subacessos que apresentaram variação para os descritores de frutos que permitiam a distinção dos grupos botânicos.

No último conjunto estão os subacessos onde não foi possível definir a subespécie nem a variedade botânica (subacessos BGMEl87.3, BGMEl103.2, BGMEl68.3 e BGMEl 108.4). Os subacessos BGMEl68.3 e BGMEl87.3 apresentaram presença de rachadura,

coloração de polpa e formato da variedade botânica *momordica* (Figura 5), porém ocorreu segregação para o descritor pilosidade do ovário (Tabela 2), onde algumas plantas, tanto na geração paternal como na geração S<sub>1</sub>, apresentaram tricomas longos e outros curtos dentro do mesmo acesso impossibilitando a definição da subespécie e consequentemente da variedade botânica. O mesmo ocorreu para os demais subacessos desse conjunto (Tabela 2). Esses resultados mostram a introgressão de caracteres entre as duas subespécies de melão. Dogimont (2011) ao estudar os genes do melão não faz alusão a herança do caráter pilosidade do ovário e, portanto, será importante estudar esse caráter para ajudar a definir as subespécies de melão. No que tange aos caracteres definidores dos grupos botânicos (PITRAT et al., 2000) o subacesso BGME103.2 apresentou a presença de sulco e coloração de polpa coincidentes com a variedade botânica *cantalupensis* e o subacesso BGME108.4 não foi possível associar a nenhuma variedade botânica tendo em vista a grande variação nas características como presença de lista, rugosidade, rachadura na geração paternal e coloração de polpa (Figura 5), porém, em virtude da indefinição da subespécie não foi possível alocar os subacessos em grupos botânicos específicos. Entretanto, esses resultados mostram forte evidência de introgressão de caracteres entre diferentes grupos botânicos.

Torres Filho et al. (2009) ao realizarem a caracterização morfológica de acessos de meloeiro coletados no Nordeste brasileiro seguindo a classificação de Munger e Robinson (1991), identificaram 80,9% dos 42 acessos avaliados quanto a variedade botânica. Entretanto, 19,1% permaneceram indefinidos. Dentre as variedades botânicas identificados estão a var. *conomon*, var. *cantalupensis*, var. *momordica* e *inodorus* (variedade comercial). Santos (2015) analisando acessos de melão coletados no estado do Maranhão seguindo a classificação de Pitrat et. al (2000), conseguiu classificar 44,0% dos acessos estudados quanto a subespécie e variedade botânica, 32,0% foram identificados quanto à subespécie, apesar da variedade botânica permanecer indefinido e 25,0% permaneceram indefinidos quanto à subespécie e a variedade botânica. Entre as variedades botânicas definidos estão: *momordica*, *cantalupensis*, *conomon* e *chandalak*. No presente estudo apesar da acentuada variação nos caracteres que permitem a distinção de subespécie e variedades botânicas 61,5% dos subacessos estudados foram classificados quanto à subespécie e variedade botânica, 23,1% definidos apenas quanto à subespécie e 15,4% permaneceram indefinidos quanto à subespécie e a variedade botânica. Os dados mostraram que houve introgressão de caracteres entre as diferentes subespécies e variedades botânicas e esses resultados indicam que o manejo das sementes de diferentes tipos de melões pelos agricultores familiares possa ter contribuído para

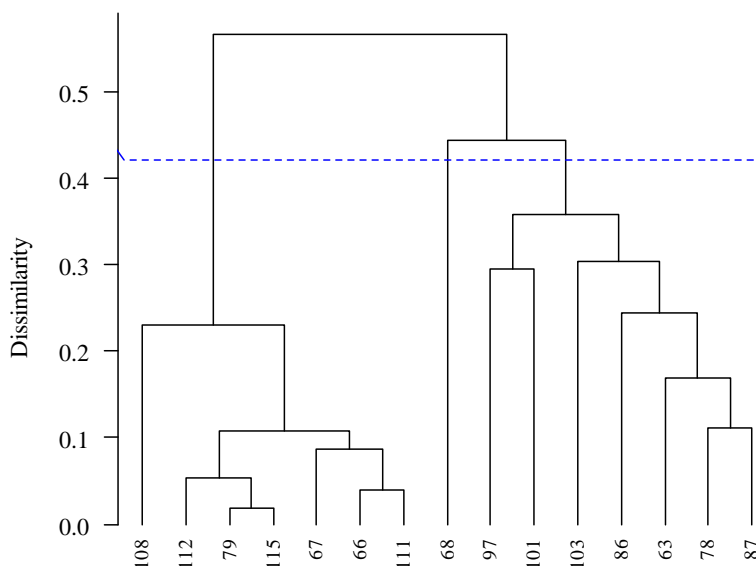
que polinizações cruzadas entre diferentes subespécies e variedades botânicas ocorressem, pois não existe barreira para cruzamentos entre diferentes variedades botânicas (DECKER-WALTERS et al., 2002). A permuta de sementes entre os agricultores familiares é bastante comum, portanto, pode ter ocorrido também mistura de sementes através do processo de troca de germoplasma.



**Figura 5:** Representação dos fenótipos dos subacessos nos quais não foi possível a identificação da subespécie nem dos grupos botânicos.

Além dos estudos realizados no Brasil, outros países também vêm desenvolvendo estudos com germoplasma de melão da agricultura familiar. Szamosi et al. (2010) observaram ampla diversidade para as características morfológicas comparando germoplasma de melões húngaros e turcos das variedades botânicas *reticulatus*, *inodorus*, *cantalupensis*, *dudaim*, *chate*, *chito* e *flexuosus*. Yildiz et al. (2014) ao realizarem a caracterização morfológica e molecular de melões das variedades botânicas *inodorus*, *cantalupensis*, *reticulatus*, *canomon*, *flexuosus*, *dudaim*, *momordica* e seis acessos desconhecidos notaram uma grande variação nas características dos melões turcos. Trimech et al. (2013) seguindo a classificação de Munger e Robinson (1991) verificaram diferenças significativa nos melões tunisianos entre os acessos e dentro e entre os locais de coleta, assim como diferentes variedades botânicas *reticulatus*, *inodorus* e *dudaim* e alguns acessos permaneceram indefinidos por não se enquadrarem em nenhum grupo, à semelhança do estudo conduzido aqui no Brasil. É importante ressaltar que os diferentes grupos botânicos, notadamente os tipos silvestres, em geral da subespécie *agrestis*, apresentam grande interesse do ponto de vista de germoplasma, pois apresentam a maioria dos genes responsáveis pelo controle de estresses bióticos causados por fungos como oídio (*Podosphaera xanthii*), cancro das hastes (*Didymela bryoniae*), alternaria (*Alternaria cucumerina*), potyviroses (PRSV-W, WMV, ZYMV), resistência a insetos como a mosca minadora (*Liriomyza* spp.) entre outros estresses bióticos (DOGIMONT, 2011).

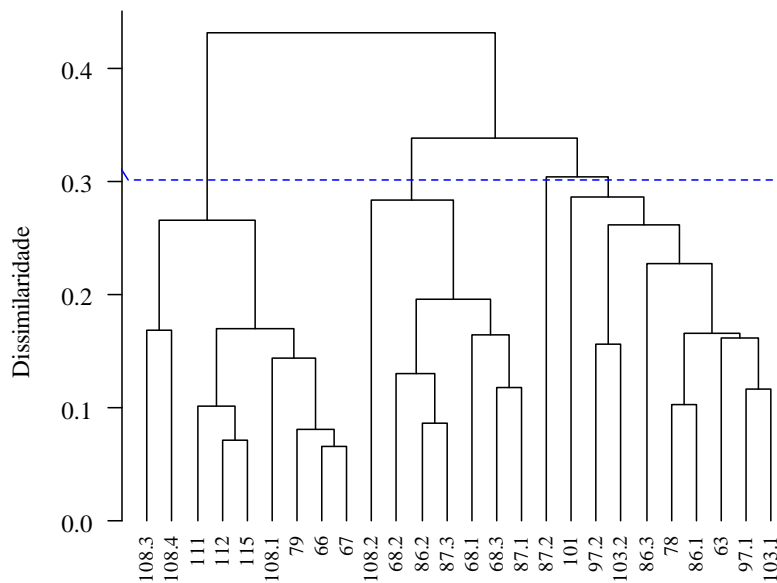
Por outro lado, além da grande variação que foi encontrada quanto às subespécies e os respectivos grupos botânicos, o estudo da diversidade encontrada nos acessos e subacessos usando os descritores morfológicos dá uma dimensão da variabilidade existente. Analisando o agrupamento levando em consideração a análise conjunta dos descritores quantitativos e qualitativos obtida pelo método UPGMA, observou-se a formação de três grupos para os dados do primeiro experimento (Figura 6). O coeficiente de correlação cofenético encontrado foi de 0,96, indicando uma boa representação (CRUZ E CARNEIRO, 2003). O primeiro agrupamento compreendeu os acessos BGME108, BGME112, BGME79, BGME115, BGME67, BGME66 e BGME111. Esses acessos pertencem à subespécie *agrestis* e variedade *makuwa* valendo ressaltar que o acesso BGME 108 apresentou variação entre plantas dentro do acesso (Figuras 3, 4 e 5) para as características de fruto como descrito anteriormente, porém, dentro dessa variação foi encontrado um subacesso da variedade *makuwa* (subacesso 108.1). O acesso BGME 68 ficou isolado no segundo grupo e os acessos BGME 97, BGME 101, BGME 103, BGME86, BGME63, BGME78 e BGME87 formaram o terceiro agrupamento. Vale destacar que esse grupo foi composto pelos acessos da subespécie *melo* variedade *cantalupensis*, apesar de alguns acessos como o BGME86 e BGME87 apresentarem variações para a subespécie *agrestis* (Tabela 2).



**Figura 6:** Representação do agrupamento dos parentais pelo método UPGMA.

Ao analisar o agrupamento dos subacessos (Figura 7), observou-se a formação de quatro grupos com uma boa consistência (CCC = 0,82). Os subacessos (BGME108.3, BGME108.4, BGME111.0, BGME112.0, BGME115.0, BGME108.1, BGME79.0,

BGMEL66.0 e BGMEL67.0) formaram o primeiro grupo. Neste grupo foi possível distinguir dois subgrupos: um formado por BGMEL108.3 pertencente a subespécie *agrestis* e indefinido quanto a variedade botânica, porém com características da variedade *acidulus* e o subacesso BGMEL108.4 que não foi possível a identificação da subespécie em virtude de segregação da pilosidade do ovário entre a geração parental e a geração S<sub>1</sub> (Tabela 2). O segundo subgrupo reuniu os demais subacessos todos da subespécie *agrestis* variedade *makuwa*.



**Figura 7:** Representação do agrupamento dos subacessos provenientes do segundo experimento pelo método UPGMA.

No segundo agrupamento composto por sete subacessos verificou-se também dois subgrupos, o primeiro composto pelo subacesso BGMEL108.2 pertencente à subespécie *melo* variedade não definido, mas com características de *inodorus* e o outro formado pelos seis subacessos restantes, sendo dois da subespécie *agrestis*, variedade *momordica* (BGMEL 68.1 e 87.1), dois subespécie *agrestis* e variedade botânica não identificado (BGMEL68.2 e BGMEL86.2) e dois indefinidos quanto à subespécie e variedade botânica (BGMEL87.3 e BGMEL68.3), porém ambos com características de *momordica*. Assim, se observa que nesse agrupamento foram incluídas as duas subespécies e subacessos com características de diferentes variedades botânicas indicando novamente a ocorrência de introgressão de características tanto das subespécies como das variedades botânicas e isso pode ser consequência do manejo de sementes dos agricultores como indicado anteriormente uma vez

que não existe barreira de cruzamento entre as subespécies nem entre as respectivas variedades botânicas (DECKER-WALTERS et al., 2002).

O terceiro grupo compreendeu apenas o subacesso BGMEEL 87.2 incluso na subespécie *melo*, variedade *cantalupensis* e no último grupo ficaram nove subacessos (BGMEEL101.0, BGMEEL97.2, BGMEEL103.2, BGMEEL86.3, BGMEEL78.0, BGMEEL86.1, BGMEEL63.0, BGMEEL97.1 e BGMEEL103.1), todos da subespécie *melo*, com exceção do subacesso BGMEEL 103.2 que permaneceu indefinido devido à segregação na pilosidade (Tabela 2), porém suas características são da variedade *cantalupensis*. O subacesso BGMEEL 97.2 apresentou características da variedade *chito*, o BGMEEL86.3 da variedade *reticulatus* e os demais são todos da variedade *cantalupensis*. Assim, esse agrupamento foi praticamente formado pelos subacessos da ssp. *melo*, com apenas uma única exceção.

Assim, verifica-se que o agrupamento dos subacessos mostrou uma razoável concordância, pois, no primeiro grupo ficaram todos os acessos da subespécie *agrestis*, com exceção do subacesso BGMEEL108.4 não definido como detalhado anteriormente. O segundo grupo teve mescla de subacessos das duas subespécies com predominância da ssp. *agrestis*. O terceiro grupo teve apenas um acesso da ssp. *melo* e variedade *cantalupensis* e no quarto grupo todos os subacessos, com apenas uma exceção, foram da ssp. *melo*, sendo a maioria deles pertencentes a variedade *cantalupensis*. Vale salientar que além dos caracteres morfológicos que foram determinantes para identificação das subespécies e das variedades botânicas, alguns outros caracteres morfológicos avaliados podem ter sido importantes para a formação dos grupos. Por exemplo, a massa dos frutos, pois nos subacessos foram encontrados frutos com uma grande variação indo de 400 g a 2500 g, além de outros caracteres muito contrastantes. Assim, essa variação pode ter sido determinante na formação do terceiro grupo que sendo *melo cantalupensis* ficou separado de outros subacessos da mesma espécie e grupo botânico.

Embora tenha se observado essa tendência de agrupamentos de acordo com as subespécies e variedades botânicas (grupos I e IV, Figura 7), observou-se a inclusão de diferentes subespécies no grupo II, bem como os dados obtidos no detalhamento das subespécies e grupos botânicos indicam que há uma grande introgressão de caracteres até mais evidente no estudo dessa amostra do que demonstrado por Santos (2015) estudando outra amostra de acessos da agricultura tradicional. É importante destacar também que alguns grupos botânicos deixaram de ser identificados apenas pela falta de concordância de um ou poucos caracteres. Caso esses caracteres não estejam fixados é possível que a obtenção de



novas gerações endogâmicas possa permitir a separação de caracteres que possibilitem a identificação de novos grupos botânicos. Mesmo que não seja possível tal separação, a existência de caracteres de diferentes grupos botânicos, notadamente da subespécie *agrestis* indica que esse germoplasma é muito valioso para a identificação de genes de resistência a estresses bióticos que acometem a cultura do meloeiro comercial e, portanto, é de grande valia para ser conservado a curto, médio e longo prazo como um tesouro que uma vez desvendado pode ajudar no desenvolvimento de novas cultivares de melão comercial para uso nos mais diversos sistemas de produção de melão do país.

## CONCLUSÕES

- Há ocorrência de diferentes grupos botânicos no material genético de meloeiro cultivado na agricultura familiar do Nordeste brasileiro.
- Existe variabilidade entre e dentro da amostra de acessos e subacessos de meloeiro do banco de germoplasma de melão proveniente da agricultura familiar da região Nordeste do Brasil.
- Existe a introgressão de caracteres das duas subespécies de melão e dos diferentes grupos botânicos no germoplasma cultivado pelos pequenos agricultores.

## REFERÊNCIAS

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. Cultura do melão. 2014.

ARAGÃO, F. A. S. et al. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n.4, p. 6356-6371, 2013.

BATES, D.M.; ROBINSON, R. W. Cucumber, melons and watermelons. In: SMARTT, J. E.; SIMMONDS, N. W. **Evolution of Crop Plants**. 2nd ed., pp. 89-96. Essex: Longman Scientific, 1995.

BURGER, Y. et al. Genetic Diversity of *Cucumis melo*. **Horticultural Reviews**, v. 36 p.165-198, 2010.

CORREA, S. M. S. Africanidades na paisagem brasileira. **Revista Internacional Interdiscinar Interthesis**, v.7, n.1, p. 96-116, 2010.

COSTA, N. D. **A cultura do melão**/ Embrapa Semi- Árido; 2. Ed. Versão Ampliada - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, pp. 18-20, 2008.

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

DECKER-WALTERS D. S. et al. The origin and genetic affinities of wild populations of melon (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae) in North America. **Plant Systematics and Evolution**, v. 233, 183–197, 2002.

DOGIMONT, C. Gene list for melon. **Cucurbit Genet Coop. Rep** 33-34: 104-133, 2011.

FERGANY, M. et al. Variation in melon (*Cucumis melo*) landraces adapted to the humid tropics of southern India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, p. 225–243, 2010.

GOWER, J.C. **A general coefficient of similarity and some of its properties**. Biometrics, Arlington, v.27, n. 4, p. 857-874, 1971.

IPGRI. **Descriptors for melon** (*Cucumis melo*L.). Rome: IPGRI. 65 p., 2003.

JEFFREY C. Further notes on Cucurbitaceae: V. The Cucurbitaceae of the Indian subcontinent. **Kew Bull**, v. 34, p. 789–809, 1980.

MANOHAR, S. H.; MURTHY, H. N. Estimation of phenotypic divergence in a collection of *Cucumis melo*, including shelf-life of fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 148, p.74–82, 2012.

MOJENA, R. Hierarchical grouping method and stopping rules: an evaluation. **Computer Journal**, v.20, p.359-363, 1977.

MUNGER, H. M.; ROBINSON, R. W. Nomenclature of *Cucumis melo* L. Cucurbit **Cucurbits Genetic Cooperative**, v.14, p. 43–44, 1991.

NEITZKE, R. S. et al. Caracterização morfológica e dissimilaridade genética entre variedades crioulas de melão. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 534-538, 2009.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. Some comments on interspecific classification of cultivars of melon. **Acta Horticulturae**, v. 510, p. 29-36, 2000.

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

QUEIROZ, M. A. Germplasm of Cucurbitaceae in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 4:377-383, 2004.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. A language and environment for statistical computing. Vienna. **R Foundation for Statistical Computing**, 2012.

RENNER, S. S.; SCHAEFER, H.; KOCYAN, A. Phylogenetics of Cucumis (Cucurbitaceae): Cucumber (*C. sativus*) belongs in an Asian/Australian clade far from melon (*C. melo*). **BMC Evolutionary Biology**, v 7, p. 58–69, 2007.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. **Cucurbits**. CAB International. Oxon (GB). 226 p, 1997.

SANTOS, S. S. **Diversidade genética entre e dentro de acessos de melão da agricultura tradicional do Estado do Maranhão**. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro.

SCHAEFER, H.; HEIBL, C.; RENNER, S.S. Gourds afloat: a dated phylogeny reveals an Asian origin of the gourd family (Cucurbitaceae) and numerous oversea dispersal events. **The Royal Society Proceedings B**, v 276, p. 843–851, 2009.

SEBASTIAN, P. et al. Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister species of melon is from Australia. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America.**, v. 107, p. 14269–14273, 2010.

SZAMOSI, C. et al. Morphological evaluation and comparison of Hungarian and Turkish melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. **Scientia Horticulturae**, v. 124, p.170–182, 2010.

TORRES FILHO, J. et al. Caracterização morfológica de acessos de meloeiro coletados no nordeste brasileiro. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p.174-181, 2009.

TRIMECH, R. et al. Genetic variation in Tunisian melon (*Cucumis melo* L.) germplasm as assessed by morphological traits. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, p. 1621–1628, 2013.

YILDIZ, M.; AKGUL, N.; SENSOY, S. Morphological and Molecular Characterization of Turkish Landraces of *Cucumis melo* L. **Not Bot Horti Agrobo**, v. 42, n. 1, p. 51-58, 2014.

**CAPÍTULO II**  
**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ACESSOS DE MELOEIRO DA**  
**AGRICULTURA TRADICIONAL DO NORDESTE BRASILEIRO**

## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE SUBACESSOS DE MELOEIRO DA AGRICULTURA TRADICIONAL DO NORDESTE BRASILEIRO

Clisneide Coelho de Amorim<sup>1\*</sup>, Manoel Abílio de Queiróz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade do Estado da Bahia - UNEB, Brasil.

### RESUMO

O cultivo de melão no Brasil alcançou o terceiro lugar no *ranking* das exportações brasileiras sendo apreciado no mercado interno e externo, porém, as cultivares apresentam limitações quanto a estresses bióticos e outros caracteres indicando a necessidade de busca de novo germoplasma para os programas de melhoramento. As variedades e respectivos grupos botânicos foram avaliados morfoagronomicamente, porém, ainda não foram estudados usando-se ferramentas moleculares. Assim, o presente estudo objetivou estimar a variabilidade genética entre e dentro de subacessos de melão da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro usando o marcador ISSR. Foram avaliados 26 subacessos (oriundos da variação dentro dos acessos) de melão, os quais estavam armazenados no Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido em Petrolina-PE. O material vegetal foi cultivado em casa de vegetação com oito repetições, dos quais foi coletado um *bulk* de cada subacesso para realizar a extração do DNA de acordo com protocolo de Ferreira e Grattapaglia (1998) com algumas modificações. A amplificação foi realizada com 28 *primers* ISSR previamente selecionados. Na AMOVA foi observada variabilidade entre e dentro das regiões de coleta. Os dados apresentaram 63,91% de polimorfismo e foram agrupados pelo método UPGMA em oito grupos. Quando comparados com os dados de caracterização morfológica observou-se uma razoável concordância entre os agrupamentos.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, ISSR, germoplasma.

## MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MELON SUBACCESSIONS OF THE TRADITIONAL AGRICULTURE OF NORTHEAST BRAZIL

### ABSTRACT

The melon crop in Brazil reached third in the ranking of Brazilian exportation of fruits and it is demanded for internal and external market, although the commercial cultivars present limitations regarding biotic stresses and other traits indicating the need to search for new germplasm to be used in melon breeding program. The melon subspecies and their respective botanical varieties were evaluated using morphological characters, but, not yet studied using molecular markers. Thus, the present study aimed at to estimate the genetic variability within and among melon subaccessions of the traditional agriculture from Northeast Brazil using ISSR marker. Twenty six melon subaccessions (derived from the variation within accessions), which were stored in the Active Germplasm Bank of Cucurbits for Brazil Northeast, located in the Semi-Arid Embrapa at Petrolina-PE were used. The subaccessions were sowed in plastic vases in a greenhouse using eight replications. It was collected a bulk of vegetal tissue of each subaccession to extract DNA using the protocol of Ferreira and Gratapaglia with some modifications. The amplification was performed using 28 ISSR primers which were previously selected. The AMOVA analysis showed variation among and within sites of collection. The data showed 63.9% of polymorphism and the subaccessions were grouped in eight clusters using UPGMA method which showed a reasonable agreement with the clusters based on morphological traits.

**Kew-words:** *Cucumis melo*, ISSR, germplasm.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo do melão (*Cucumis melo* L.) é praticado em cerca de 22 mil hectares com uma produção de 565,9 mil toneladas sendo que a região Nordeste representa um pouco mais de 19 mil hectares, com uma produção de 523,4 mil toneladas, ou seja, responsável por 87,4% da produção. Os 12,6% restantes estão distribuídos nas diversas regiões do país. Dentro do Nordeste brasileiro, se destacam os estados do Rio Grande do Norte com 8.900 hectares (46,3%) e Ceará com 7.329 (38,1%), seguidos pela Bahia com 1.589 (8,3%) e Pernambuco com 870 (4,5%), perfazendo, 97,2% da área do Nordeste brasileiro, cultivada com melão (IBGE, 2013). O melão tem sido apreciado nos mercados interno e externo, alcançando o terceiro lugar no *ranking* das exportações brasileiras (AGRIANUAL, 2014).

O Nordeste brasileiro dispõe de várias espécies de cucurbitáceas introduzidas há vários anos e cultivadas até hoje na agricultura tradicional em pequenos estabelecimentos agrícolas, originando inúmeras variedades tradicionais (QUEIROZ, 1993; 2004). Assim, é de essencial importância a conservação dessas variedades a curto, médio e longo prazos. Entretanto, alguns estudos foram realizados com germoplasma da agricultura tradicional brasileira. Torres Filho et al. (2009), utilizando a classificação de Robinson e Decker-Walters (1997) caracterizaram morfológicamente uma amostra de melões do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro e encontraram grande variação entre os acessos estudados. Recentemente, Santos (2015) usando a classificação de Pitrat et al. (2000) caracterizou uma amostra de 15 acessos de melão da agricultura tradicional do Maranhão e observou grande variação entre e dentro dos acessos, assim como diferentes grupos botânicos. Também, foi possível observar diferenças contrastantes entre o teor médio de açúcar ao redor de 10° Brix, diferentes formatos e cores externas de frutos. Santos (2011) observou grande variação para tolerância ao oídio (*Podospheera xanthii*). Contudo, a caracterização morfológica sofre influência dos efeitos do ambiente e essas limitações têm estimulado o desenvolvimento de abordagens e técnicas que permitem a obtenção de informações diretamente do DNA (WILLIAMS et al., 1990) complementando os estudos morfológicos.

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998) existem hoje diversas técnicas de biologia molecular disponíveis para a detecção da variabilidade genética ao nível de sequência de DNA (Ácido Desoxirribonucléico). Ainda segundo os autores o desenvolvimento tecnológico



na área de marcadores moleculares foi extremamente rápido. Entre os principais marcadores moleculares são RAPD, AFLP, SSR, ISSR entre vários outros. Entre os marcadores utilizados para detectar polimorfismo genético, está o *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) que é um marcador dominante, amplificado via técnica de PCR. As principais vantagens apresentadas pelo ISSR são a geração de um grande número de bandas informativas por reação e não ser necessário ter um conhecimento prévio de sequência de DNA para a construção de *primers* (FALEIRO, 2007).

Aragão et al. (2013) realizaram a caracterização molecular dos acessos estudados por Torres Filho et al. (2009) baseados em marcadores SSR e seguindo a classificação de Robinson e Decker-Walters (1997) confirmaram a grande variação entre os acessos. Yildiz et al. (2014) ao realizarem a caracterização morfológica e molecular de melões utilizando os marcadores SSR e ISSR notaram uma grande variação nas características dos melões turcos. Porém, os estudos dos melões da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro têm sido ainda bastante limitados, pois não se tem registro do uso de caracterização molecular considerando as subespécies e os respectivos grupos botânicos (PITRAT et al., 2000). Assim, é importante aprofundar os estudos da variabilidade existente entre os acessos da agricultura tradicional do nordeste brasileiro através da caracterização molecular.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo estimar a variabilidade genética entre e dentro de subacessos de melão da agricultura tradicional do Nordeste brasileiro usando o marcador ISSR.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram avaliados 26 subacessos (oriundos da variação dentro dos acessos) de melão (Tabela 1) provenientes da agricultura tradicional do estado do Maranhão, os quais estão armazenados no Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido em Petrolina-PE em câmara fria a 10 °C e 40% de umidade relativa. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação e no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agroindústria Tropical, localizada em Fortaleza-CE, no ano 2015.

**Tabela 1.** Dados de passaporte dos subacessos do BAG de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro.

<b>Subacesso</b>	<b>Subespécie</b>	<b>Variedade botânica</b>	<b>Município</b>
BGMEL 63.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Colinas
BGMEL 66.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas
BGMEL 67.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas
BGMEL 68.1	<i>agrestis</i>	<i>momordica</i>	Colinas
BGMEL 68.2	<i>agrestis</i>	ND	Colinas
BGMEL 68.3	ND	ND	Colinas
BGMEL 78.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Codó
BGMEL 79.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Itapecuru Mirim
BGMEL 86.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Codó
BGMEL 86.2	<i>agrestis</i>	ND	Codó
BGMEL 86.3	<i>melo</i>	ND	Codó
BGMEL 87.1	<i>agrestis</i>	<i>momordica</i>	São Luis Gonzaga do Maranhão
BGMEL 87.2	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	São Luis Gonzaga do Maranhão
BGMEL 87.3	ND	ND	São Luis Gonzaga do Maranhão
BGMEL 97.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Caxias
BGMEL 97.2	<i>melo</i>	ND	Caxias
BGMEL 101.0	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Caxias
BGMEL 103.1	<i>melo</i>	<i>cantalupensis</i>	Caxias
BGMEL 103.2	ND	ND	Caxias
BGMEL 108.1	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Caxias
BGMEL 108.2	<i>melo</i>	ND	Caxias
BGMEL 108.3	<i>agrestis</i>	ND	Caxias
BGMEL 108.4	ND	ND	Caxias
BGMEL 111.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas
BGMEL 112.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	Colinas
BGMEL 115.0	<i>agrestis</i>	<i>makuwa</i>	São Vicente Ferrer

ND= Não definida.

Foram semeadas 15 sementes da geração S<sub>2</sub> de cada um dos subacessos em bandejas preenchidas com substrato HS florestal e pó de fibra de coco na proporção 3:1. As mesmas foram mantidas em câmara úmida por um período de 24 h e logo após foram levadas para

casa de vegetação. Dez dias após a sementeira as mudas foram transplantadas para vasos de 300 mL preenchidos com HS florestal, húmus e areia 2:1:1 com oito repetições e uma planta por vaso. As plantas foram irrigadas sempre que necessário.

Quinze dias após o plantio foi realizada a coleta de uma folha jovem de cada repetição para a formação de um *bulk* de cada subacesso, totalizando 26 amostras as quais foram devidamente identificadas e armazenadas no ultra freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Durante o processo de coleta de folhas, foi formado um segundo *bulk* que igualmente também foi armazenado no ultra freezer, como medida de segurança e, em caso de não se necessitar, essas amostras poderão ser usadas em estudos futuros. Em seguida foi realizado o processo de extração do DNA do primeiro *bulk*.

O processo de extração foi realizado seguindo o protocolo proposto por Ferreira e Grattapaglia (1998) com algumas modificações. O tecido foliar de cada um dos subacessos foi macerado em  $\text{N}_2$  líquido e transferido para tubo *ependorf* de 2,0 ml, contendo 700  $\mu\text{l}$  de tampão CTAB 2% + PVP 1%, mais 1,2  $\mu\text{l}$  de  $\beta$ -mercaptoetanol (0,2%). Os tubos foram submetidos a banho-maria ( $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), por aproximadamente 30 minutos invertendo-os manualmente a cada 10 minutos, visando homogeneizar o material. Após esta fase em todos os tubos foram acrescentados 600  $\mu\text{l}$  de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1), invertendo os tubos 20 vezes por cinco minutos. Os tubos foram então centrifugados por cinco minutos a 13000 rpm. Em seguida o sobrenadante (cerca de 500 a 700  $\mu\text{l}$ ), foi pipetado e transferidos para novos *ependorfs* (1,5 ml), aos quais foram adicionados 2/3 (400  $\mu\text{l}$ ) do volume inicial de isopropanol. Os tubos foram vertidos cuidadosamente até a visualização do DNA. O material foi novamente centrifugado por 3 a 5 minutos a 6000 - 7000 rpm e mais uma vez retirado o sobrenadante. Após esta etapa, o *pellet* foi lavado duas vezes, com um ml de etanol 70%, deixando-o imerso por 5-10 minutos, a cada lavagem. Em seguida o etanol foi descartado e lavou-se o *pellet* com um ml de etanol 95% (ou absoluto) durante 2-3 minutos. Descartou-se o etanol e os *pellets* de DNA foram secos na câmara de fluxo laminar. O *pellet* foi ressuspensionado em 50  $\mu\text{l}$  de tampão TE (Tris-EDTA) + 1,2  $\mu\text{l}$  de RNase (100mg/ml) e incubados em banho-maria a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos para eliminação de RNA. O DNA obtido foi quantificado em *Nanodrop*, que determina a concentração e a pureza do DNA. Após a quantificação, o DNA foi diluído para uma concentração de 10  $\text{ng}/\mu\text{l}$  e visualizado em gel de agarose.

## Reações de amplificação, eletroforese e dados moleculares

Inicialmente, foram realizados testes de amplificação com 59 iniciadores ISSR (*Inter-simple sequence repeat*), utilizando o DNA de cinco subacessos (BGMEL 68.1, BGMEL 79.0, BGMEL 86.1, BGMEL 86.3 e BGMEL 108.3). Desses, foram selecionados os iniciadores que apresentaram os melhores resultados quanto à amplificação em termos de polimorfismo.

As reações de amplificação do DNA vegetal foram obtidas para um volume de 15 µl; os reagentes foram misturados na forma de coquetel, separadamente do DNA genômico. Cada reação continha 1x de tampão PCR (10 mM Tris-HCl pH 8,3 e 50 mM KCl); 4,0 mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,2 mM de dNTPs; 0,8 µM do iniciador; 30 ng de DNA genômico; uma unidade de Taq DNA polimerase e água ultrapura estéril foi usada para completar o volume da reação.

O processo de amplificação do DNA realizado no termociclador consiste de cinco minutos a 94 °C para desnaturação inicial do DNA, seguido por 40 ciclos de amplificação, sendo que cada ciclo foi composto por um minuto a 94 °C (desnaturação do DNA), um minuto à temperatura de anelamento do iniciador e um minuto a 72 °C (amplificação do DNA). Em seguida, um ciclo final de extensão com duração de cinco minutos a 72 °C.

Após a amplificação os produtos foram separados por eletroforese em gel de agarose (1,8%) corados com brometo de etídeo (10 µl/ml) e submetidos a 120 volts por 2:30 horas. Em seguida, os géis foram visualizados sob luz UV e fotografados em um fotodocumentador. A partir da fotografia dos géis foram obtidos os dados moleculares. O polimorfismo foi observado de acordo com a presença ou ausência das bandas em cada loco. A contagem das bandas foi obtida com o auxílio do programa Gelcompar (Applied Maths NV).

A matriz de distâncias genéticas foi construída utilizando-se o complemento aritmético do coeficiente de Jaccard. O dendrograma foi construído pelo método de agrupamento da ligação média não ponderada (UPGMA) (CRUZ E CARNEIRO, 2003). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Genes (CRUZ, 2013).

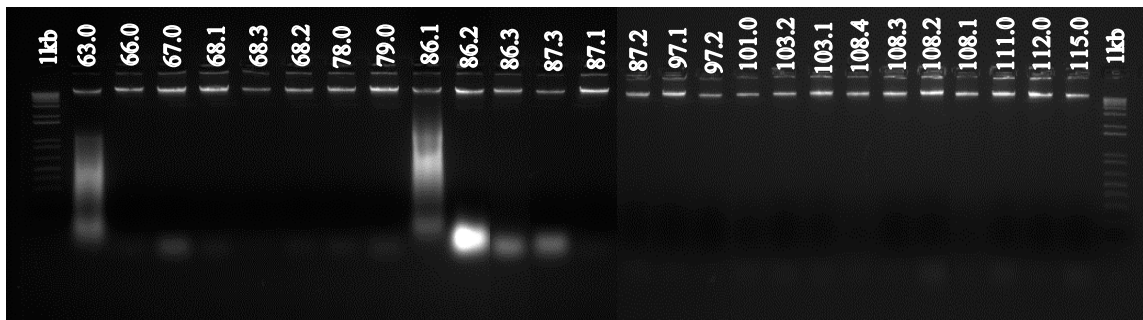
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantidade do DNA extraído gerou fragmentos de boa qualidade e foram suficientes para a realização de todas as reações (Figura 1). A diversidade genética dos 26 subacessos de melão foi analisada com 28 *primers* previamente selecionados entre 59 *primers* testados, obtendo um total de 327 bandas, com 63,91% de polimorfismo; as temperaturas de anelamento variaram de 41,1 °C a 50,7 °C (Tabela 2). Aragão et al. (2013) observaram polimorfismo em 17 *primers* SSR dentre os 25 testados. Silva et al. (2012) ao estudarem sobre diversidade genética de 281 acessos de melancia e dois de melão notaram polimorfismo em 11 *primers* ISSR entre os 47 testados. O perfil de amplificação dos *primers* I815 e I849 respectivamente em todos os subacessos de melão está demonstrado nas Figuras 2A e 2B.

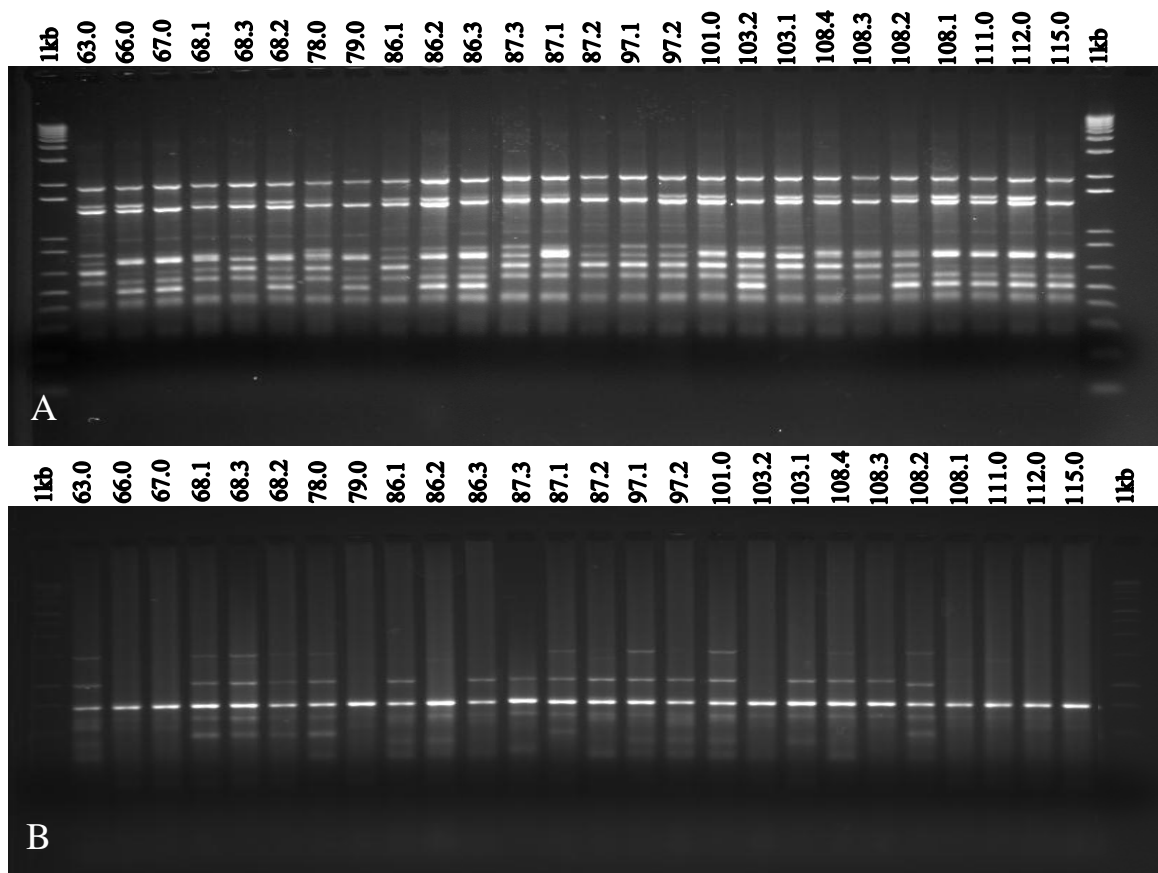
**Tabela 2.** Relação de *primers* ISSR que amplificaram o DNA dos subacessos de melão.

PRIMERS	TEMPERATURA DE ANELAMENTO °C	TOTAL DE BANDAS POLIMÓRFICAS	TOTAL DE BANDAS	POLIMORFISMO (%)
I 811	46,0	8	17	47,05
I 815	41,8	7	13	53,84
I 823	47,1	9	12	75,00
I 824	43,5	5	5	100,00
I 825	46,4	7	12	58,33
I 826	47,7	6	10	60,00
I 834	44,2	2	7	28,57
I 835	45,2	12	16	75,00
I 840	42,4	4	7	57,14
I 841	43,5	12	14	85,71
I 843	46,0	7	12	58,33
I 844	47,6	6	8	75,00
I 845	47,1	4	8	50,00
I 848	47,7	3	9	33,33
I 849	50,4	7	8	87,50
I 852	48,1	6	8	75,00
I 854	45,2	7	9	77,77
I 855	48,1	14	21	66,66
I 856	47,7	5	8	62,50
I 857	48,1	10	13	76,92
I 859	49,5	12	17	70,58
I 860	48,1	9	13	69,23

I 864	42,6	3	6	50,00
I 866	50,7	10	16	62,50
I 873	42,4	7	15	46,66
I 880	43,1	11	14	78,57
I 884	41,1	7	10	70,00
I 888	47,3	9	19	47,36
<b>Total</b>		209	327	



**Figura 1:** Fragmentos de DNA extraídos por meio do protocolo de Ferreira e Grattapaglia (1998) e visualizados em gel de eletroforese 1,8 % de agarose.



**Figura 2.** Padrão molecular do *primer* A=I815 e B= I849 na amplificação do DNA dos subcessos de melão por meio do marcador ISSR.

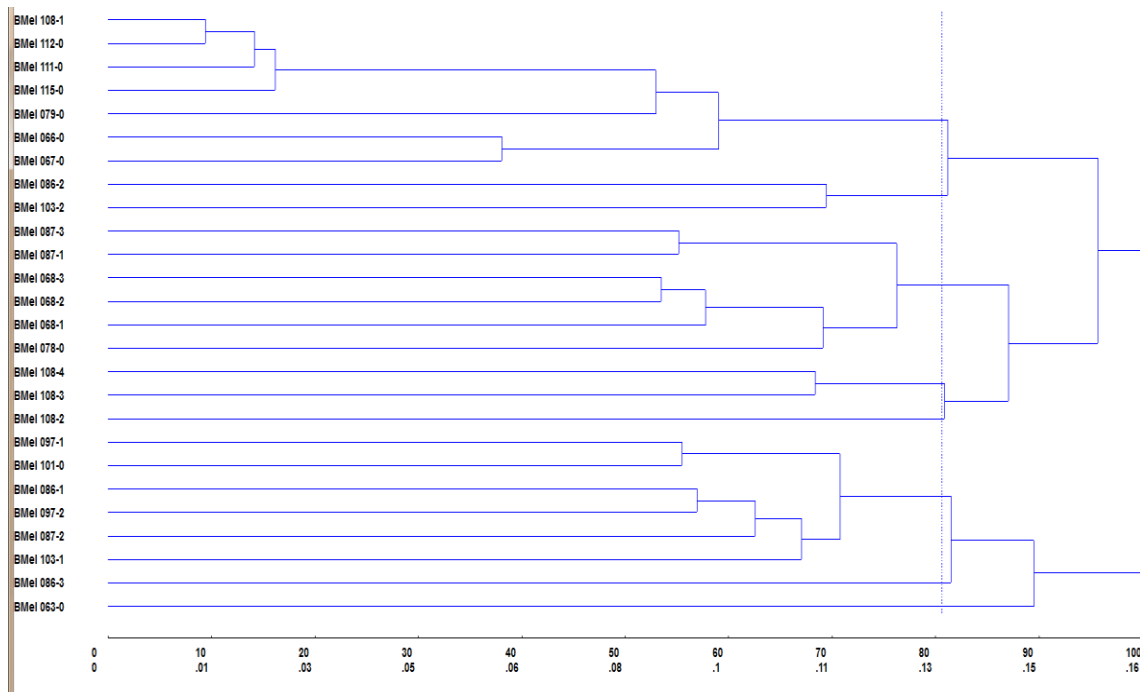
Analisando a variação molecular (AMOVA) foi observada uma variabilidade genética de 9,49% entre as regiões de coleta dos subacessos e 90,5% dentro das regiões, demonstrando ampla variabilidade nos subacessos estudados (Tabela 3). Silva (2004) em seu estudo de caracterização molecular de acessos de melancia utilizando RAPD observou uma variabilidade genética de 46,3% dentro das regiões de coleta dos acessos e 29%, entre as regiões, corroborando com os dados dessa pesquisa. A alta variação observada dentro das regiões é indicativa de que houve introgressão de caracteres entre as diferentes subespécies e grupos botânicos e que o manejo das sementes de diferentes tipos de melões pelos agricultores familiares possa ter contribuído para que polinizações cruzadas entre diferentes subespécies e grupos botânicos ocorressem, uma vez que não existe barreira para cruzamentos entre diferentes variedades botânicas (DECKER-WALTERS et al., 2002). A permuta de sementes entre os agricultores familiares é bastante comum, portanto, pode ter ocorrido também mistura de sementes através do processo de troca de germoplasma.

**Tabela 3:** Análise de variância molecular de subacessos de melão do BAG de Cucurbitáceas para o nordeste brasileiro.

Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Componentes da variância	Porcentagem de variação
Entre municípios	3	134,2361	2,9484	9,49
Dentro do município	20	562,3889	28,1194	90,50
Total	23	696,625	31,0679	

Com base em locos ISSR os dados formaram oito grupos utilizando o método UPGMA (Figura 3). O coeficiente de correlação cofenético observado foi de 0,82, indicando uma boa consistência (CRUZ e CARNEIRO, 2003). O grupo I foi constituído pelos subacessos BGME1 108.1, BGME1 112.0, BGME1 111.0, BGME1 115.0, BGME1 79.0, BGME1 66.0 e BGME1 67.0 todos da subespécie *agrestis* variedade *makuwa*. No grupo II ficaram os subacessos BGME1 86.2 subespécie *agrestis* e variedade não definida e BGME1 103.2 indefinido quanto à subespécie e à variedade botânica. O grupo III foi composto pelos subacessos BGME1 68.1, BGME1 87.1 subespécie *agrestis* variedade *momordica*, BGME1 87.3, BGME1 68.3 indefinidos quanto à subespécie e variedade botânica, porém ambos com características de *momordica*, BGME1 68.2 subespécie *agrestis* e variedade botânica indefinida, e BGME1 78.0 subespécie *melo* variedade *cantalupensis*. Apenas dois

subacessos compõem o grupo IV BGMEL 108.4 indefinidos quanto a subespécie e a variedade botânica e BGMEL 108.3 subespécie *agrestis* variedade não definida, porem com características da variedade *acidulos*. O grupo V BGMEL 108.2 subespécie *melo* variedade indefinida, mas com características de *inodorus*. O grupo VI, BGMEL 97.1, BGMEL 101.0, BGMEL 86.1, BGMEL 97. 2, BGMEL 87.2 e BGMEL103.1 todos da subespécie *melo* e predominância da variedade *cantalupensis*, com exceção do subacesso BGMEL 97.2 indefinido quanto à variedade botânica, mas apresentou características da variedade *chito*. O grupo VII BGMEL 86.3 subespécie *melo* variedade indefinida, porem com características de *reticulatus* e o grupo VIII BGMEL 63.0 subespécie *melo* variedade *cantalupensis*.

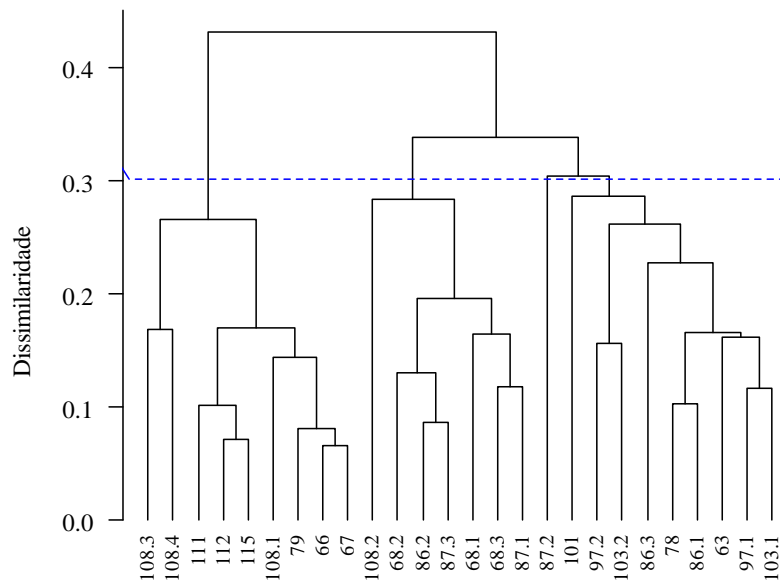


**Figura 3:** Agrupamento dos subacessos utilizando o marcador ISSR.

Comparando com os dados morfológicos observou-se que os subacessos com base em locos ISSR ficaram distribuídos em um maior número de grupos (Figuras 3 e 4). Entretanto, alguns grupos coincidiram com o agrupamento realizado a partir dos dados morfológicos. Assim, no primeiro grupo dos dados morfológicos foi possível distinguir dois subgrupos: o primeiro (BGMEL 108.3 e BGMEL 108.4) coincidiu com o grupo IV dos dados moleculares e o segundo (BGMEL 111.0, BGMEL 112.0, BGMEL 115.0, BGMEL 108.1, BGMEL79.0, BGMEL 66.0 e BGMEL 67.0) está de acordo com o grupo I. O grupo II (BGMEL 86.2 e BGMEL 103.2) dos dados moleculares ficou em grupos diferentes no agrupamento



morfológico. Já no grupo III ficou alocado apenas um subacesso diferente daqueles do agrupamento morfológico, o subacesso 78.0. O grupo V composto por apenas um subacesso (BGMEL 108.2) estava agrupado nos dados morfológicos junto com os subacessos do grupo III. No entanto, os subacessos agrupados nos grupos VI, VII e VIII estavam alocados em um mesmo grupo de acordo com os dados morfológicos, com exceção apenas do subacesso 87.2 que havia formado um grupo separadamente dos demais.



**Figura 4:** Agrupamento dos subacessos com base nos dados morfológicos.

Assim, verifica-se uma razoável concordância no agrupamento dos subacessos quanto à subespécie e a variedade botânica, quando definida, uma vez que, nos grupos I, II, III e IV houve uma predominância da subespécie *agrestis* com exceção, apenas do subacesso BGMEL 78.0 que pertence à subespécie *melo* e os subacessos não definidos BGMEL 103.2, 87.3, 68.3 e 108.4. Já nos grupos V, VI, VII e VIII todos os subacessos são da subespécie *melo*.

Aragão et al. (2013) não observaram associação entre o a formação dos grupos e a classificação botânica. Porém vale ressaltar que os autores seguiram a classificação de Robinson e Decker-Walters (1997), onde os mesmos consideram apenas seis grupos botânicos para a espécie de melão (*cantalupensis*, *inodorus*, *conomom*, *dudaim*, *flexuosus* e *momordica*). Roy et al. (2012) analisaram a diversidade nos melões silvestres da Índia utilizando SSR e observaram uma clara diferenciação genética entre os acessos de melão silvestres do norte da Índia e os melões do sul e leste da Índia. Dhillon et al. (2007) observaram grande variação genética entre o germoplasma indiano da variedade *momordica* com base em marcadores RAPD. Silva et al. (2012) relatam que os marcadores ISSR foram

eficientes na diferenciação dos acessos de melancia e melão, revelando alto nível de polimorfismo entre os acessos estudados.

## CONCLUSÕES

- O marcador ISSR revela variabilidade genética dentro e entre os subacessos cultivados na agricultura tradicional.
- Existe semelhança entre os agrupamentos dos dados moleculares com os morfológicos, sendo que a caracterização molecular foi mais precisa na separação dos grupos.

## REFERÊNCIAS

AGRIANAUL. **Anuário da agricultura brasileira. Cultura do melão.** 2014.

ARAGÃO, F. A. S. et al. Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n.4, p. 6356-6371, 2013.

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

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

DECKER-WALTERS, D.S. et al. The origin and genetic affinities of wild populations of melon (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae) in North America. **Plant Systematics and Evolution**, v. 233, p. 183–197, 2002.

DHILLON, N.P.S. et al. 2007. Diversity among landraces of Indian snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). **Genetic Resources and Crop Evolution**. v 54, p. 1267–1283, 2007.

FALEIRO, F. **Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FERREIRA, M. E., GRATTAPAGLIA. D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ªed. Brasília: EMBRAPA - CENARGEN. 1998, 220p.

GELCOMPAR II versão 5.0 (Applied Maths NV, Sint-Martens-Latem, Belgium)

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção agrícola municipal**. Brasília: IBGE, 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 08 out. 2013.

PITRAT, M.; HANELT. P.; HAMMER K. Some comments on interspecific classification of cultivars of melon. **Acta Horticulturae**, v. 510, p. 29-36, 2000.

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

QUEIRÓZ, M. A. Germplasm of Cucurbitaceae in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v 4, p. 377-383. 2004.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS. D.S. **Cucurbits**. CAB International. Oxon (GB). 226p.,1997.

ROY A. et al. Wild melon diversity in India (Punjab State). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v 59, p. 755–767, 2012.

SANTOS, A. S. **Reação de acessos de melão do BAG de cucurbitáceas para o nordeste brasileiro ao oídio**. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia:Horticultura Irrigada) – Universidade do Estado da Bahia (UNEB). 2011.

SANTOS, S. S. **Diversidade genética entre e dentro de acessos de melão da agricultura tradicional do Estado do Maranhão**. 55 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, 2015.

SILVA, M. L. et al. Caracterização molecular de acessos de melancia do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, v 30, p. 4445-4451, 2012.

SILVA M. L. **Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia**[*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]. Dissertação (Mestrado em Genética)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

TORRES FILHO, J. et al. Caracterização morfológica de acessos de meloeiro coletados no nordeste brasileiro. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p.174-181, 2009.

WILLIAMS, J. G. K. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p. 6531-6535, 1990.

YILDIZ M., AKGUL N., SENSOY S. Morphological and Molecular Characterization of Turkish Landraces of Cucumis melo L. **Not Bot Horti Agrobo**, v. 42, n. 1, p. 51-58, 2014.

## CONCLUSÃO GERAL

- Existe uma grande variabilidade entre e dentro da amostra de acessos e subacessos de meloeiro do banco de germoplasma de melão proveniente da agricultura familiar da região Nordeste do Brasil.
- Há indicativo de que ocorreu a introgressão de caracteres das duas subespécies de melão e dos diferentes grupos botânicos no germoplasma cultivado pelos pequenos agricultores.
- Existe uma razoável concordância entre os agrupamentos dos dados moleculares com os morfológicos, sendo que a caracterização molecular foi mais precisa na separação dos grupos.

# **Anexo**

**Tabela 1:** Comparação entre os agrupamentos dos dados morfológicos e moleculares.

DADOS MORFOLÓGICOS			DADOS MOLECULARES			
GRUPO	SUBESPECIE	VARIEDADE	GRUPO	SUBESPECIE	VARIEDADE	
I	108.3	A. ND ( <i>acid.</i> )	I	108.1	A. MAK	
	108.4	ND		112.0	A. MAK	
	111.0	A. MAK		111.0	A. MAK	
	112.0	A. MAK		115.0	A. MAK	
	115.0	A. MAK		79.0	A. MAK	
	108.1	A. MAK		66.0	A. MAK	
	79.0	A. MAK		67.0	A. MAK	
	66.0	A. MAK		II	86.2	A. ND
	67.0	A. MAK			103.2	ND ( <i>cant.</i> )
II	108.2	M. ND ( <i>inod.</i> )	III	87.3	ND ( <i>mo.</i> )	
	68.2	A. ND		87.1	A. MO	
	86.2	A. ND		68.3	ND ( <i>mo.</i> )	
	87.3	ND ( <i>mo.</i> )		68.2	A. ND	
	68.1	A. MO		68.1	A. MO	
	68.3	ND ( <i>mo.</i> )		78.0	M. CANT	
	87.1	A. MO		IV	108.4	ND
87.2	M. CANT	108.3	A. ND ( <i>acid.</i> )			
II	87.2	M. CANT	V	108.2	M. ND ( <i>inod.</i> )	
IV	101.0	M. CANT	VI	97.1	M. CANT	
	97.2	M. ND ( <i>chito</i> )		101.0	M. CANT	
	103.2	ND ( <i>cant.</i> )		86.1	M. CANT	
	86.3	M. ND ( <i>ret.</i> )		97.2	M. ND ( <i>chito</i> )	
	78.0	M. CANT		87.2	M. CANT	
	86.1	M. CANT		103.1	M. CANT	
	63.0	M. CANT		VII	86.3	M. ND
	97.1	M. CANT			VIII	63.0
	103.1	M. CANT				