

MARIA LUCIENE DA SILVA

Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Abilio de Queiróz
Depto. de Tecnologia e Ciências Sociais, UNEB

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

**PARECER DA COMISSÃO EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO DE**

MARIA LUCIENE DA SILVA

**“Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de melancia [*Citrullus lanatus*
(Thunb.) Matsum & Nakai]”**

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: GENÉTICA

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro, considera a candidata MARIA LUCIENE DA SILVA aprovada.

Recife, 05 de março de 2004.

Prof. Manoel Abilio de Queiróz (PhD, UNEB)

Prof^a. Ana Maria Beenko-Iseppon (PhD, UFPE)

Prof^a. Luiza Suely Semen Martins (PhD, UFRPE)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre comigo em todos os momentos de minha vida.

A minha família, especialmente à minha mãe e irmãs Ana, Luciana e Andréa, pelo amor, carinho e incentivos em todas as fases de minha vida.

Aos meus cunhados Cláudio e Jerônimo e sobrinhos, Yan, Ygor, Jéssica, João Victor e Jayana, pelo carinho e incentivos.

Ao Prof. Dr. Manoel Abílio de Queiroz pela orientação, amizade, incentivo e forma de transmitir conhecimentos, o que possibilitou compreender o conceito de ORIENTADOR.

A Dra. Maria Aldete Justiniano da Fonseca Ferreira, pela relevante ajuda nas análises estatísticas e grande apoio nas análises moleculares e genéticas desse trabalho. O apoio e a amizade foram fundamentais para a conclusão desse estudo. Minha admiração e respeito a esta *Pesquisadora*.

Ao Dr. Carlos Antônio F. Santos da Embrapa Semi-Árido (CPATSA) por disponibilizar o Laboratório de Genética, assim como, pelo apoio e sugestões que ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Semi-Árido, especialmente, ao Hélio e ao Cícero da Estação Experimental de Bebedouro pela relevante ajuda e ensinamentos para o desenvolvimento dos trabalhos de campo.

A grande amiga Clébia, por todo apoio nas horas difíceis, pelos momentos vivenciados e especialmente por poder ter contado sempre com seu ombro amigo.

Ao amigo Paulo Petrônio a quem também dedico este trabalho, por ter me incentivado a ingressar no curso e por me fazer crer em verdadeiras amizades.

A todos colegas e amigos conquistados, principalmente, Magno Souza e Lindomar M. Silveira, pelo apoio durante minha permanência em Petrolina-PE.

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Genética e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq).

Ao grupo do Laboratório de Genética Molecular Humana da UFPE, principalmente, ao Prof. Dr. Luiz Maurício, Edilene Dellalibera e Glória Raposo, por possibilitarem treinamentos

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

prévios em análise molecular, o que foi de grande importância para aprofundar os conhecimentos.

Ao grupo do Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal da UFPE nas pessoas da Prof. Dra. Ana Benko- Issepon, Dr. Reginaldo e Claudete, por colocarem à disposição seus preciosos tempos e o laboratório para realização das análises moleculares.

Ao Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, principalmente à Dra. Gláucia S. C. Buso, pelo apoio.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha família, principalmente a minha mãe, e às minhas irmãs Ana, Luciana e Andréa, pelo carinho, amor e por compreenderem que muitas vezes para alcançarmos nossos objetivos a ausência se faz presente.

Dedico

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIACÕES.....	9
RESUMO.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 A FAMÍLIA CUCURBITACEAE.....	14
2.1.1 Botânica.....	14
2.1.2 Origem e Distribuição.....	14
2.1.3 Importância Econômica das Cucurbitáceas.....	15
2.2 RECURSOS GENÉTICOS DA MELANCIA.....	16
2.2.1 O Gênero <i>Citrullus</i>	16
2.2.2 Importância Econômica.....	17
2.2.3 Origem, centro de diversificação e conservação da melancia.....	18
2.2.4 O Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas.....	18
2.3 IMPORTÂNCIA DA CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GERMOPLASMA.....	21
2.3.1 Análises moleculares aplicadas à caracterização de germoplasma de melancia.....	23
2.4 BIBLIOGRAFIA CITADA.....	27
3. MANUSCRITO 1: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE MELANCIA COLETADOS EM TRÊS REGIÕES DA BAHIA.....	33
3.1 RESUMO.....	34
3.2 ABSTRACT.....	35
3.3 INTRODUÇÃO.....	36
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.6 AGRADECIMENTOS.....	47
3.7 LITERATURA CITADA.....	47
4. ABSTRACT.....	61
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	62
6. ANEXOS.....	63

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

6.1 INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY	64
6.2 INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA HORTICULTURA BRASILEIRA....	67

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Descritores morfológicos para melancia. Observa-se variabilidade genética dos acessos coletados na agricultura tradicional quanto à cor externa (a, b, c, d.), padrão de listras (b, e), formato do fruto (a, b, e, f) e cor da polpa (e, f)..... **51**
- Figura 2 .** Padrão de amplificação de DNA de acessos de melancia, coletados em diferentes regiões do estado da Bahia, obtido com o *primer* OPO-02. (a) repetições de acessos da Chapada Diamantina; (b) repetições de acessos do município de Irecê; (c) repetições de acessos coletados em Vitória da Conquista. Primeira e última amostra de cada gel refere-se a marcadores de peso molecular de 1 kb..... **52**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Origem e código de entrada no BAG dos acessos utilizados nos experimentos de caracterização morfológica e molecular de melancia.....	53
Tabela 2. Médias das características comprimento do ramo principal (CR), diâmetro do ramo principal (DR), número de ramos (NR), produção por planta (PP), número de frutos por planta (NF), peso do fruto (PF), diâmetro transversal do fruto (DT), diâmetro longitudinal do fruto (DL) e formato do fruto (FF) de 43 acessos de melancia conservados no BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido.....	54
Tabela 3. Médias de características de fruto obtidas de 43 acessos de melancia para Espessura da casca na região do pedúnculo (ECP), Espessura da casca na região da inflorescência (ECI), Espessura da casca na região distal (ECD), Espessura da casca na região do proximal do solo (ECS), Cor da polpa (CP), Cor externa do fruto (CF), Padrão de listras (PL), Teor de sólidos solúveis (TS) conservados no BAG de cucurbitáceas.....	56
Tabela 4. Grupos de similaridade entre 42 acessos de melancia determinados pelo método de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis.....	57
Tabela 5. Contribuição relativa, em percentagem, de treze características de melancia para a divergência genética em acessos coletados no estado da Bahia.....	58
Tabela 6. <i>Primers</i> e suas respectivas seqüências utilizadas na avaliação de acessos de melancia mostrando número de bandas polimórficas, monomórficas e número de amplificons....	58
Tabela 7. Grupos de similaridade entre 41 acessos e uma cultivar comercial (Crimson Sweet) de melancia determinados pelo método de Tocher a partir de coeficientes de similaridade de Jaccard.....	59
Tabela 8. Percentagem de locos polimórficos de acessos <i>C. lanatus</i> do BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido.....	60

LISTA DE ABREVIações

AMOVA = Análises de Variância Molecular

BAG = Banco Ativo de Germoplasma

CF = Comprimento do Fruto

CP = Cor da Polpa

CR = Comprimento do Ramo Principal

DL = Diâmetro Longitudinal do Fruto

DNA = Ácido Desoxirribonucléico

DR = Diâmetro do Ramo Principal

DT = Diâmetro Transversal do Fruto

ECI = Espessura da Casca na Região da Inflorescência

ECP = Espessura da Casca na Região do Pedúnculo

ECS = Espessura da Casca na Região Proximal do Solo

ECD = Espessura da Casca na Região Distal

PL = Padrão de Listra

PCR = Reação em Cadeia da Polimerase

RFLP = Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição

RAPD = Polimorfismo do DNA Amplificado ao Acaso

SSR = Repetição de Sequência Simples

TS = Teor de Sólidos Solúveis

UPGMA = Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average

RESUMO

A variabilidade genética de acessos de melancia coletados em diferentes regiões do estado da Bahia e que está sendo conservada no Banco de Germoplasma da Embrapa Semi-Árido, foi avaliada a partir de dados morfológicos e moleculares (RAPD – *Random Amplified Polymorphysm of DNA*; Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso). Na análise foram utilizados dezessete descritores morfológicos e 64 locos RAPD (monomórficos e polimórficos). Para avaliação morfológica os 43 acessos foram avaliados em campo em delineamento em blocos ao acaso com três repetições e para análise molecular foram utilizados os mesmos acessos com repetições, totalizando 324 indivíduos. Os dados morfológicos foram submetidos a análises estatísticas, sendo realizados testes entre médias com nível de significância de 5% pelo método de Tukey e análises multivariadas envolvendo estimativas da distância generalizada de Mahalanobis e agrupamento pelo método de Tocher. A análise molecular permitiu a identificação de grupos de similaridade pelo método de Tocher a partir do coeficiente de similaridade de Jaccard. A porcentagem de locos polimórficos, assim como a variabilidade genética entre acessos, foi estimada. Os dados morfológicos revelaram dez grupos distintos, encontrando-se no grupo I acessos coletados em diferentes regiões. Nove características contribuíram com 85% para a divergência genética entre acessos. A análise molecular revelou 28 grupos, sendo alguns casos coincidentes com o agrupamento morfológico quanto à distribuição dos acessos nos grupos. A variância molecular indicou 46,3% de variabilidade genética dentro de acessos coletados numa mesma região e 24,6% entre acessos de regiões distintas. Ambos resultados indicam a existência de variabilidade genética dentro e entre acessos coletados em diferentes regiões da Bahia. Portanto, a associação de dados morfológicos a marcadores moleculares constitui-se em importante ferramenta na caracterização de acessos do Banco Ativo de Gemoplasma de melancia.

1. INTRODUÇÃO

A melancia [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] pertence à família das cucurbitáceas, sendo bastante explorada em diversos países do mundo como China, Índia, Itália e Estados Unidos (Mohr, 1986), contudo a variedade americana ‘Crimson Sweet’ é a mais cultivada no Brasil.

O registro mais antigo da melancia no Brasil foi realizado por Franz Post e Albert Eckhout, os mais importantes artistas da corte de Nassau (1637-1644), durante o domínio holandês. Seus iconográficos, representados por telas e tapeçarias de paisagens, frutas brasileiras nativas e introduzidas, bem como naturezas mortas, mostraram a presença da melancia no Estado de Pernambuco, principalmente em Olinda (Romão, 1995). No entanto, a tela de Albert Eckhout que registra frutos e ramas de melancia é uma das fortes evidências de que a melancia veio da África com os escravos, pois grande parte deles eram agricultores e trouxeram suas sementes. As sementes foram plantadas em pequenas áreas junto às senzalas e formaram frutos que chamaram a atenção do pintor holandês. Segundo Romão (1995), as espécies do gênero *Citrullus* foram introduzidas pelos escravos africanos durante o período de tráfico negreiro, tornando-se importantes e dispersando-se pelos Estados do Nordeste brasileiro, concentrando-se, principalmente, nos estados do Piauí e da Bahia, com a produção destinada aos mercados locais.

Uma segunda introdução ocorreu na década de 50 no município de Americana no estado de São Paulo, a partir de cultivares melhoradas nos Estados Unidos e no Japão (Costa e Pinto, 1977), levando ao estabelecimento de cultivos comerciais que se espalharam para diferentes regiões do Brasil, chegando ao Nordeste na década de 70. No Brasil, o cultivo da melancia vem se expandindo, com áreas de produção em vários Estados brasileiros, sendo reconhecidos quatro pólos de produção (Nordeste, Centro-Oeste, São Paulo e Sul do país). O Nordeste brasileiro se destaca como a maior região produtora, onde a espécie vem sendo cultivada tanto na agricultura de sequeiro por pequenos agricultores, quanto na agricultura irrigada (Queiroz, 1993). Em 2000/2001 a produção brasileira foi de 1.449.592 toneladas, com área de 79.000 ha, participando com 4,01% na produção total de hortaliças produzidas no país (IBGE, 2001).

Vale salientar que as cultivares melhoradas não foram desenvolvidas para as condições ambientais do Brasil, principalmente as existentes no semi-árido nordestino, apresentando alta suscetibilidade a vários patógenos, como por exemplo o oídio, doença provocada pelo fungo *Sphaerotheca fuliginea*, que causa desfolhamento das plantas na fase final do ciclo (Borges, 1996; Vilela *et al.*, 2001).

A variabilidade genética oriunda da África, submetida ao manejo da cultura na agricultura tradicional da região, fez do Nordeste brasileiro um centro de diversificação para a melancia, onde é observada ampla variabilidade genética com potencial para utilização em programas de melhoramento (Romão, 1995). No entanto, existem riscos de perda desta variabilidade, principalmente, pela substituição das variedades locais por genótipos melhorados e pelo êxodo rural, dentre outros fatores (Queiroz, 1993; Queiroz *et al.*, 1996).

No final da década de 80 foi iniciada, no Nordeste brasileiro, uma coleta de acessos de melancia da agricultura tradicional. Como consequência, o BAG (Banco Ativo de Germoplasma) da Embrapa Semi-Árido conta com cerca de 570 acessos de melancia (Queiroz *et al.*, 1996) que vêm sendo utilizados para identificação de caracteres agronômicos de interesse, inclusive resistência a doenças (Romão 1995; Borges 1996; Dias *et al.*, 1996; Ferreira 1996; 2000). Parte dos acessos coletados foram multiplicados e caracterizados morfológicamente (Romão, 1995). Contudo, os acessos coletados na agricultura tradicional podem apresentar duplicatas, uma vez que os agricultores realizam intensa permuta de sementes (Romão, 1995). Desta forma, a determinação e a seleção de descritores morfológicos são ações necessárias para efetiva caracterização de acessos do BAG. Nos estudos de Romão (1995) foram identificados alguns descritores morfológicos que discriminaram os acessos avaliados, embora não tenham fornecido informações sobre possíveis duplicatas nas amostras analisadas.

Posteriormente, Assis (2000) estudou a mesma amostra de Romão (1995), à qual juntou mais seis acessos de melancia forrageira (*Citrullus lanatus* var. *citroides*) utilizando marcadores bioquímicos. Apesar de alguns sistemas enzimáticos terem apresentado polimorfismo, a discriminação entre acessos foi inferior à discriminação morfológica, pois apenas se detectou diferenças entre os acessos de *C. lanatus* e os acessos de *C. lanatus* var. *citroides*, não diferenciando acessos dentro das espécies. Isto pode ser explicado porque os descritores morfológicos e bioquímicos sofrem influência do ambiente, principalmente aqueles controlados por muitos genes, sendo por essa razão bem mais limitados na discriminação de acessos do que os marcadores moleculares (Ferreira e Grattapaglia, 1996).

Os marcadores moleculares, como RAPD, são baseados na reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*; reação em cadeia da polimerase) em que seqüências de DNA genômico são amplificadas ao acaso a partir de iniciadores de seqüências arbitrárias (Williams *et al.*, 1990). Apesar do caráter dominante (não diferenciam entre heterozigotos de homozigotos), o RAPD é polimórfico e de menor custo quando comparado com outros marcadores, apresentando menor número de etapas e, conseqüentemente, consumindo menos tempo para obtenção dos resultados. Além disto, é de mais fácil implementação, podendo ser utilizado para auxiliar na caracterização

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

da variabilidade genética de acessos de bancos de germoplasma (Ferreira e Grattapaglia, 1996; Lee *et al.*, 1996).

O presente trabalho objetivou caracterizar morfológica e molecularmente 43 acessos de melancia pertencentes ao BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido, com a finalidade de comparar os dois métodos no que tange ao potencial para descrever a variabilidade genética existente entre acessos de melancia.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A FAMÍLIA CUCURBITACEAE

2.1.1 Botânica

A família Cucurbitaceae é constituída por 120 gêneros e 820 espécies, as quais se encontram divididas em duas subfamílias a Cucurbitoideae e a Zanonioideae, ambas encontradas amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do Velho e do Novo Mundo, pertencendo a maioria das espécies à grande subfamília Cucurbitoidae (Barroso, 1978; Josbt *et al.*, 1998). No Brasil, encontra-se representada por cerca de 30 gêneros e 200 espécies (Barroso, 1978). Segundo Esquinas-Alcazar e Gulick (1983) a família contribui com cerca de 30 espécies e 9 gêneros para o cultivo, incluindo jerimuns (*Cucurbita* spp.), melancia (*Citrulus* spp.), pepino e melão (*Cucumis* spp.).

A família Cucurbitaceae está classificada dentro da divisão Magnoliophyta (Spermatophyta), classe Magnoliopsida (ou Campanulales), subclasse Dilleniidae (ou Dicotyledonae), ordem Violales (Barroso, 1978; Josbt *et al.*, 1998).

Barroso (1978) descreveu as principais características da família Cucurbitaceae. As plantas são caracterizadas como ervas anuais ou perenes, subarbustos escandentes ou prostrados, com ou sem gavinhas. As gavinhas são simples ou ramificadas sendo originadas de modificações dos ramos, ao passo que as folhas são alternas, simples ou lobadas. As flores são perfeitas ou unissexuadas, com plantas monóicas, dióicas ou ainda andromonóicas, isoladas ou ordenadas em racemos, espigas, fascículos ou panículas. A flor feminina apresenta hipânquio geralmente alongado, ovário ínfero, tricarpetal, unilocular ou dividido em falsos lóculos pela intrusão de placentas parietais. As flores masculinas contêm cinco estames livres entre si com ou sem estaminódios. O número de estames e a sua disposição, constituem caráter de valor na sistemática das cucurbitáceas.

2.1.2 Origem e Distribuição Geográfica

Diferentes cucurbitáceas são cultivadas e comercializadas em várias regiões do globo, como América do Norte, América do Sul, Norte da Ásia, Sul da Europa, Ásia Tropical e Temperada, ocupando lugar de destaque entre as hortaliças mais cultivadas (Saturnino *et al.*,

1982), apresentando, assim, ampla ocorrência e distribuição. A abobrinha (*Cucurbita pepo* L., $2n = 40$), por exemplo, tem sua origem no norte do México e na região Oeste dos Estados Unidos. A abóbora (*C. moschata* Duch., $2n = 40$) é uma espécie importante na América Tropical devido à área em que se expandiu e pela variabilidade genética, tendo como centro de diversidade a América Central e o México, ao passo que a moranga (*C. maxima* Duch., $2n = 40$) é de origem Sul Americana, onde já era cultivada na época pré-colombiana, constituindo-se numa das mais antigas espécies cultivadas. O melão (*Cucumis melo* L., $2n = 24$) é de origem africana, porém a origem dos melões selvagens do Novo Mundo tem sido questionada, uma vez que as descrições iniciais foram realizadas por Charles Naudin no início do século dezenove e que essas populações representam, tipicamente, formas escapadas das variedades cultivadas que usualmente são classificadas como var. *chito* ou var. *dudaim*, mas ocasionalmente como var. *agrestis* (Decker-Walters *et al.*, 2002). O pepino (*C. sativus* L., $2n = 14$) por sua vez, tem origem mais provável na Índia. A origem da melancia (*C. lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai, $2n = 22$) é africana, sendo encontrada na Índia e no Brasil grande variabilidade da espécie (Romão, 1995; Josbt *et al.*, 1998).

2.1.3 Importância econômica das cucurbitáceas

No Nordeste brasileiro encontram-se vários representantes da família cucurbitácea (melancia cultivada e melancia forrageira; abóbora; melão e pepino; cabaça e bucha) introduzidos, tanto em tempos remotos (tráfico de escravos) como em tempos mais recentes (a partir de cultivares melhoradas), os quais são cultivados até hoje na agricultura de sequeiro, em pequenos estabelecimentos agrícolas (Yokoyama, 1987; Queiroz, 1993). As cultivares comerciais, principalmente ‘Crimson Sweet’ (melancia), ‘Amarelo’ (melão) e ‘Jacarezinho’ (abóbora) são, em geral, cultivadas sob irrigação e conduzidas com uso intenso de agroquímicos, uma vez que apresentam grande suscetibilidade a várias doenças e pragas que atacam as cucurbitáceas no semi-árido irrigado (Queiroz, 1993; Queiroz *et al.*, 1996). O melão (*C. melo*) constitui o cultivo de maior expressão, seguida pela melancia (*C. lanatus*) e jerimum (*C. moschata*), contribuindo com uma receita estimada em torno de R\$ 650 milhões. Uma outra cultura que se destaca é a abóbora, pois faz parte da alimentação básica de populações em diferentes regiões do país. Seu volume comercial na Central de Abastecimento do Estado de São Paulo (CEAGESP, SP) ficou em torno de 17.244t, segundo dados obtidos da Agrianual (1998). Já no Nordeste brasileiro a Companhia de Armazenamento Geral de Pernambuco (CEAGEPE) registrou no período de 1997, um volume de 56.760 t de abóbora, provenientes de diferentes

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

estados do Bahia (23,61%), Maranhão (23,75%), Rio Grande do Norte, Piauí (4,33%), Pernambuco (24,14%), dentre outros (11,38%) (Dias *et al.*, 1998).

Segundo Lopes e Sobrinho (1998) as cucurbitáceas representam 23% do volume de hortaliças comercializados no Brasil, sendo que várias espécies se destacam como economicamente expressivas no abastecimento de hortaliças no mercado nacional.

O valor nutritivo também confere às cucurbitáceas grande importância, uma vez que seus frutos constituem fonte de energia devido ao elevado teor de açúcar, ácido ascórbico, vitaminas e sais minerais (Saturnino *et al.* 1982; Esquinas-Alcazar e Gulick, 1983).

2.2. RECURSOS GENÉTICOS DA MELANCIA

2.2.1 O gênero *Citrullus*

O gênero *Citrullus*, é composto por quatro espécies diplóides ($2n = 22$), *C. lanatus* Mansf. (melancia); *C. colocynthis* (L.) Schrad, caracterizada pelo sabor amargo, crescendo em superfícies arenosas em todo Nordeste da África, Sudeste da Ásia e Mediterrâneo; *C. ecirrhosus* Cogn, espécie selvagem perene e *C. rehmii* Winter, espécie selvagem anual (Meeuse, 1962; Whitaker e Bemis, 1976).

Dentre as principais espécies que compõe o gênero a melancia é classificada como uma espécie anual, rastejante, de caules longos e sarmentosos e de folhas profundamente recortadas. A planta tem flores diclamídeas ou unissexuadas, sendo que as flores femininas apresentam ovários redondos ou alongados, pilosos que, quando crescem, transformam-se em frutos esféricos ou oblongos. As sementes são ovais, achatadas, de cor branca, vermelha ou negra, de acordo com a variedade (Gardé e Gardé, 1964). As plantas podem apresentar monoicismo (flores masculinas e femininas na mesma planta) ou andromonoicismo (flores hermafroditas e masculinas na mesma planta) (Ferreira *et al.*, 2002). A coloração do fruto varia de branco, amarelo a vários tons de verde, lisas, mosqueadas ou com diferentes padrões de listras. A cor da polpa pode ser branca, amarela, laranja, rosa ou vermelha (Mohr, 1986).

2.2.2 Importância econômica

No Nordeste brasileiro, considerado como centro secundário de diversidade da melancia (Romão, 1995), os cultivos tradicionais são desenvolvidos com duas finalidades, uma para consumo familiar ou de animais e a outra para comércio, onde se encontra inserida em um sistema organizado para comercialização da produção. Neste tipo de cultivo destacam-se os Estados do Piauí e da Bahia, sobressaindo o Distrito de Maçaroca, em Juazeiro, Bahia. Uma vez que a produção é destinada a diferentes realidades, não há dados estatísticos do volume produzido no cultivo tradicional. Contudo, a área plantada e colhida da melancia irrigada no Brasil corresponde a 78.232 ha e 77.321 ha, respectivamente (IBGE, 2001).

As cultivares de melancia usadas no cultivo irrigado apresentam base genética muito estreita e não foram desenvolvidas para as condições edafoclimáticas do Brasil, principalmente do semi-árido brasileiro (Queiroz, 1993). Como consequência, as variedades melhoradas apresentam alta suscetibilidade a diferentes patógenos (Dias *et al.*, 1996). Dentre as principais doenças que atacam a melancia, no semi-árido brasileiro, destaca-se o oídio, provocada pelo fungo *Sphaerotheca fuliginea* (Schelecht. ex. Fr.) que causa queima das folhas, principalmente na fase de maturação dos frutos, contribuindo para a formação de frutos com baixo teor de açúcares e de qualidade inferior (Borges, 1996). A outra doença é a micosferela, ou cancro das hastes, causado pelo fungo *Didymella bryoniae*, sendo inicialmente identificada pelas rachaduras provocadas no colo da planta e pela produção de exsudato de coloração marrom. O desenvolvimento da doença é favorecido por valores altos de umidade do solo, principalmente os provocados por períodos de chuvas intensas ou excesso de irrigação (Dias *et al.*, 1996). As viroses, causadas principalmente pelo vírus PRSV-W (*Papaya Ringspot Virus – Type Watermelon*), WMV (*Watermelon Mosaic Virus*) e ZYMV (*Zucchini Yellow Mosaic Virus*), também constituem problemas sérios e podem ocorrer de forma simples ou conjugada, atacando as plantas em qualquer fase de desenvolvimento, com sintomas mais acentuados nas folhas, podendo atingir os frutos em casos mais severos (Lima *et al.*, 1997; Guner *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2002b; Brown *et al.*, 2003).

Por outro lado, na agricultura tradicional são encontradas populações adaptadas à região, uma vez que foram introduzidas em épocas remotas e seu manejo vem sendo passado de geração a geração, o que constitui seleção levando a tipos que são superiores àqueles disponíveis anteriormente (Allard, 1971), pois o cultivo vem sendo desenvolvido quase que totalmente sem agroquímicos (Queiroz, 1993; Romão 1995; Queiroz *et al.*, 1996; 2000; Oliveira *et al.*, 2002b).

2.2.3 Origem, centro de diversificação e conservação da melancia

Com relação à origem, Gardé e Gardé (1964) consideraram a melancia como de origem desconhecida, porém aceita por Lineus como nativa do Sul da Itália. Atualmente, vários autores citam a África como principal centro de origem (Mallick e Masui, 1986; Romão 1995).

De acordo com a dinâmica evolutiva da melancia, descrita por Romão (1995), são evidenciados fatores genéticos, históricos e culturais para a permanência da cultura no Nordeste brasileiro. Como fator genético inclui-se a dispersão de sementes, ocasionada pela explosão dos frutos e exposição das sementes e os processos de dormência de sementes (Romão, 1995), aqui definidos pelo atraso da germinação, quando as sementes, mesmo em condições favoráveis, não germinam. A explosão dos frutos ocorre em alta frequência em plantas que são homozigotas para o caráter explosão de frutos cujo alelo é representado pelo símbolo “e” (Robinson, *et al.*, 1976; Rhodes e Zhang, 1995). Os fatores históricos indicam que durante a ocupação do Nordeste brasileiro, vários agricultores levavam consigo as sementes trazidas pelos escravos africanos promovendo a dispersão da cultura e os fatores culturais estão relacionados com o hábito alimentar e o costume de cultivar a melancia, devido às suas propriedades diuréticas, fonte de água e alimento (Romão, 1995).

No cultivo tradicional, caracterizado pelos cultivos de sequeiro, conduzido em pequenas propriedades, são observados hábitos que favoreceram a disseminação e conservação da melancia, como, por exemplo, o consumo de frutos no campo pelos próprios agricultores e por animais canídeos de hábitos noturnos denominados de guará pelos agricultores. Assim as sementes são deixadas no local onde permanecem até o próximo período chuvoso quando germinam, contribuindo para a formação de populações subespontâneas ou os chamados "bancos de sementes". Os bancos de sementes são formados pelas sementes dormentes remanescentes de cultivos anteriores, consequência da ação conjunta de fatores genéticos e ecológicos (sistema de cultivo e dispersão pelos animais) (Romão, 1995). Uma outra atividade é o intercâmbio de sementes entre os agricultores, resultado de processos migratórios que influenciam no aumento da variabilidade permitindo a entrada de alelos novos no sistema (Romão, 1995).

2.2.4 Bancos de Germoplasma de Cucurbitáceas

Como recursos genéticos, diferentes representantes da família Cucurbitaceae encontram-se conservados em Bancos de Germoplasma espalhados pelo mundo. Por exemplo, mais de 2000 acessos de *C. moschata* estão depositados nos bancos de germoplasma da América (Saade e

Hernandez, 1992). De acordo com os mesmos autores, nos Estados Unidos e Costa Rica estão localizadas as coleções mais importantes e correspondem ao germoplasma americano.

No Brasil, os bancos mais expressivos encontram-se na Universidade Federal de Viçosa (UFV) (Silva *et al.*, 2001), na Embrapa Semi-Árido (CPATSA) e na Embrapa Hortaliças (CNPq). O Banco Ativo de Germoplasma para o Nordeste brasileiro da Embrapa Semi-Árido, localizado em Petrolina-PE, teve início na década de 80 com coleta de amostras de sementes de melancia em áreas restritas a alguns municípios de Pernambuco, sendo posteriormente ampliado com a coleta de outras espécies de cucurbitáceas na década de 90, com a finalidade de resgatar as populações tradicionais da região, introduzir variabilidade não existente, preservar, documentar e manter intercâmbio de germoplasma de outras regiões, avaliando seu potencial para as condições do Brasil. Atualmente este banco contém 514 acessos de *Cucurbita* e 527 acessos de *C. lanatus*, dentre outros (Queiroz, 1993; Queiroz *et al.*, 1996).

As atividades que caracterizam um banco de germoplasma são identificadas pelas fases sequenciais envolvidas na manutenção de recursos genéticos como coleta, multiplicação, caracterização, avaliação e conservação (Giacometti, 1988). O germoplasma de melancia conservados na Embrapa Semi-Árido foi coletado em diferentes regiões do Nordeste brasileiro e multiplicado a partir de três tipos de polinização (livres, controlada e autofecundação) conforme a sincronia na antese das flores femininas e masculinas (Queiróz, 1993; Romão *et al.*, 1999). Os acessos conservados neste banco apresentam flores monóicas e ou andromonóicas possibilitando tanto a fecundação por polinização livre ou por autofecundação, sendo possível obter, de cada planta, progênies de meios irmãos e progênies endogâmicas (Ferreira, 2000; Silva e Queiróz, 2003). Segundo Ferreira (2000) o conhecimento do sistema reprodutivo é importante para se definir estratégias de melhoramento, uma vez que os métodos de melhoramento aplicados para grupos de autofecundação são diferentes dos aplicados em grupos de polinização livre. O mais relevante nos experimentos de multiplicação é que nesta fase consegue-se identificar caracteres que podem ser interessantes para o melhoramento como tamanho e forma do fruto, cor da polpa, teor de sólidos solúveis, prolificidade, precocidade, dormência em sementes e, assim, no mesmo experimento sem prejuízo para a multiplicação dos acessos, se pode fazer uma caracterização preliminar dos mesmos (Queiroz *et al.*, 1996).

Os estudos de caracterização têm possibilitado definir descritores específicos, reunir acessos com caracteres semelhantes e identificar pontos de coletas importantes para determinada característica, como no trabalho realizado por Romão (1995) estudando a variabilidade genética de melancia coletada em diferentes regiões do Nordeste brasileiro (Maranhão, Depressão Sertaneja e Bahia). Neste estudo além de informações sobre a dinâmica evolutiva da melancia o

autor também aponta a frequência de diferentes caracteres qualitativos nas diferentes regiões estudadas.

Em resumo, alguns acessos de melancia do BAG de Cucurbitáceas já foram caracterizados com profundidade por meio de métodos morfológicos e bioquímicos (Dias, 1993; Assis, 1994; Romão, 1995; Borges, 1996; Ramos, 1996). Atualmente, com os avanços da biologia molecular os acessos de melancia estão sendo caracterizados por técnicas moleculares, visando uma caracterização livre de efeitos ambientais, assim como a possível identificação de duplicatas.

Capeloto (2003) estudou dezoito acessos de melancia do BAG de Cucurbitáceas coletados na Ilha de São Luiz-MA, por RAPD, sendo detectada variabilidade genética nesta região. Foram utilizados 59 *primers* que detectaram 417 fragmentos amplificados, com média de sete bandas por *primer*. Contudo, não foi informado o número de bandas polimórficas detectadas. A divergência genética entre os acessos revelou uma média de 0,41, sendo que a menor variação entre acessos foi utilizada como critério para identificar duplicatas. Oliveira *et al.* (2002a) avaliando a variabilidade genética em batata-doce com isoenzimas descreve como duplicatas àqueles acessos que apresentaram o mesmo fenótipo isoenzimático e também características morfológicas similares.

A variabilidade genética da melancia conservada no BAG tem possibilitado o desenvolvimento de programas de melhoramento e identificação de acessos com caracteres importantes para este fim, como por exemplo o desenvolvimento de linhagens tetraplóides e linhagens diplóides para obtenção de melancia sem sementes (Queiróz *et al.*, 2000). A melancia sem semente é obtida a partir de cruzamentos entre estas linhagens resultando em uma planta triplóide híbrida, que não forma semente devido a formação de óvulos inviáveis em função de irregularidade durante processos meióticos (Kihara, 1951; Souza *et al.*, 1999).

Os programas de melhoramento têm ainda possibilitado o estudo da capacidade de combinação entre linhas tetraplóides e diplóides de melancia. Souza *et al.* (2002), sendo observado que os efeitos da capacidade geral de combinação foram superiores aos efeitos de capacidade específica de combinação para a maioria dos caracteres, principalmente os relativos a produção da planta indicando ação gênica aditiva, contudo efeitos não aditivos foram observados em caracteres como precocidade e ocamento de frutos, indicando que a avaliação e a seleção de linhagens em combinações híbridas permitirão o desenvolvimento de linhagem triplóide superiores.

A correlação genotípica, fenotípica e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento foi avaliada por Ferreira *et al.* (2003). Neste estudo caracteres como número dias para o aparecimento da primeira flor feminina, número de frutos por planta, peso de frutos por planta, cor e espessura da polpa, diâmetro longitudinal e transversal de frutos,

teor de sólidos solúveis, número de sementes e peso de 100 sementes por frutos mostraram correlações genotípicas superiores às correlações fenotípicas (95,5%), sendo ambas superiores as correlações de ambiente (82,2%). Este resultado indica a possibilidade de selecionar caracteres de baixa herdabilidade quando este apresentar correlação com um outro de maior herdabilidade.

Vencovsky e Barriga (1992) relatam que estudos como este são importantes para o melhoramento genético uma vez que possibilita identificar a proporção fenotípica influenciada pela genotípica, verificar se a seleção de um caráter pode afetar outro, verificar ganhos na seleção de caracteres correlacionados e avaliar a complexidade dos caracteres.

O mais relevante é que os estudos de melhoramento estão sendo desenvolvidos a partir de populações adaptadas e coletadas na região, o que pode favorecer a obtenção de cultivares superiores às utilizadas no mercado, considerando que estas não foram desenvolvidas para as condições bióticas e abióticas da região (Costa e Pinto, 1977).

2.3. IMPORTÂNCIA DA CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GERMOPLASMA

A caracterização morfológica constitui etapa fundamental para o efetivo uso dos recursos genéticos conservados em bancos de germoplasma, uma vez que mais de 200 mil acessos de diversas espécies vegetais encontram-se armazenados em bancos espalhados por todo país, sem as informações mínimas necessárias que facilitam o emprego dos mesmos em programas de melhoramento (Valls, 1988). De acordo com o mesmo autor, o processo de caracterização consiste na anotação de descritores botânicos facilmente visíveis e/ou mensuráveis e que são expressos em todos os ambientes. Para caracterização dos acessos é importante compreender o conceito de descritor. Assim, por descritor entende-se qualquer atributo ou caráter que permita a distinção entre acessos diferentes de uma mesma cultura, sendo o "Estado do Descritor" o valor que o descritor pode assumir (Giacometti, 1988).

Para a melancia, até 1995, a caracterização morfológica era realizada com base em lista de descritores definida para abóbora (Esquinas-Alcazar e Gulick, 1983). Romão (1995) promoveu a caracterização morfológica de 39 acessos de melancia coletados na agricultura tradicional de diferentes regiões do Nordeste brasileiro (Maranhão, Depressão Sertaneja – BA e Região Central da Bahia) detectando grande variabilidade genética, tanto dentro de populações de uma mesma região como entre populações de regiões distintas. A partir dos resultados obtidos, o autor sugere uma lista de 22 descritores específicos para melancia que podem facilitar a caracterização na avaliação de recursos genéticos. Dentre os descritores sugeridos destacam-se o comprimento do cotilédono, tamanho da folha, tamanho do pecíolo, comprimento do internó, diâmetro do ramo

principal, número de ramos, dias para o florescimento, distância da primeira flor feminina a partir da base do caule, peso do fruto, comprimento do fruto, diâmetro do fruto, espessura da casca, espessura da polpa, teor de sólidos solúveis, número de sementes, peso de 50 sementes e tamanho das sementes, sendo estes os mais indicados para avaliação de acessos de melancia preservados em bancos de germoplasma.

Sendo assim, a caracterização morfológica de acessos de melancia possibilita o conhecimento da variabilidade genética conservada no banco, a identificação de descritores específicos e a indicação de acessos, tanto para pré-melhoramento como para o melhoramento genético da espécie.

O emprego de marcadores morfológicos na caracterização de germoplasma tem possibilitado grandes avanços na descrição da divergência genética entre acessos. Na avaliação desses estudos são aplicadas técnicas biométricas, principalmente análises multivariadas (componentes principais, análise de agrupamento e por meio de variáveis canônicas). A técnica de variáveis canônicas possibilita representar os indivíduos em espaço multidimensional, de modo que as dimensões sejam correspondentes às características medidas, obtendo-se dados de similaridade entre indivíduos por meio de dispersão gráfica. Desta forma, a aproximação ou distância, nesse espaço, indica o quanto os indivíduos são geneticamente similares (Cruz e Regazzi, 1994).

Para os estudos de agrupamento, primeiramente, são estabelecidas as medidas de dissimilaridade, como a distância de Mahalanobis, sendo que esta distância é aplicada quando diferentes características são avaliadas em coleções de acessos, de modo a representar a variabilidade genética. Para isto, geralmente, é utilizado o método de otimização de Tocher, onde os grupos originalmente avaliados são subdivididos de forma que a maior distância média intragrupo é menor que a distância intergrupo (Cruz e Regazzi, 1994). Amaral Júnior *et al.* (1994), aplicaram variáveis canônicas e técnicas de agrupamento na avaliação da divergência genética entre acessos de moranga e obtiveram como resultados 97,64% da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas, formando assim quatro grupos de acessos com o método de Tocher. Ramos *et al.* (2000), estudando a divergência genética em germoplasma de abóbora de diferentes áreas do Nordeste brasileiro (Maranhão, Piauí e Bahia), obtiveram 10 grupos de acessos, sendo que o primeiro grupo conteve 65% dos acessos, incluindo acessos de diferentes regiões (71,43% da Bahia e 61,54% do Piauí e Maranhão). Este agrupamento é explicado pela seleção de caracteres de interesse para o comércio e pelo fluxo gênico por meio de doações ou venda de sementes entre áreas de plantio de abóbora no Nordeste, a fim de se obter frutos mais uniformes. Este procedimento pode causar perda da variabilidade, num processo forte de erosão genética.

Uma avaliação mais detalhada, ao nível de DNA, tem sido obtida pela aplicação de técnicas moleculares na caracterização de germoplasma. (Assis, 2000; Oliveira *et al.*, 2002a; Ramos 2003).

2.3.1 Análise molecular aplicada à caracterização de germoplasma

As isoenzimas foram as primeiras a serem utilizadas, como técnica molecular, na caracterização de germoplasma. Desenvolvidas em 1960 foram prontamente aceitas pela comunidade científica por superar muitas das limitações detectadas pelo uso de marcadores morfológicos (Ferreira e Grattapaglia, 1996).

Por definição, as isoenzimas são múltiplas formas de uma mesma enzima com funções específicas, representando um grupo especializado de proteínas, sendo encontradas em todos os organismos (Cloutier e Landry, 1994). Uma de suas propriedades é a natureza co-dominante que possibilita a identificação de genótipos homozigotos e heterozigotos permitindo a separação de indivíduos com alto grau de parentesco. Contudo, a principal desvantagem é o número limitado de locos detectados em análises que necessitam de uma cobertura mais ampla do genoma (Ferreira e Grattapaglia, 1996).

Assis (2000) estudou a variabilidade de 39 amostras de acessos de melancia da agricultura tradicional (*C. lanatus*) mais seis amostras de melancia forrageira relatadas por Assis (1994), como *C. lanatus* var. *citroides*. Foram usados seis sistemas isoenzimáticos, observando-se como resultados a divergência entre os acessos de *C. lanatus* e de *C. lanatus* var. *citroides*, porém, não mostraram divergência entre os acessos de *C. lanatus* o que foi contraditório com a caracterização morfológica dos acessos de *C. lanatus* por Romão (1995), que encontrou uma expressiva variação morfológica entre os acessos.

Os dados obtidos por Chen *et al.* (1997), a partir da avaliação da afinidade bioquímica entre *Cucumis hystrix* Chakr e duas espécies cultivadas de *Cucumis*, demonstraram o polimorfismo das isoenzimas em oito sistemas analisados nas três espécies. As amostras foram distribuídas em cinco grupos conforme a combinação dos padrões isoenzimáticos, sendo que as espécies de melão foram agrupadas com base no polimorfismo das enzimas xiquimato desidrogenase, fosfogluconato desidrogenase e leucina animopeptidase, enquanto *C. hystrix* e *C. sativus* formaram apenas um grupo, usando os mesmos sistemas. Não foi identificado padrão entre os *C. hystrix* e *C. melo*, mas algumas bandas comuns foram observadas com as enzimas fosfoglucoase isomerase, malato desidrogenase e fosfogluconato desidrogenase. Em *C. sativus* não foram observadas variações no padrão de bandas das variedades examinadas. Contudo,

foram discriminantes para *C. hystrix*, formando padrões de bandas únicos utilizando isocitrato desidrogenase, fosfoglucoase isomerase, glutamato oxalacetato transaminase e malato desidrogenase.

O agrupamento permitiu a formação de dois grupos com distância genética de 0,697 e três grupos com 0,500, sendo considerável a distância genética ao nível de espécie. Apesar do número limitado de locos detectados por esta técnica, os resultados obtidos por Chen *et al.* (1997) demonstram a eficiência das isoenzimas na análise de distância genética, como importante ferramenta na caracterização de germoplasma.

As diferenças encontradas entre os resultados obtidos por Assis (1994) e Chen *et al.* (1997) podem ser atribuídas ao fato de as isoenzimas apresentarem limitações, principalmente causadas por efeitos ambientais e estádios de desenvolvimento dos indivíduos. Além disso, o germoplasma utilizado é de espécies diferentes, sendo natural diferenças nos padrões isoenzimáticos obtidos (Ferreira e Grattapaglia, 1996).

Com o desenvolvimento das técnicas modernas da biologia molecular vários métodos permitiram a detecção de polimorfismos genéticos ao nível de DNA. Entre os marcadores mais utilizados, tem-se o RAPD. O marcador RAPD consiste em uma variação da técnica da PCR, onde um único *primer* de sequência arbitrária é usado para dirigir a reação de amplificação (Williams *et al.*, 1990; Welsh e McClelland, 1990; 1991). Segundo Williams *et al.* (1990), o sucesso da técnica está diretamente relacionado ao fato de atender às leis de segregação mendeliana, sendo então utilizada como ferramenta auxiliar nos estudos de melhoramento.

Esta técnica tem como vantagens a rapidez na obtenção dos dados, o baixo custo, necessidade de pouca quantidade de DNA, isenção de efeito ambiental, quando comparado com outras técnicas como isoenzimas e RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*; polimorfismo no comprimento do fragmento e restrição). Podendo ainda fornecer padrões polimórficos em números praticamente ilimitados, sendo detectados em qualquer estágio de desenvolvimento do indivíduo (Michelmore e Hulbert, 1987). Além de fornecer subsídios para medidas de divergência genética na eleição de genótipos com desempenho promissor e ampla base genética (Carpentieri-Pípolo *et al.*, 2000), a técnica de RAPD tem sido utilizada com êxito em estudos de divergência genética de várias culturas economicamente importantes como arroz (Buso *et al.*, 1998), melão (Silberstein *et al.*, 1999), soja (Barroso *et al.*, 2003), dentre outras.

Em melancia os marcadores RAPD têm sido utilizados no estudo de diversidade genética. Lee *et al.* (1996) utilizaram 39 acessos de melancia cultivada. Neste estudo foram utilizados 15 *primers* que amplificaram fragmentos de DNA. Cada *primer* produziu de três a sete fragmentos por genótipo. Dos 162 fragmentos detectados, 100 (62%) foram polimórficos e os 62 (38%) restantes foram monomórficos. Como resultado do relacionamento genético entre as cultivares o

autor descreve uma média de 0,303, sendo que a maior média foi de 0,913 entre as cultivares 8 ('Shindoen nwa') e 30 ('T4-1-49'). O dendrograma construído revelou quatro grupos (A, B, C, e D), sendo que os genótipos do grupo A são intimamente relacionados quanto à característica de produção. Nos grupos B, C e D ficaram os genótipos mais intimamente relacionados do que os que formaram o grupo A.

Em um outro estudo, realizado por Levi *et al.* (2000), foi estimada a divergência genética entre 30 acessos de *Citrullus* usando RAPD, tendo-se obtido como resultado três grupos, um contendo acessos de *C. lanatus* com 58,8% de similaridade e os do grupo de *C. colocynthis* com 38,9%. O nível de variação dentro de *C. colocynthis* e *C. lanatus* var. *citroide* foi alto quando comparado com *C. lanatus* var. *lanatus* (74,2%, 82,8% e 87,5%, respectivamente), mostrando baixa variação entre as melancias cultivadas (93,1% de similaridade), o que é justificado pela uniformidade obtida no melhoramento.

Estudos como estes são importantes para o melhoramento genético, uma vez que a pré-seleção pode reduzir o número de plantas a serem cultivadas. A determinação da divergência possibilita a identificação de combinações híbridas de maior efeito heterótico de modo que, nas gerações segregantes seja possível recuperar os genótipos superiores (Cruz e Regazzi, 1994).

O conhecimento prévio do potencial de uma população pode incrementar a eficiência de um programa de melhoramento, permitindo a eliminação de populações não promissoras (Barroso *et al.*, 2003). A distância genética, baseada em marcadores de DNA, mede a quantidade de locos ocupados por alelos específicos, sendo obtida a partir de umas poucas linhagens e constituindo-se em medida mais ampla de diversidade quando comparada à estimada a partir do coeficiente de parentesco, que mede a capacidade de combinação geral e específica dos progenitores. Barroso *et al.* (2003), relataram a performance de uma população de soja usando a divergência genética determinada por RAPD. Os resultados revelaram as melhores combinações na predição do potencial para a produção de sementes em cruzamentos de soja.

Uma nova classe de marcadores tem sido aplicada nos estudos de diversidade e estrutura genética em diferentes espécies da família Cucurbitaceae. Os microsátélites ou SSRs (*Simple Sequence Repeats*; Repetições de Sequências Simples ou microsátélites), são seqüências repetidas em tandem que se encontra espalhadas pelo genoma, são co-dominantes e altamente polimórficos (Janer e Lagoda, 1996). Katzir *et al.* (1996) avaliaram o polimorfismo de comprimento e a homologia de microsátélites em algumas espécies de Cucurbitaceae, tendo encontrado cinco marcadores SSRs.

Os estudos realizados por Jarret *et al.* (1997) revelaram microsátélites polimórficos em melancia. A análise de agrupamento diferenciou mais de 33 genótipos constituindo quatro grupos com 25% de similaridade genética. Vale salientar que os autores não encontraram

equivalência entre microsátélites e isoenzimas, mas sim entre os microsátélites e RAPD, na habilidade de diferenciar acessos de cultivares de *C. lanatus* var. *lanatus*.

Vale salientar que apesar das vantagens que os microsátélites apresentam em relação aos demais marcadores, para o desenvolvimento desta técnica é necessário o desenho de iniciadores que flanqueiam as regiões de repetição, o que é obtido a partir do desenvolvimento de bibliotecas genômicas com posterior sequenciamento dos fragmentos obtidos, tornando a técnica onerosa. Desta forma a caracterização de germoplasma por meio de técnica RAPD tem sido indicada, considerando os custos e o tempo para obtenção dos resultados (Ferreira e Grattapaglia, 1996; Oliveira *et al.*, 2002a).

2. 4. BIBLIOGRAFIA CITADA

Agrianual (1998). São Paulo, p. 428.

Allard R W (1971) *Princípios do Melhoramento de Plantas*. Wiley J (eds.), New York, 331pp.

Amaral Júnior AT (1994) *Análise multivariada e isozimática da divergência genética entre acessos de moranga (Cucurbita maxima Duch.)*. PhD Thesis, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Viçosa.

Assis JGA (1994) *Estudos genéticos no gênero Citrullus*. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Assis JGA (2000) *Caracterização isoenzimática e variabilidade genética de populações de melancia (Citrullus lanatus) do Nordeste brasileiro*. PhD Thesis, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Barroso GM. (1978) *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Livro Técnico e Científico. EDUSP, São Paulo, 255pp.

Barroso PAV, Geraldi IO and Vieira MLC (2003) Predicting performance of soybeans using genetic distances estimated with RAPD markers. *Genet Mol Biol* 26: 343-348.

Borges RME (1996) *Estudo da herança ao oídio Sphaerotheca fuliginea (Schechte ex. Fr.) em melancia [Citrullus lanatus (Thunb.) Mansf]*. Dissertação, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Brown RN, Bolanos-Herrera A, Myer JR and Jhan MM (2003) Inheritance of resistance to four cucurbit viruses in Cucurbita moschata. *Euphytica* 129:253-258.

Buso GSC, Rangel PH and Ferreira ME (1998) Analysis of genetic variability of South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. *Mol Eco* 7: 107-117.

Capeloto A (2003) *Caracterização molecular entre e dentro de acessos de melancia através de RAPD-PCR*. Dissertação, UNESP/Universidade Estadual de Paulista, Jaboticabal.

Carpentieri-Pípulo V, Destro D, Prete CEC, Gonzales MGN, Popper I, Zanatta S and Silva FAM (2000) Seleção de genótipos parentais de acerola com base na divergência genética multivariada. *Pesq Agrop Bras* 8: 1613-1619.

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

CEAGEPE (Recife, PE) Abóbora (1996) In: CEAGEPE (Recife, PE) Análise conjuntural de mercado ao nível de atacado na unidade CEASA/PE: período 1986 a 1995. Recife: Ed. Bagaço,. p.13-20.

Chen L, Isshiki S, Tashiro Y and Miyazaki S (1997) Biochemical affinities between *Cucumis hystrix* Chra. and two cultivated *Cucumis* species (*C. sativus* L. and *C. melo* L.) based on isozyme analysis. *Euphytica* 97: 139-141.

Cloutier S and Landry BS (1994) Molecular markers applied to plant tissue culture. *Cell Dev Biol* 30: 32-39.

Costa CP and Pinto CABP (1977) Melhoramento da melancia. In: Costa CP and Pinto CABP (eds) *Melhoramento de Hortaliças: revisão*. 2nd ed. UDUSP, São Paulo, pp 196-209.

Cruz CD and Regazzi AJ (1994) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. UFV, 3. (eds.), Viçosa, 390 pp.

Decker-Walters DS, Chung SM, Staub JE, Quemada HD and López-Sesé AI (2002) The origin and genetic affinities of wild populations of melon (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae) in North America. *Plant Syst Evol* 233: 183-197.

Dias RCS (1993) Avaliação de acessos de melancia quanto a resistência à *Didymella bryoniae*. Dissertação, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Dias RCS, Queiroz MA and Menezes M (1996) Identificação de fontes de resistência em melancia a *Didymella bryoniae*. *Hort Bras* 14:15-17.

Dias RCS, Costa ND, Cerda NC, Silva PCG, Queiroz MA, Oliveira, FZ, Leite LAS, Pessoa, PAP and Terao DA (1998) Cadeia Produtiva do melão no Nordeste. In: Castro AMG, Lima, SMV, Goeder WJ, Freitas Filho A and Vasconcelos JRP (ed) *Cadeias produtivas e sistemas naturais: prospecção tecnológica*. Brasília: Embrapa – SPI/Embrapa- DPD, cap 17, p.441-494.

Esquinas-Alcazar JT and Gulick PJ (1983) Genetic resources of Cucurbitaceae. Rome: IBPGR, (IBPGR-82/84), 101pp.

Ferreira MAJF (1996) Análise dialélica em melancia [*Citrullus lanatus* (Thumb.) Mansf.]. Dissertação, UNESP/Universidade Estadual de Paulista, Jaboticabal.

Ferreira MAJF (2000) Sistema reprodutivo e potencial para o melhoramento genético de uma população de melancia [*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum. & Nakai]. PhD Thesis, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, São Paulo.

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

Ferreira MAJF, Queiróz MA, Vencovsky R, Braz LT, Vieira ML and Borges RME (2002) Sexual expression and mating system in watermelon: implications for breeding programs. *Crop Breed Appl Biot* 2:39-47.

Ferreira MAJF, Queiróz MA, Braz LT and Vencovsky R (2003) Correlações genotípicas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. *Hort Bras* 21:438-442.

Ferreira ME and Grattapaglia D (1996) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2 edição. Embrapa-CENARGEN, Brasília, 220pp.

Gardé AHA and Gardé NVPM (1964) Cucurbitáceas. In: Gardé AHA and Gardé NVPM (eds) *Culturas Hortícolas*. Livraria Clássica Editora, Lisboa, pp 223-258.

Giacometti DC (1988) Descritores para caracterização e avaliação de germoplasma. (anais): 129-147. I Encontro Sobre Recursos Genéticos, Jaboticabal, Brazil.

Guner N, Strange EB, Wehner TC and Pesic-VanEsbroeck (2002) Methods for screening watermelon for resistance to papaya ringspot virus type-W. *Scien Hort* 94: 297-307.

IBGE. Anuário Estatístico do Brasil/SIDRA 2001. Rio de Janeiro. 2001. [http:// www.ibge.gov.br/](http://www.ibge.gov.br/) capturado em 10/02/2004.

Janer P and Lagoda PJJ (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Tree* 11: 424-429.

Jarret RL, Merrick LC, Homls T, Evans J and Aradhya Mk (1997) Simple sequence repeats in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsum & Nakai]. *Genome* 40: 433-441.

Jobst J, King K and Hemleben V (1998) Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family Cucurbitaceae *Theor Appl Genet* 9: 204-219.

Katzir N, Danin-Poleg, Tzuri G and Karchi Z (1996) Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. *Theor Appl Genet* 93: 1282-1290.

Kihara, H (1951) Triploid watermelon. *Hort Scien* 58: 217-230.

Lee SJ, Shin JS, Park KW and Hong YP (1996) Detection of genetic diversity using RAPD-PCR and sugar analysis in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thumb.) Mansf.] germplasm. *Theor Appl Genet* 92: 719-725.

- Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*
- Levi A, Thomas CE, Keinath AP and Wehner TC (2000) Estimation of genetic diversity among *Citrullus* accessions using RAPD markers. *Act Hort* 510: 385-390.
- Lima JAA, Vale CC and Oliveira VB (1997) Viruses that infect cucurbits in the Northeast of Brazil. *Virus: Rev Res* 2: 128-130.
- Lopes JF and Sobrinho JAM (1997) Coleta e multiplicação de germoplasma de abóboras e morangas. IN: Simpósio Latino-Americano De Recursos Genéticos Vegetais, p.83. Campinas.
- Mallick MFR and Masui GI (1986) Origin, distribution and taxonomy of melons. *Scien Hor* 28: 251-261.
- Meeuse AD (1962) The Cucurbitaceae of Southern Africa. *Bothalia*. 8: 111.
- Micheltmore RW and Hulbert SH (1987) Molecular markers for genetic analysis of phytopathogenic fungi. *Rev Phytop* 2: 383-404.
- Mohr HC (1986) Watermelon Breeding. In: Basset ML (ed) *Breeding vegetables crops*. Westport A vi, pp 33-66.
- Oliveira ACB, Sedyama MAN, Sedyama T, Finger FL and Cruz CD (2002a) Variabilidade genética em batata-doce com base em marcadores isoenzimáticos. *Hort Bras* 20:576-582.
- Oliveira VB, Queiróz MA and Lima AA (2002b) Fontes de resistência em melancia aos principais potyvírus isolados de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. *Hort Bras* 20:589-592.
- Queiroz MA (1993) Potencial do germoplasma de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. *Hort Bras* 11: 7-9.
- Queiróz MA, Romão RL, Dias RCS, Assis JGA, Borges RME, Ferreira MAJF, Ramos SRR, Costa MSV and Moura MCCL (1996) Watermelon germplasm bank for northeast of Brazil, an integrated approach, In: Gómez-Guillamón ML, Soria C, Cuartero J, Torés JA and Fernández-Muñoz R, (eds), *Cucurbits Towards 2000. Proc Euc Meet Cucurbit Genetic Breed*, Málaga. pp. 97-103.
- Queiroz MA, Dias RCS, Souza FF, Ferreira MAJF and Borges RME (2000) Watermelon breeding in Brazil. *Act Hort* 510: 105-112.
- Ramos SRR (1996) Avaliação da variabilidade morfoagronômica de abóbora (*Cucurbita moschata* Duchesne.) do Nordeste brasileiro. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

- Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*
- Ramos SRR, Queiroz MA, Casali VWD and Cruz CD (2000) Divergência genética em germoplasma de abóbora procedentes de diferentes áreas do Nordeste. Hort Bras 18:195-199.
- Ramos SRR (2003) Divergência genética baseada em marcadores moleculares AFLP e indicação de coleção nuclear de *Cucurbita moschata* para o Nordeste do Brasil. PhD Thesis, UENF, Goytacazes.
- Robinson RW, Munger HM, Whitaker TW and Bohn GW (1976) Genes of Cucurbitaceae. HortScience 11: 554-568.
- Rhoades B and Zahng X (1995) Genes list for watermelon (*Citrullus lanatus*). Rep Cucurbit Genet Coop 8:68-84.
- Romão RL (1995) Dinâmica evolutiva e variabilidade genética de populações de melancia [*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum & Nakai] em três regiões do Nordeste brasileiro. Dissertação, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, São Paulo.
- Romão RL, Queiróz MA, Martins and Cordeiro CMT (1999) Caracterização morfológica de acessos de melancia do Banco de Germoplasma (BAG) de Cucurbitáceas do Nordeste brasileiro. Hort Bras 17: 23-25.
- Saade RL and Hernadez SM (1992) Cucúrbitas (*Cucurbita* spp.). In: Bermejo JEH (ed) Cultivos marginados: outra perspectiva de 1492. Roma, (FAO, Produção e Proteção Vegetal, n. 26), p. 61-65.
- Saturnino HM, Paiva BM, Gotijo VPM and Fernandes DP (1982) Cucurbitáceas: aspectos estatísticos. Inf Agrop 8: 3-21.
- Silberstein L, Kovalski I, Huang KA, Jahn MMK and Perl-Treves (1999) Molecular variation in melon (*Cucumis melo* L) as revealed by RFLP and RAPD markers. Scien Hort 79: 101-111.
- Silva, DJH, Moura, MCCL, Casali, VW. (2001) Recursos Genéticos do banco de germoplasma de hortaliças da UFV: histórico e expedições de coleta. Hort. Bras. 19:108-114.
- Silva ML and Queiróz (2003) Caracterização reprodutiva de uma amostra de acessos de melancia coletada na Chapada Diamantina – BA. (resumo) In: III Congresso de Melhoramento de Plantas, Porto Seguro – BA.
- Souza FF, Queiróz MA and Dias RCS (1999) Desenvolvimento e avaliação de híbridos triplóides experimentais de melancia. Biotc 9: 43-45.

- Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*
- Souza FF, Queiróz MA and Dias RC (2002) Capacidade de combinação entre linhas tetraplóides e diplóides de melancia. Hort Bras 20: 430-435.
- Valls JFM (1988) Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica vegetal. (anais): 1. In: I Encontro Sobre Recursos Genéticos. p.106-108, Jaboticabal.
- Vilela W, Groppo GA, Neto T and Gelmini GA (2001) Cultura da Melancia. Boletim Técnico. CATI edições. São Paulo, 52pp.
- Vencovsky R and Barriga P (1992) Genética Biométrica no Melhoramento. Ribeirão Preto, SBG 496p.
- Welsh J and McClelland M (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucl Acid Res 18: 7213-7218.
- Welsh J and McClelland M (1991) Genomic fingerprinting arbitrary primed PCR and a matrix of pair wise combinations of primers. Nucl Acid Res 19: 5275- 5279.
- Whitaker TW and Bemis WB (1976) Cucurbits. In: Simmonds NW (eds.) Evolution of crop plants. Longman, London, pp 64-69.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA and Tingey SV (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl Acid Res 18: 6531-6535.
- Yokoyama S (1987) Genética e Reprodução de sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.) Dissertação, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, São Paulo.

3. MANUSCRITO 1

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR
DE ACESSOS DE MELANCIA COLETADOS EM TRÊS
REGIÕES DA BAHIA**

**Manuscrito a ser submetido à Revista
Horticultura Brasileira publicada pela Sociedade
de Olericultura do Brasil, Brasília-DF.**

ISSN: 0102-0536

Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia coletados em três regiões da Bahia

Maria Luciene da Silva¹; Manoel Abílio de Queiróz²; Maria Aldete Justiniano da Fonseca Ferreira³; Gláucia Salles Cortopassi Buso³

¹UFPE, Depto. Genética, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, 50670-901 Recife-PE; E-mail: mlsiluciene@yahoo.com.br; ²UNEB, Depto. Tecnologia e Ciências Sociais, Av. Edgard Chastinet s/n, São Geraldo, 48.900-000 Juazeiro-BA; E-mail: manoelabilio@terra.com.br; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. Postal 02372, 70770-900 Brasília – DF; E-mail: aldete@cenargen.embrapa.br; buso@cenargen.embrapa.br

RESUMO

Acessos do Banco de Germoplasma da Embrapa Semi-Árido, coletados em três regiões da Bahia, foram caracterizados através de descritores morfológicos e moleculares. O experimento de campo em blocos ao acaso foi conduzido na estação experimental da Embrapa Semi-Árido. Com os dados produzidos no campo foram feitas análises univariadas e multivariadas. Amostras de 324 indivíduos, cinco a oito repetições de cada um dos 43 acessos utilizados, foram submetidas à análise molecular usando a técnica de RAPD (*Random Amplified Polymorphism of DNA*; Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso). Foram testados 68 *primers*, dentre os quais seis foram utilizados. Os dados moleculares produziram informações sobre a variação molecular entre acessos (AMOVA), o coeficiente de similaridade de Jaccard e agrupamentos produzidos pelo método de Tocher. Foram encontradas diferenças significativas para todos os descritores morfológicos utilizados, exceto diâmetro do ramo principal e número de frutos por planta. A análise multivariada mostrou a formação de nove grupos de acessos, sendo que a testemunha ‘Crimson Sweet’ formou um grupo isolado. Um dos grupos englobou 69% dos acessos. Também foi revelado que nove descritores explicaram 85% da variação entre os mesmos. A caracterização molecular identificou 64 locos polimórficos tendo sido formados 28 grupos, sendo que 24 deles com um único acesso. No total, a porcentagem de locos polimórficos foi de 47,14%, sendo identificados 2,8 locos polimórficos por acesso. A variação molecular revelou maior variabilidade entre populações dentro de grupos (46,29%), mostrando a forte capacidade de discriminação dos marcadores RAPD na caracterização dos acessos do Banco de Germoplasma de Cucurbitáceas, podendo ser empregados na formação de uma coleção nuclear para conservação a longo prazo.

Palavras-chave: *Citrullus lanatus*, morfometria, marcadores moleculares, RAPD, germoplasma, Cucurbitaceae.

ABSTRACT

Morphological and molecular characterization of watermelon accessions collected in the State of Bahia

Accessions from the Watermelon Germplasm Bank collected in three different regions of the state of Bahia were characterized using morphological and molecular descriptors. The field trial was carried out at the Experimental Station of Embrapa. Univariate and multivariate analyses were performed. Sample of 324 individuals, using five to eight replications from each of the 43 accessions, were analyzed via RAPD (*Random Amplified Polymorphism of DNA*) technique. Sixty eight primers were tested and five were used. The molecular data were analyzed by AMOVA and the similarity coefficients among accessions were estimated. The descriptors were significantly different except diameter of main stem and number of fruits per plant. The multivariate analysis showed nine groups of accessions, but, the group I involved 69% of the accessions. The check formed an isolated group. Nine descriptors accounted for 85% of the variation among accessions. However, the molecular characterization has identified sixty four polymorphic loci and the accessions when grouped according to their similarity coefficients twenty eight groups were formed, twenty four with single accession. In total, the percentage of polymorphic loci was 47% which implies in 2.8 per accession. The molecular variation was higher among populations within groups (46%) showing the strong power of discrimination of RAPD markers, and therefore they could be used in order to characterize the accessions from the watermelon germplasm bank to set a core collection for long term conservation.

Keywords: *Citrullus lanatus*, morfometric, molecular markers, RAPD, germoplasm, Cucurbitaceae.

INTRODUÇÃO

Assim como a maioria dos produtos que fazem parte da alimentação dos brasileiros, a melancia não é nativa do Brasil, sendo encontrada amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais do mundo.

Do ponto de vista econômico, a melancia tem se destacado entre as principais olerícolas cultivadas no país, pois produziu em 2000/2001 cerca de 1.449.592 toneladas, participando expressivamente na produção total de hortaliças produzidas no Brasil. O valor nutritivo também confere a esta cucurbitácea considerável importância (Saturnino *et al.*, 1982; IBGE, 2001).

Como recurso genético, a melancia encontra-se representada no Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semi-Árido em Petrolina-PE. O BAG foi formado na década de 90 a partir de prospecções em diferentes regiões do Nordeste brasileiro (BAG), sendo os acessos coletados na forma de sementes e frutos provenientes da agricultura tradicional, objetivando-se o resgate e a conservação de amostras de sementes de diversas cucurbitáceas. Atualmente, o BAG é composto por aproximadamente 600 acessos de melancia, dentre outras espécies (Queiroz, 1993; Queiroz, 1998; Queiroz *et al.*, 2001) e a preservação do germoplasma tem sido realizada na forma de semente, mantida em câmara fria a 10°C e 40% de umidade relativa, sendo multiplicada a campo (Queiroz, 1998).

A forma como a coleção foi reunida e o conhecimento da prática de intercâmbio de sementes por parte dos agricultores no local de coleta sugere a existência de possíveis duplicatas no BAG de melancia. A ocorrência de duplicatas dentro de coleções de germoplasma encarece e dificulta a manutenção adequada do germoplasma, gerando problemas de organização e impossibilitando o acesso de usuários potenciais ao recurso genético (Strauss *et al.*, 1989; Beuselinck & Steiner, 1992).

Os trabalhos de caracterização podem contribuir para identificação de possíveis duplicatas e fornecer dados que facilitem a organização dos acessos em bancos de germoplasma (Ritschel *et al.* 1999). A quantificação da diversidade genética de acessos de melancia do BAG de Cucurbitáceas tem sido normalmente realizada a partir da caracterização morfológica, o que tem possibilitado a identificação de descritores específicos que mais contribuem para a variabilidade genética desse germoplasma (Romão, 1995; Ramos, 1996).

Romão (1995) avaliou 26 descritores na caracterização morfológica de 39 acessos de melancia, que após análise multivariada foi sugerida uma lista de 21 descritores para ser utilizada com a finalidade de caracterizar acessos de melancia.

Na caracterização morfológica de germoplasma de alho Sobrinho *et al.* (1999) utilizou 89 acessos, obtendo como resultado a constatação de 85% de duplicatas. Os acessos avaliados foram distribuídos em treze grupos que foram definidos como os mais distintos

morfologicamente pela análise multivariada e de componentes principais. Os constituintes de cada grupo, que apresentaram maior similaridade genética entre acessos e maior homogeneidade dentro de cada grupo, foram considerados como duplicatas, sendo relatados pelos autores a eficiência dos descritores morfológicos na distinção de acessos de alho.

A caracterização baseada em caracteres morfológicos implica na descrição da variabilidade genética de acessos conservados em bancos de germoplasma fornecendo informações sobre a variabilidade intra e interpopulacional e organização da coleção para conservação a longo prazo no sentido de reduzir duplicatas ou o número de acessos, agrupando aqueles que são mais similares (Ritschel *et al.*, 1999). Contudo, efeitos ambientais podem influenciar na expressão dos caracteres, dificultando a seleção dos mesmos. Por esta razão os marcadores moleculares têm sido aplicados para auxiliar processos de caracterização de acessos de mantidos em bancos, uma vez que os mesmos acessam informações ao nível de DNA, eliminando possíveis interferências ambientais (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

Oliveira *et al.* (2002) verificaram a variabilidade genética em 55 clones de batata-doce, com base em marcadores bioquímicos, os quais possibilitaram a discriminação individual de 32 clones, sendo que os 23 restantes foram reduzidos a sete grupos distintos. Os clones de cada um dos sete grupos foram considerados como materiais de um mesmo genótipo (duplicatas), por ter apresentado o mesmo fenótipo isoenzimático e terem exibido, também, características morfológicas similares.

Os estudos realizados por Assis (1994) baseados em isoenzimas mostraram a diversidade entre os acessos de *C. lanatus* e de *C. lanatus* var. *citroides*, contudo nenhuma divergência foi encontrada entre os acessos de *C. lanatus*, sendo este resultado contraditório com os revelados por Romão (1995) que verificou ampla variabilidade genética com base em descritores morfológicos.

Com o avanço da biologia molecular diferentes técnicas foram desenvolvidas para acessar informações ao nível de DNA. Os marcadores de DNA têm sido indicados na caracterização de germoplasma, uma vez que revelam o polimorfismo de um gene expresso ou de um segmento específico do DNA (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Dentre os diferentes marcadores, o baixo custo, a rapidez na obtenção dos dados e a necessidade de pouca quantidade de DNA, têm contribuído para a utilização de marcadores do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphism of DNA*; Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso). Esta técnica é baseada na PCR (*Polymerase Chain Reaction*; Reação em Cadeia da Polimerase) e utiliza um único *primer* para dirigir a reação.

Capeloto (2003) aplicou a técnica RAPD na caracterização molecular de dezoito acessos de melancia do BAG de Cucurbitáceas, sendo dezesseis coletados na Ilha de São Francisco, São

Luís-MA e dois outros nos municípios de Itapicuru e Barra do Corda no mesmo Estado, revelando variabilidade genética na população estudada. O agrupamento dos acessos, utilizando o programa UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average) possibilitou a distribuição dos mesmos, primeiramente, em dois grupos principais A e B, sendo que o grupo B englobou a maioria dos acessos. Os acessos mais divergentes foram coletados na ilha de São Luís e os acessos coletados nos municípios diferentes apresentaram muita similaridade com os demais acessos, não se podendo associar diversidade genética com diversidade geográfica. Vale salientar, contudo, que apesar dos acessos serem provenientes de um mesmo local, exceto dois deles, foi encontrada diversidade entre os mesmos. O autor, entretanto, não procedeu uma caracterização morfológica dos mesmos acessos, pois permitiria se observar a descrição da variabilidade com os dois tipos de marcadores.

Assim sendo, este trabalho teve por objetivo caracterizar morfológica e molecularmente, por meio da técnica de RAPD, 42 acessos de melancia coletados em três regiões do estado da Bahia e uma cultivar comercial, para examinar o poder de discriminação dos dois tipos de marcadores com vista ao estudo da variabilidade existente no Banco Ativo de Germoplasma de melancia da Embrapa Semi-Árido.

M ATERIAL E MÉTODOS

Foram caracterizados 42 acessos de melancia do Banco Ativo de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido os quais foram coletados na forma de sementes de polinização livre em três regiões distintas do estado da Bahia (sendo 13 da Chapada Diamantina, 15 da região de Irecê e 14 da região de Vitória da Conquista). Foi incluída a variedade comercial ‘Crimson Sweet’ como testemunha (Tabela 1). É importante destacar que as três regiões são relativamente afastadas entre si, esperando-se que as sementes dos agricultores estejam isoladas, exceto das ações de permuta que ocorre entre produtores das mais variadas regiões (Romão, 1995).

O experimento de campo foi realizado no Campo Experimental de Bebedouro (Petrópolis, PE), conforme delineamento de blocos ao acaso com três repetições, com parcelas constituídas por seis plantas, num espaçamento de 3,0 x 0,8 m, sendo avaliadas, individualmente, as três plantas centrais de cada parcela. A irrigação foi por sulco e os tratos culturais e fitossanitários foram os mesmos utilizados rotineiramente para cultivo da melancia no Campo Experimental.

Foram utilizados os seguintes descritores: (1) comprimento do ramo principal (CP, em m); (2) diâmetro do ramo principal (DR, em cm); (3) número de ramos (NR); (4) produção por planta (PP, em kg); (5) número de frutos por planta (NF); (6) peso do fruto (PF, kg); (7) diâmetro transversal do fruto (DT, em cm); (8) diâmetro longitudinal do fruto (DL, em cm); (9) formato do fruto correspondendo a um índice proveniente da divisão do diâmetro transversal pelo diâmetro longitudinal (FF); (10) espessura da casca na região do pedúnculo (ECP, em cm); (11) da inflorescência (ECI, em cm); (12) da região distal (ECD, em cm) e (13) proximal (ECS, em cm) do solo; (14) cor da polpa (CP) conforme a escala de notas (1 – vermelha; 2 – rosa intenso; 3 – rosa médio; 4 – rosa claro e 5 – branca); (15) cor externa do fruto (CF), conforme escala de notas (1 – verde escuro; 2 – verde médio; 3 – verde claro e 4 – amarelo); (16) padrão de listras da casca do fruto (PL), conforme escala de notas (1 – sem listras; 2 – listra larga; 3 – listra estreita e 4 – mosqueado) e (17) teor de sólidos solúveis (TS, em °Brix).

Os dados foram analisados estatisticamente sendo as médias comparadas por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Foram estimadas as distâncias generalizadas de Mahalanobis entre os acessos, ao passo que os grupos foram delimitados conforme o método de agrupamento de Tocher. Todas as análises foram efetuadas no programa GENES (Cruz, 2001).

Um quantitativo de 324 indivíduos (repetições de 43 acessos) e a variedade comercial ‘Crimson Sweet’, foram avaliados molecularmente através da técnica RAPD sendo que para extração do DNA foi empregado o protocolo de Ferreira & Grattapaglia (1996), com algumas modificações. O mesmo consistiu na maceração do tecido vegetal no aparelho *Thermo Savant* e na ressuspensão com tampão de extração (CTAB 2%), utilizando 700µL por amostra. As

amostras foram submetidas ao banho-maria a uma temperatura de 60 a 65°C por 30 minutos, sendo os tubos agitados a cada 10 minutos. Em cada amostra foram adicionados 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) e os tubos foram vertidos por 20 vezes até formar uma emulsão homogênea. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 11.000 rpm por 10 minutos e a fase aquosa pipetada para um novo tubo, no qual foram adicionados 360 µL de isopropanol frio, a fim de precipitar o DNA. Logo após, os tubos foram centrifugados a 11.000 rpm por 15 minutos, formando o *pellet* de DNA, possibilitando o descarte do sobrenadante. A fim de limpar o *pellet*, o mesmo ficou submerso em 1 mL de etanol 70% por 5 minutos, e após o descarte deste álcool, foi adicionado mais 1 mL de etanol 95%, ficando o mesmo submerso por 2 minutos. O *pellet* foi secado a vácuo e posteriormente ressuspendido em 150 µL de Tris-EDTA (TE), contendo 10 µg de RNase e incubado a 37°C por 30 minutos.

A quantificação do DNA foi realizada em géis de agarose 1% (p/v), comparando visualmente as intensidades das bandas do DNA extraído com bandas do DNA do fago lambda com concentrações conhecidas (100 a 500 ng). Após a quantificação, o DNA foi diluído em uma concentração de 3 ng/µL, para ser utilizado nas reações de amplificação.

Para as reações de amplificação do DNA também foi utilizado o protocolo de Ferreira & Grattapaglia (1996) com alguns ajustes para melancia. Sessenta e oito *primers* foram submetidos à seleção, sendo identificados 26 polimórficos, contudo apenas seis foram utilizados nas análises devido à exigüidade de tempo disponível. O mix de reação foi preparado para um volume final de 13 µL a partir de *primer* a 10 ng/µL, Tam pão 10xPCR contendo cloreto de magnésio; DNTPs 2,5 mM/µL, BSA 2,5 mM/µL, Taq polimerase 1u. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador PTC-100 da MJ Research Inc. O programa foi iniciado com pré-desnaturação a 96°C, por 1 minuto, seguida de 40 ciclos de 1 minuto a 92°C, 1 minuto a 35°C e 2 minutos a 72°C, com extensão final de 5 minutos a 72°C. Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5 % (p/v), usando tampão TEB pH 8,0 (0,09 M de Tris; 0,09 M de ácido bórico e 2 mM de EDTA), a uma tensão constante de 3 V/cm. Os géis foram corados com 10 µL de brometo de etídio (10 mg/mL) diluídos em 100 mL de TEB e documentados sob luz ultravioleta. Foi utilizado padrão de peso molecular de 1 kb para identificar os fragmentos. Como o RAPD consiste em um marcador dominante, os fragmentos amplificados foram interpretados, em uma matriz, como presença (1) ou ausência (0) de bandas. Com base nesta matriz foram mensuradas a porcentagem de locos polimórficos (quociente entre o número de bandas polimórficas e o numero total de bandas) e a variabilidade genética entre os acessos (AMOVA-*Analysis of Molecular Variance*), utilizando o programa Arlequin (Schneider *et al.*, 1997; Excoffier *et al.*, 1992). Também foram estimadas as médias dos

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

coeficientes de similaridade de Jaccard entre os acessos, sendo que os mesmos foram agrupados pelo método de Tocher, empregando o programa GENES (Cruz, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de 15 descritores avaliados apresentaram diferenças significativas entre os acessos pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, embora, os acessos não tenham apresentado diferença para as características diâmetro do ramo principal e número de frutos (Tabelas 2 e 3). Esses resultados evidenciam a existência de variabilidade genética entre os 42 acessos avaliados. Embora os efeitos ambientais tenham sido pronunciados para alguns descritores, especialmente aqueles que são controlados por muitos genes e, portanto, foram mais influenciados pelo ambiente (Allard, 1971), como a produção por planta e seus componentes peso e número de frutos, como se pode verificar pela magnitude dos coeficientes de variação (Tabelas 2 e 3).

Em particular, os coeficientes de variação dos descritores que medem a espessura da casca se mostraram elevados, particularmente a espessura da casca na região do pedúnculo (Tabela 3). É provável que esses valores altos sejam decorrentes da dificuldade de se obter um valor preciso da espessura da casca dos frutos dos acessos que não apresentam uma distinção nítida entre a casca e polpa, sendo determinada pela comparação da textura da polpa com a da casca. Outra causa de elevação dos coeficientes de variação para os descritores avaliados pode ser a variação entre indivíduos dentro dos acessos o que é esperado no material experimental utilizado. Entretanto, os valores dos coeficientes de variação dos demais descritores foram médios e indicam uma boa precisão na condução do experimento de campo (Tabelas 2 e 3).

O comprimento do ramo principal apresentou variação entre os acessos avaliados, encontrando-se vários acessos muito vigorosos, destacando-se o acesso 24 (Tabela 2). Mesmo assim, vários acessos não diferiram da cultivar ‘Crimson Sweet’. Esse caráter é importante porque determina o espaçamento entre plantas em cultivos comerciais. O número de ramos variou pouco entre os acessos sendo formado por dois grupos (Tabela 2). Esse caráter pode ter correlação com a produção de frutos por planta, porém, os acessos avaliados não apresentaram variação para esse caráter, diferentemente dos resultados obtidos por Queiroz *et al.* (2001) e Ferreira (1996) onde os acessos apresentaram uma prolificidade variando de 1,2 a 6,3 frutos por planta..

O acesso 24 apresentou a menor média de produção por planta (3,26 kg) diferindo, significativamente, dos demais acessos que chegaram a produzir até mais de 8 quilogramas por planta. Os acessos mais produtivos não diferiram significativamente da cultivar ‘Crimson Sweet’ e, como não foram melhorados para produtividade, mostram o grande potencial que apresentam para programas de melhoramento de melancia visando a obtenção de plantas produtivas. Contudo, considerando a tendência dos consumidores por frutos menores, o peso médio de frutos

dos acessos avaliados variou de 2 a 6 quilogramas, mostrando que os mesmos poderão ser incorporados em programas de melhoramento de melancia que visem o desenvolvimento de cultivares com essas características.

No que tange aos descritores do fruto, observa-se que houve uma variação acentuada para o formato de fruto, cor externa, cor da polpa (Figura 1) e teor de sólidos solúveis. Esses descritores foram avaliados com boa precisão, pois os coeficientes de variação dos mesmos ficaram quase todos abaixo de 15%, exceto cor externa do fruto que ficou em 18% (Tabelas 2 e 3). O formato do fruto, estabelecido a partir da relação entre o diâmetro e o comprimento, foi predominantemente oval, isto é, com uma relação entre 0,50 e 0,79, seguido pelos frutos considerados esféricos (0,80 a 0,94). Apenas três acessos apresentaram frutos considerados longos (relação abaixo de 0,50) e dois esféricos (0,95 a 1,00). O acesso 22 foi o mais esférico (0,98) entre os acessos avaliados. O formato do fruto é uma característica importante, pois os frutos ovais e esféricos apresentam maior porção de polpa comestível. Por outro lado, o formato esférico poderá apresentar vantagens para acomodação em caixas, principalmente no caso de frutos pequenos. Em um estudo de caracterização morfológica de 25 acessos de melancia coletados na região de Irecê-BA e Pastos Bons-MA, Queiróz *et al.* (2001) encontraram predominância de acessos de frutos alongados e ovais, três acessos de frutos redondos e apenas um acesso de frutos esféricos. De acordo com Mohr (1986), o formato alongado apresenta dominância incompleta sobre formato esférico, sendo essa a provável razão para que o formato esférico tenha baixa frequência nos acessos avaliados.

Quanto à cor da polpa todos os acessos avaliados apresentaram diversas tonalidades variando de branca a rósea e nenhum deles se igualando à testemunha que ficou isolada em um grupo (Tabela 3). Vale salientar que o comportamento dos acessos avaliados foi comparável ao comportamento dos acessos avaliados por Romão (1995) e Queiroz *et al.* (2001). Segundo Mohr (1986), a cor da polpa é determinada por poucos genes sendo a cor vermelha dominante sobre a cor de polpa amarela, porém, recessiva sobre a cor branca, significando que é um caráter simples para ser melhorado (Figura 1f e 1g). De fato, Ferreira (1996) encontrou variância genética aditiva para cor de polpa indicando que a seleção recorrente poderá melhorar esse caráter. Dois acessos apresentaram cor externa dos frutos de mesmo padrão de 'Crimson Sweet' (Tabela 3), sendo que os demais apresentaram cores variando de verde claro a escuro (Figura 1c e 1e). Vale salientar que o tipo 'Crimson Sweet' é a cor predominante comercialmente no país. No entanto, a característica de fruto mais significativa é o teor de açúcar, indicado pelo teor de sólidos solúveis totais que variou de 5 a 7,3°Brix, podendo ser identificados pelo teste de Tukey três grupos, sendo o primeiro formado pela cultivar 'Crimson Sweet' que apresentou a maior média; o segundo grupo pelo acesso 8 com Brix 7,27° e o terceiro composto pela maioria dos acessos,

cujas médias variaram de 5 a 7°Brix (Tabela 3). O teor de sólidos solúveis da amostra analisada no presente trabalho mostrou-se maior neste estudo quando comparado com as avaliações realizadas por Romão (1995) e foram semelhantes aos valores encontrados por Queiroz *et al.* (2001).

Quando foram estimadas as distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2) entre todos os acessos, incluindo a testemunha ‘Crimson Sweet’, ficou evidente a dissimilaridade desta em relação a todos os outros acessos, tanto que ao serem agrupadas conforme o método de Tocher, ocorreu a formação de apenas dois grupos, sendo um deles formado somente pela cultivar comercial e o outro pelos acessos do BAG. Por outro lado, quando estas estimativas foram obtidas sem a cultivar ‘Crimson Sweet’, ocorreu a formação de nove grupos entre os acessos coletados na Bahia. O grupo I foi formado por 29 dos 42 acessos avaliados, incluindo acessos oriundos das três regiões da Bahia. No segundo e terceiro grupos ficaram agrupados, respectivamente três e quatro acessos, porém, cada grupo era de uma região específica (Tabela 4).

Comportamento semelhante foi encontrado por Ramos (1996) com *C. moschata* Duch. quando caracterizou 40 acessos de abóbora provenientes da agricultura tradicional de três regiões do Nordeste brasileiro e encontrou dez grupos, sendo o primeiro grupo formado por 65% dos acessos, o segundo grupo apresentou três acessos, três grupos foram formados com dois acessos cada e cinco grupos foram constituídos de um único acesso.

O primeiro grupo apresentou acessos de diferentes regiões que mostraram semelhança. De acordo com Romão (1995), existe uma forte troca de sementes entre agricultores e considerando que a agricultura tradicional do Nordeste brasileiro é um *continuum*, é possível que essa situação favoreça o aparecimento de tipos semelhantes, além da infiltração de ‘Crimson Sweet’. Vale salientar que por ser uma espécie alógama sua polinização é realizada por insetos, preferencialmente abelhas da espécie *Apis mellifera*, o que pode favorecer o transporte de pólen entre roças (Hodges & Baxendale, 1995). Contudo, a seleção praticada pelos agricultores tende a fixar tipos distintos e isso pode explicar o aparecimento de grupos específicos, muitas vezes formados de um único acesso. Essa situação é reforçada quando se observa que dois acessos de uma mesma região são os mais distantes ($D^2 = 90,66$). A permuta de sementes também pode explicar a falta de relação entre procedência geográfica e diversidade genética. Por exemplo, Kaloo e Sidhu (1982) em *Cucumis melo* (L.) e Amaral Júnior (1994) em *C. maxima* Duch. não encontraram relação entre a procedência geográfica dos acessos avaliados e a diversidade genética dos mesmos.

No entanto, uma das finalidades da análise multivariada é a identificação de descritores que possam ser utilizados na descrição de acessos. Para fazer isto, Singh (1981) propôs que os

descritores fossem selecionados com base na contribuição relativa dos mesmos para a divergência. Os descritores comprimento do ramo principal, espessura da casca na região de inflorescência, padrão de listras dos frutos, teor de sólidos solúveis, formato de fruto, cor externa dos frutos, espessura da casca na região distal, peso do fruto e número de ramos representam 85% da variabilidade entre os acessos. O restante dos descritores deve ser descartado porque acrescentam pouca informação para discriminar os acessos (Tabela 5). Ramos (1996) em uma caracterização de *C. moschata* Duch. encontrou 11 descritores que explicaram 81% da variabilidade entre os acessos. Os descritores morfológicos eleitos por Ramos (1996) são bem diferentes daqueles selecionados no presente trabalho, pois o descritor que apresentou o maior poder de discriminação foi o comprimento da semente, um descritor que não foi utilizado no presente trabalho. Também não foram utilizados os descritores que medem precocidade (número de dias para o aparecimento da flor masculina e feminina). Porém, o diâmetro do caule no presente trabalho não apresentou nenhum poder de discriminação em contraposição ao trabalho de Ramos (1996) onde foi o quinto em importância para discriminar os acessos.

Contudo, apesar das limitações dos descritores morfológicos, quanto ao poder de discriminar acessos os mesmos podem ser considerados satisfatórios, uma vez que no presente estudo foi possível indicar nove características relevantes na discriminação de acessos de melancia. Todavia, devido a influências ambientais, torna-se necessário examinar se os descritores moleculares RAPD poderão apresentar maior poder de discriminação entre os acessos (tabela 6).

De fato, os mesmos acessos quando agrupados com base em locos RAPD, mesmo incluindo a cultivar comercial (43), ficaram distribuídos em um maior número de grupos (Tabela 7). Foram formados 28 grupos que, em alguns casos, coincidiram com o agrupamento realizado a partir de dados morfológicos. Contudo, nos grupos I, II e III ficaram alocados acessos diferentes daqueles do agrupamento morfológico, como por exemplo os acessos 10 e 28 do grupo I baseado em dados moleculares. Os acessos do grupo II morfológico (1, 4 e 6) ficaram em grupos diferentes no agrupamento molecular. Comportamento semelhante ocorreu com o grupo III morfológico, já que os acessos 18, 22, 23 e 27 ficaram em diferentes grupos com base nos dados moleculares (Tabela 7). O fato de acessos coletados na mesma região ficarem em grupos diferentes é explicado por Romão (1995) e Ramos (2003) que relatam o intercâmbio de sementes e seleção de tipos, promovido pelos agricultores, na tentativa de atender as demandas comerciais. Atitudes como estas podem favorecer agrupamentos de tipos específicos. Como evidenciado pela análise de variação molecular onde foi observada uma variabilidade genética de 46,3% dentro de acessos e 29%, entre os acessos dentro da mesma região, demonstrando ampla variabilidade entre acessos da mesma região. Já a variabilidade entre acessos coletados em

regiões diferentes foi de 24,6%, justificando a observação de acessos de diferentes regiões no mesmo grupo, devido à similaridade genética entre eles. A porcentagem de locos polimórficos evidencia tais resultados, pois variou de 11% (Acesso 1) a 61% (Acesso 13) (Tabela 8). Os padrões de amplificação podem ser observados na figura 2.

Levi *et al.* (2000), ao caracterizar acessos de melancia com marcadores RAPD, também detectaram ampla variabilidade e alto poder discriminante, pois foram formados três grupos, sendo que no primeiro ficaram agrupadas cultivares comerciais; no segundo, acessos de *C. lanatus* var. *citroides*; e, no terceiro *C. colocynthis*. Como esperado, os resultados obtidos por estes autores, demonstraram maior variação genética entre acessos de *Citrullus lanatus* var. *citroides* e de *C. colocynthis* quando comparados com as cultivares comerciais. Tais resultados estão em conformidade com os encontrados por Navot & Zamir (1987) utilizando isoenzimas e Jarret *et al.* (1997) usando microsátélites que agruparam mais de 33 acessos em quatro grupos com 25% de similaridade, sendo encontrada ainda equivalência entre os resultados com microsátélites e RAPD. Contudo, Hashizume *et al.* (1996), Zhang *et al.* (1993) e Lee *et al.* (1996), usando RAPD, detectaram baixo nível de polimorfismo em *C. lanatus*, diferentemente dos obtidos com este trabalho, já que alguns acessos de *C. lanatus* apresentaram alto polimorfismo.

Comparando-se os resultados obtidos em ambas análises de agrupamento nota-se a coincidência de alguns acessos em permanecerem próximos ou fazendo parte do mesmo grupo (12, 13, 19, 34, 37, 38 e 42) o que pode indicar a presença de materiais duplicados no BAG de melancia, segundo os critérios estabelecidos por Oliveira *et al.* (2002). Contudo, maior certeza poderá ser alcançada após aplicação de mais iniciadores na análise molecular, somando-se a estes, informações sobre origem geográfica e de passaporte ou conforme indicação na literatura para identificação de acessos duplicados em banco de germoplasma.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam o maior poder discriminante dos marcadores moleculares, o que pode ser atribuído à possibilidade de uma maior cobertura do genoma, ao contrário dos marcadores morfológicos que ocorrem em menor número. Com isto, os marcadores moleculares do tipo RAPD mostraram-se eficientes na discriminação de acessos de melancia.

Considerando que o BAG de melancia do Nordeste brasileiro tem mais de 500 acessos (Queiróz, 1998), os marcadores RAPD poderão ser utilizados para se avaliar a variabilidade dos acessos disponíveis no BAG de modo a formar uma coleção nuclear para fins de conservação de longo prazo e otimização do uso dos acessos em programas de melhoramento.

AGRADECIMENTOS

A primeira autora agradece ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa para finalização do curso de mestrado, à Dra. Maria Aldete J. F. Ferreira pelo apoio nas análises estatísticas e a Prof. Dra. Ana Maria Benko-Iseppon coordenadora do curso de mestrado em genética da UFPE e a Prof. Dra. Luiza Suely Semen Martins, pelo apoio e sugestões. Os dois primeiros autores agradecem à Embrapa Semi-Árido e à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia o apoio para realização dos trabalhos de campo e de laboratório.

LITERATURA CITADA

ALLARD, R.W. *Princípios do Melhoramento de Plantas*. 2 ed. John Willey, New York, 1971, 331p.

AMARAL JÚNIOR, A.T. *Análise multivariada e isozimática da divergência genética entre acessos de moranga (Cucurbita maxima Duch.)*. 1994. 95p. Tese (Mestrado em Agronomia), UFV, Viçosa.

ASSIS, J.G.A. *Estudos genéticos no gênero Citrullus*. 1994. 71p. Tese (Mestrado em Agronomia), UNESP, Jaboticabal.

BEUSELINCK, P.R.; STEINER, J.J. A proposed framework for identifying, quantifying and utilizing plant germoplasm resources. *Field Crop Research*, v. 29, p. 261-272, 1992.

CAPELOTO, A. *Caracterização Molecular entre e dentro de acessos de melancia através de RAPD-PCR*. 2003. 62p. Tese (Mestrado em Agronomia), UNESP/, Jaboticabal.

CRUZ, C.D. *Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística*. 4. ed. UFV, Viçosa, 2001. 648 p.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, PE.; QUATRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* v. 131, n. 2,p. 479-491, Nov. 1992.

FERREIRA, M.A.J.F. *Análise dialélica em melancia [Citrullus lanatus (Thunb.) Mansf.]*. 1996. 83 p. Tese (Mestrado em Agronomia), UNESP, Jaboticabal.

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 2. ed. Brasília, Embrapa-CENARGEN, 1996. 220 pp.

HASHIZUME. T.; SHIMAMOTO. I.; HARUSHIMAY, Y.U.I.M.; SATO, T.; IMAI, T.; HIRAI, M. Construction of a linkage map for watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Euphytica*, v. 9, p. 265-273, Jun.1996.

HODGES, L.; BAXENDLE, F. Bee pollination of cucurbit crops. *Horticulture*. versão eletrônica, julho 1995. ianrpubs.unl.edu/horticulture/nf50.html.

IBGE. Anuário Estatístico do Brasil/SIDRA 2001. Rio de Janeiro. 2001. [http:// www.ibge.gov.br/](http://www.ibge.gov.br/)
Capturado em 10/02/2004.

JARRET, R.L.; MERRICK, L.C.; HOLMS, T.; EVANS, J.; ARADHYA, M.K. Simple sequence repeats in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]. *Genome*, v. 40, p. 433-441, Mar.1997.

KALOO, J.D.; SIDHU, A.S. Genetic divergence in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Genética Agraria*, v. 36, p. 1-8, Out.1982.

LEE, S.J.; SHIN, J.S.; PARK, K.W.; HONG, Y.P. Detection of genetic diversity using RAPD-PCR and sugar analysis in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.] germplasm. *Theoretical Applied Genetics*, v. 9, p. 719-725, Mai.1996.

LEVI, A.; THOMAS, C.E.; KEINATH, A.P.; WEHNER, T.C. Estimation of genetic diversity among *Citrullus* accessions using RAPD markers. *Acta Horticulturae*, v. 510, p. 385-390, Set. 2000.

MOHR, H.C. Watermelon Breeding. In: BASSET, M.L. (Ed.) *Breeding vegetables crops*. Westport, 1986. cap.3, p. 33-66.

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

NAVOT, N.; ZAMIR, D. Isozyme and seed protein of the genus *Citrullus* (Cucurbitaceae). *Plant Systematic Evolucion*, v. 156, p. 61-67, Mar.1987.

OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; SEDIYAMA, T.; FINGER, F.L.; CRUZ, C.D. Variabilidade genética em batata-doce com base em marcadores isoenzimáticos. *Horticultura Brasileira*, v.20, p. 576-582, Jun.2002.

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

QUEIRÓZ, M.A. Cucurbitáceas no semi-árido do Nordeste brasileiro: resgate, conservação e uso. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 15., Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: ESALQ/Departamento de Genética, 1998.pp.1-12.

QUEIROZ, M.A.; ROMÃO, R.L.; ASSIS, J.G.A. Avaliação botânico-agronômica de acessos de melancia (*Citrullus lanatus*) coletados nas regiões de Irecê-Ba e Pastos Bons-MA. *Sitientibus - Série Ciências Biológicas*, v. 1, p. 79-83, Jan. 2001.

RAMOS, S.R.R. *Divergência genética baseada em marcadores moleculares AFLP e indicação de coleção nuclear de Cucurbita moschata para o Nordeste do Brasil*. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Agronomia), UENF, Goytacazes.

RAMOS, S.R.R. *Avaliação da variabilidade morfoagronômica de abóbora (Cucurbita moschata Duch.) do Nordeste brasileiro*. 1996. 71 p. Tese (Mestrado em Agronomia), UFV, Viçosa.

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

RITSCHER, P.S.; THOMAZELLI, L.C.; HUAMÁN,Z. Caracterização morfológica do germoplasma de batata-doce mantido pela EPAGRI. Brasília: Embrapa-CNPH, 1999. 7p.

SATURNINO, H.M.; PAIVA, B.M.; GOTIJO, V.P.M.; FERNANDES, D.P. Cucurbitáceas: aspectos estatísticos. *Informe Agropecuário*, v. 8, p. 3-21, 1982.

Silva ML (2004) *Caracterização Morfológica e Molecular de Acessos de Melancia...*

SCHNEIDER, S.; KUEFFER, J.M.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. Arlequin, versão 1.1. A software for population genetics data analysis. *Genetic and Biometry*, University of Geneva, Switzerland. 1997.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, v. 41, p. 237-245, Mar.1981.

STRAUSS, M.S.; PINO, J.A.; COHEN, J.I. Quantification of diversity in *ex-situ* plant collections. *Diversity*, v. 16, p.30-32, 1989.

ZHANG, X.P.; RHODES, B.B.; KORUPSKA, H.S. RAPD molecular markers in watermelon. Cucurbit Genetic Cooperation Report, v.17, p. 116-119, Set.1993.



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

Figura 1. Descritores morfológicos para melancia. Observa-se variabilidade genética dos acessos coletados na agricultura tradicional quanto à cor externa (a, b, c, d), padrão de listras (b, d), formato do fruto (a, b, e, f) e cor da polpa (e, f).

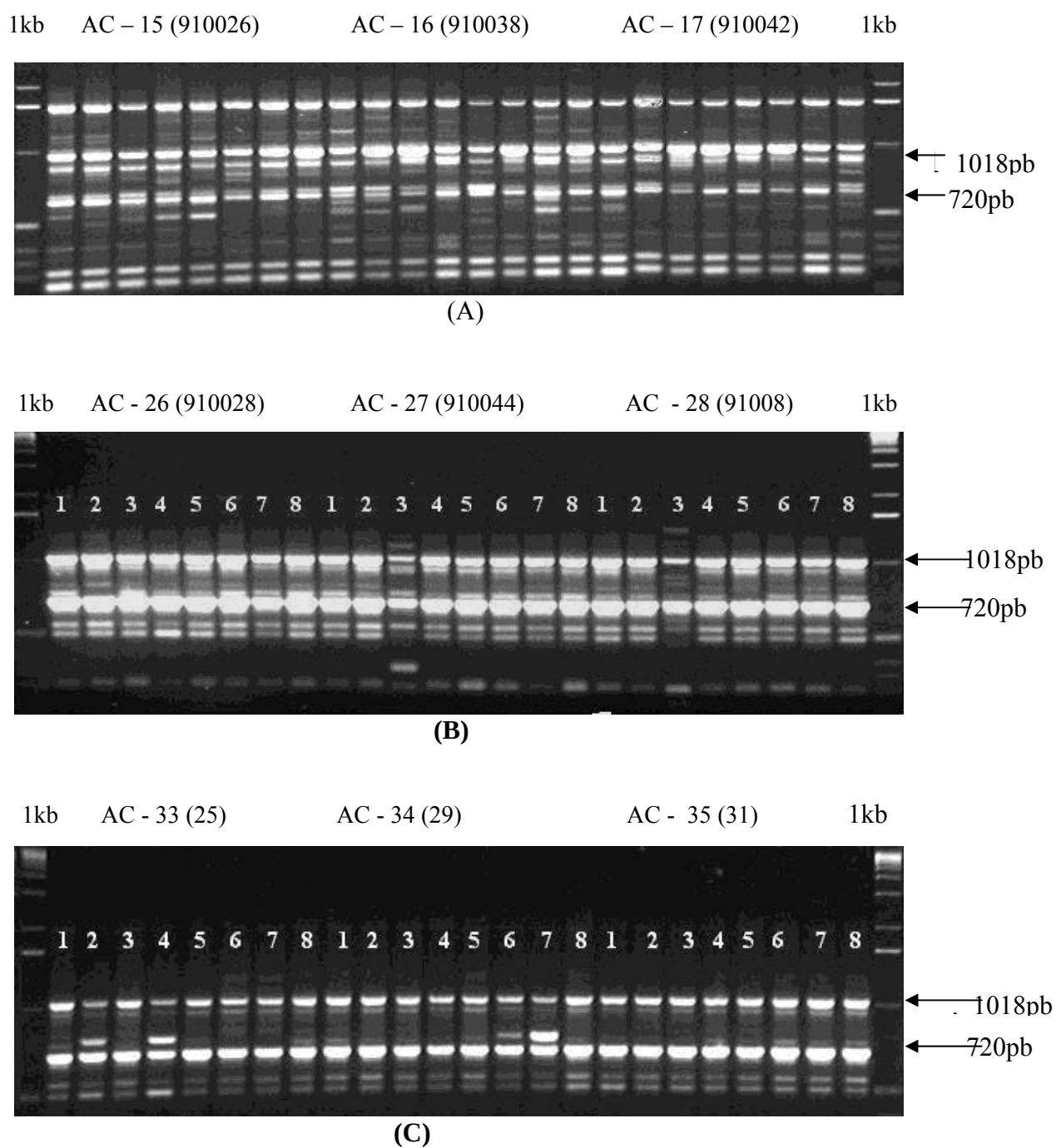


Figura 2. Padrão de amplificação de DNA de acessos de melancia, coletados em diferentes regiões do Estado da Bahia, obtida com o *primer* OPO-02. (A) repetições de acessos da Chapada Diamantina; (B) repetições de acessos do município de Irecê; (C) repetições de acessos coletados em Vitória da Conquista. Primeira e última amostra de cada gel refere-se a marcadores de peso molecular de 1 kb.

Tabela 1. Origem e código de entrada no BAG dos acessos utilizados nos experimentos de caracterização morfológica e molecular de melancia

Tratamentos	Local de coleta	Código no BA (Planta/código)	Região de Origem
T1	Jacobina	04/92-0322	Chapada Diamantina
T2	Jacobina	07/92-0190	
T3	Jacobina	10/92-0218	
T4	Jacobina	13/92-0218	
T5	Jacobina	14/920332	
T6	Jacobina	15/92-0307	
T7	Jacobina	20/92-0323	
T8	Jacobina	24/92-0216	
T9	Jacobina	27/92-0346	
T10	Jacobina	28/92-0340	
T11	Mirangaba	34/92-0274	
T12	Mirangaba	41/92-0286	
T13	Mirangaba	44/92-0079	
T14	Am. Dourada	B1/910064	Irecê
T15	Barro Alto	B2/910026	
T16	Barra	B3/910038	
T17	Itaguaçu	B4/910042	
T18	S. Gabriel	B5/91001	
T19	Cafarnaum	B6/910061	
T20	Itaguaçu	B7/910041	
T21	Xique-Xique	B8/910031	
T22	Itaguaçu	B9/910043	
T23	Pres. Dutra	B10/91002	
T24	Xique-Xique	B11/910030	
T25	Ibipepa	B12/910011	
T26	Canarana	B13/910028	
T27	Itaguaçu	B14/910044	
T28	Ibititá	B15/91008	
T29	Gavião	01	Próximo à Vitória da Conquista
T30	Gavião	10	
T31	Gavião	14	
T32	Gavião	19	
T33	Gavião	25	
T34	Gavião	29	
T35	Gavião	31	
T36	Gavião	34	
T37	Gavião	35	
T38	Gavião	40	
T39	Gavião	43	
T40	Gavião	44	
T41	Gavião	46	
T42	Gavião	47	
T43	Testemunha	Crimson Sweet	Testemunha

Tabela 2. Médias das características comprimento do ramo principal (CR), diâmetro do ramo principal (DR), número de ramos (NR), produção por planta (PP), número de frutos por planta (NF), peso do fruto (PF), diâmetro transversal do fruto (DT), diâmetro longitudinal do fruto (DL) e formato do fruto (FF) de 43 acessos de melancia conservados no BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido

Acessos	CR	DR	NR	PP	NF	PF	DT	DL	FF
1	5,28abcdefg	1,15a	5,89b	4,70abc	1,89a	2,82bc	27,78abc	14,19bcde	0,53efghi
2	6,33abcdef	1,18a	9,00ab	4,30abc	2,00a	4,47bc	22,48abcdefghi	12,55de	0,57cdefghi
3	5,26abcdefg	1,30a	8,56ab	3,64abc	1,78a	2,10c	27,02abcde	12,73cde	0,47hi
4	6,77abc	1,33a	7,11ab	4,20abc	1,67a	2,86bc	24,85abcdefghi	15,78bcde	0,64abcdefghi
5	6,80abc	1,13a	7,11ab	6,03abc	1,89a	3,82bc	22,20abcdefghi	17,36b	0,79abcdefghi
6	5,56abcdefg	1,20a	8,78ab	4,81abc	1,89a	3,12bc	28,90ab	13,89bcde	0,48hi
7	5,63abcdef	1,22a	8,56ab	5,26abc	2,33a	2,75bc	26,41abcdefgh	14,65bcde	0,58cdefghi
8	5,45abcdefg	1,16a	9,11ab	5,42abc	2,14a	3,14bc	24,71abcdefghi	16,24bcde	0,67abcdefghi
9	5,29abcdefg	1,21a	8,89ab	4,80abc	1,55a	3,58bc	27,53abc	15,69bcde	0,57cdefghi
10	3,98defg	1,03a	8,44ab	4,80abc	2,44a	2,17c	26,57abcdef	12,15e	0,46i
11	5,83abcdef	1,23a	7,33ab	4,73abc	2,00a	2,68c	24,02abcdefghi	13,99bcde	0,59cdefghi
12	5,79abcdef	1,40a	8,45ab	4,98abc	1,78a	2,82bc	26,48abcdefg	13,76bcde	0,52fghi
13	4,26cdefg	1,33a	9,56ab	5,39abc	1,89a	2,60c	23,76abcdefghi	14,62bcde	0,62bcdefghi
14	6,75abc	1,51a	10,22ab	6,30abc	2,00a	3,80bc	27,42abc	13,66bcde	0,51ghi
15	5,55abcdefg	1,22a	8,67ab	5,35abc	1,44a	3,53bc	23,86abcdefghi	15,17bcde	0,67abcdefghi
16	6,17abcdef	1,38a	11,00ab	5,40abc	1,67a	3,72bc	20,60abcdefghi	16,61bcd	0,81abcdefgh
17	6,55abcde	1,34a	10,78ab	4,39abc	2,00a	2,59c	17,16cdefghi	15,01bcde	0,87abcd
18	6,60abcd	1,46a	9,78ab	4,28abc	2,33a	2,88bc	15,93fghi	15,19bcde	0,95ab
19	4,78bcdefg	1,31a	11,11ab	5,82abc	2,22a	4,27bc	26,99abcde	15,87bcde	0,59cdefghi
20	6,13abcdef	1,16a	9,66ab	7,20abc	2,44a	3,64bc	23,98abcdefghi	14,72bcde	0,61bcdefghi
21	5,11abcdefg	1,19a	9,45ab	4,06abc	1,78a	2,51c	16,65defghi	14,63bcde	0,88abcd
22	7,35ab	1,22a	7,67ab	4,09abc	2,44a	2,19c	14,35i	14,06bcde	0,98a
23	5,52abcdefg	0,93a	8,34ab	3,85abc	2,33a	2,06c	15,77ghi	13,43bcde	0,85abcdef
24	7,66a	1,34a	10,22ab	3,26c	2,22a	1,99c	16,32efghi	13,08bcde	0,81abcdefgh
25	4,92abcdefg	1,27a	9,56ab	5,71abc	2,33a	3,29bc	20,18abcdefghi	14,89bcde	0,75abcdefghi
26	3,94defg	1,16a	7,89ab	8,37abc	1,89a	5,93b	29,93a	17,09bc	0,57cdefghi
27	5,69abcdef	1,12a	9,56ab	3,40bc	1,78a	2,58c	15,68hi	14,17bcde	0,91abc
28	3,80efg	1,49a	11,67a	6,31abc	2,33a	3,36bc	21,22abcdefghi	15,59bcde	0,74abcdefghi
29	4,60cdefg	1,10a	9,67ab	8,44ab	2,67a	4,41bc	22,74abcdefghi	16,31bcde	0,73abcdefghi
30	5,26abcdefg	1,01a	8,55ab	5,17abc	2,56a	2,49c	19,54abcdefghi	14,66bcde	0,76abcdefghi
31	6,06abcdef	1,03a	9,78ab	5,57abc	2,22a	3,03bc	18,01cdefghi	14,13bcde	0,78abcdefghi
32	4,52cdefg	1,18a	8,89ab	5,62abc	2,33a	3,26bc	22,22abcdefghi	14,70bcde	0,66abcdefghi
33	4,76bcdefg	1,22a	8,00ab	4,60abc	2,11a	2,76bc	20,97abcdefghi	13,53bcde	0,66abcdefghi
34	3,80efg	1,12a	7,78ab	5,23abc	2,00a	3,48bc	20,76abcdefghi	14,91bcde	0,73abcdefghi
35	3,60fg	0,93a	6,78ab	6,04abc	2,22a	3,96bc	20,88abcdefghi	15,32bcde	0,76abcdefghi
36	4,97abcdefg	1,18a	8,67ab	4,95abc	2,22a	3,58bc	25,15abcdefgh	13,60bcde	0,56defghi
37	4,82bcdefg	1,19a	9,11ab	5,64abc	2,11a	3,64bc	20,70abcdefghi	15,41bcde	0,78abcdefghi
38	4,79bcdefg	1,04a	8,56ab	6,95abc	2,44a	3,68bc	23,31abcdefghi	16,38bcde	0,72abcdefghi
39	5,79abcdef	1,16a	10,00ab	6,19abc	2,56a	3,32bc	18,39bcdefghi	15,89bcde	0,87abcde
40	4,79bcdefg	1,33a	9,33ab	5,91abc	2,11a	3,12bc	21,71abcdefghi	15,74bcde	0,75abcdefghi

Tabela 2. Continuação

Acessos	CR	DR	NR	PP	NF	PF	DT	DL	FF
41	4,91bcdefg	1,20a	8,89ab	6,36abc	2,00a	4,24bc	19,28abcdefgh	16,37bcde	0,85abcdef
42-	4,34cdefg	1,16a	7,33ab	5,57abc	2,00a	3,67bc	19,01bcdefghi	15,71bcde	0,83abcdefg
43	2,84g	0,97a	6,67b	8,62a	1,11a	9,47a	27,09abcd	22,73a	0,84abcdefg
CV(%)	15,57	14,70	19,05	28,64	28,07	28,30	14,49	8,80	14,55

■ Chapada Diamantina; ■ Irecê; ■ Vitória da Conquista; ■ Crimson Sweet'
Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 3. Médias de características de fruto obtidas de 43 acessos de melancia para Espessura da casca na região do pedúnculo (ECP), Espessura da casca na região da inflorescência (ECI), Espessura da casca na região distal (ECD), Espessura da casca na região do proximal do solo (ECS), Cor da polpa (CP), Cor externa do fruto (CF), Padrão de listras (PL), Teor de sólidos solúveis (TS) conservados no BAG de cucurbitáceas

Acessos	CP	TS	ECP	ECI	ECD	ECS	CF	PL
1	4,11ab	6,60bcd	2,03ab	1,29abcd	1,12abc	1,20abc	2,11abc	3,00abc
2	4,55ab	5,64bcd	1,26b	0,91abcd	1,00abc	1,09abc	2,78ab	2,55abcd
3	3,44b	6,40bcd	2,18ab	1,08abcd	1,24abc	1,16abc	2,22abc	1,56abcd
4	4,45ab	6,15bcd	1,70ab	0,94abcd	0,89abc	0,91abc	2,56ab	2,11abcd
5	4,00ab	6,31bcd	1,80ab	1,26abcd	1,09abc	1,15abc	2,11abc	2,56abcd
6	4,33ab	6,00bcd	2,20ab	1,39abcd	1,26abc	1,13abc	2,33abc	2,78abcd
7	3,89ab	6,19bcd	1,59ab	0,99abcd	1,00abc	1,21abc	2,67ab	1,89abcd
8	3,56ab	7,27b	2,13ab	1,13abcd	1,35abc	1,49abc	2,67ab	2,00abcd
9	3,22b	6,76bcd	1,87ab	1,19abcd	1,40abc	1,41abc	2,67ab	2,22abcd
10	4,22ab	5,23bcd	2,62ab	1,18abcd	1,10abc	1,18abc	1,44bc	1,22cd
11	4,33ab	5,25bcd	2,46ab	0,86abcd	1,07abc	1,04abc	2,78ab	2,55abcd
12	4,11ab	5,79bcd	2,60ab	1,21abcd	1,27abc	1,27abc	2,44abc	2,00abcd
13	4,44ab	6,32bcd	1,73ab	0,97abcd	1,05abc	1,13abc	2,22abc	2,67abcd
14	4,00ab	6,33bcd	1,80ab	1,07abcd	1,06abc	1,23abc	2,89ab	1,33bcd
15	3,89ab	6,73bcd	1,79ab	0,92abcd	1,08abc	1,06abc	2,78ab	1,67abcd
16	3,56ab	6,91bcd	2,13ab	0,86abcd	0,97abc	1,08abc	2,33abc	2,00abcd
17	5,00a	5,22bcd	1,18b	0,82bcd	0,79bc	0,77c	1,00c	1,00d
18	3,89ab	6,38bcd	1,67ab	1,05abcd	1,13abc	1,21abc	2,44abc	2,11abcd
19	4,00ab	6,62bcd	1,63ab	1,40abcd	1,35abc	1,45abc	3,00a	2,11abcd
20	4,22ab	6,11bcd	1,74ab	1,74a	1,21abc	1,33abc	2,33abc	2,67abcd
21	4,44ab	5,19cd	3,60a	0,89abcd	0,85abc	1,05abc	1,78abc	1,33bcd
22	4,44ab	5,56bcd	1,40b	0,75bcd	0,99abc	1,00abc	2,56ab	2,11abcd
23	4,33ab	5,34bcd	1,07b	0,61cd	0,66c	0,70c	2,67ab	1,89abcd
24	4,33ab	5,03d	1,44ab	0,69cd	0,81bc	0,82bc	2,56ab	3,45a
25	3,55ab	6,96bcd	1,65ab	1,36abcd	1,18abc	1,19abc	2,11abc	2,89abcd
26	3,44b	7,19bc	2,32ab	1,24abcd	1,48ab	1,63ab	2,78ab	2,55abcd
27	4,33ab	6,73bcd	1,01b	0,52d	0,67c	0,82bc	1,55abc	2,00abcd
28	4,11ab	6,96bcd	1,64ab	0,95abcd	1,01abc	1,01abc	2,78ab	2,00abcd
29	4,11ab	6,20bcd	1,99ab	1,15abcd	1,40abc	1,51abc	2,33abc	3,22ab
30	3,89ab	6,49bcd	1,86ab	0,82bcd	1,31abc	1,38abc	2,45abc	2,33abcd
31	3,78ab	6,20bcd	1,38b	0,81bcd	1,02abc	1,19abc	2,56ab	2,11abcd
32	4,00ab	6,29bcd	1,38b	0,96abcd	1,01abc	1,29abc	3,00a	1,67abcd
33	4,33ab	6,73bcd	1,62ab	0,79bcd	0,96abc	1,08abc	2,67ab	2,00abcd
34	4,00ab	6,89bcd	1,41ab	1,04abcd	1,05abc	1,15abc	2,44abc	2,00abcd
35	3,89ab	6,41bcd	2,23ab	1,61ab	1,45ab	1,35abc	2,44abc	1,45bcd
36	3,89ab	6,40bcd	1,74ab	1,49abc	1,16abc	1,32abc	2,67ab	1,89abcd
37	3,89ab	6,80bcd	1,73ab	1,16abcd	1,11abc	1,21abc	2,56ab	1,78abcd
38	4,00ab	6,69bcd	2,12ab	1,59ab	1,60a	1,65a	2,33abc	2,11abcd
39	4,11ab	6,59bcd	1,55ab	1,19abcd	1,11abc	1,35abc	2,78ab	1,89abcd
40	4,22ab	6,76bcd	2,33ab	0,92abcd	1,32abc	1,26abc	2,22abc	2,67abcd

Tabela 3. Continuação.

Acesso	CP	TS	ECP	ECI	ECD	ECS	CF	PL
41	3,04b	6,55bcd	1,80ab	1,05abcd	1,36abc	1,52abc	2,56ab	1,67abcd
42	4,00ab	6,94bcd	2,01ab	1,31abcd	1,22abc	1,33abc	2,56ab	2,89abcd
43	1,00c	10,84a	1,83ab	0,64cd	1,11abc	1,10abc	3,00a	2,00abcd
CV(%)	11,53	9,69	35,67	25,15	20,55	20,82	18,01	11,53

■ Chapada Diamantina; ■ Irecê; ■ Vitória da Conquista; ■ ‘Crimson Sweet’

Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Grupos de similaridade entre 42 acessos de melancia determinados pelo método de Tocher a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis

Grupos	Acessos																			
I	3	5	7	8	9	11	12	13	14	15	16	19	20	25	26	29	30	31	32	33
	34	35	36		37	38	39	40	41	42										
II	1	4	6																	
III	18	22	23	27																
IV	24																			
V	21																			
VI	17																			
VII	2																			
VIII	28																			
IX	10																			

■ Chapada Diamantina; ■ Irecê; ■ Vitória da Conquista

Tabela 5. Contribuição relativa, em porcentagem, de treze características de melancia para a divergência genética em acessos coletados no estado da Bahia

Características	Contribuição Relativa (%)
Comprimento do ramo principal	14,2
Espessura da casca na região da inflorescência	13,2
Padrão de listras	10,2
Teor de sólidos solúveis	9,5
Formato do fruto	9,4
Cor externa do fruto	8,1
Espessura da casca na região distal	7,1
Peso do fruto	7,0
Número de ramos	6,1
Produção por planta	2,4
Espessura da casca na região do pedúnculo	4,6
Espessura da casca na região do proximal do solo	2,5
Cor da polpa	5,6

Tabela 6. *Primers* e suas respectivas seqüências utilizadas na avaliação de acessos de melancia mostrando número de bandas polimórficas, monomórficas e número de amplificons

Primers	Seqüências	Número de bandas		Total
		Polimórficas	Monomórficas	
OPB-14	5'-TCCGCTCTGG-3'	5	10	15
OPF-02	5'-GAGGATCCCT-3'	6	3	9
OPF-16	5'-GGAGTACTGG-3'	7	11	18
OPO-02	5'-ACGTAGCGTC-3'	5	4	9
OPO-07	5'-CAGCACTGAC-3'	5	2	7
OPO-09	5'-TCCCACGCAA-3'	3	3	6
Totais locos		31	34	64

Tabela 7. Grupos de similaridade entre 41 acessos e uma cultivar comercial (Crimson Sweet) de melancia determinados pelo método de Tocher a partir de coeficientes de similaridade de Jaccard

Grupos	Acessos											
I	10	11	12	13	19	28	34	36	37	38	42	
II	5	32										
III	1	27	33									
IV	4	30										
V	39											
VI	25											
VII	15											
VIII	24											
IX	22											
X	14											
XI	18											
XII	17											
XIII	26											
XIV	‘Crimson Sweet’ (Testemunha)											
XV	21											
XVI	23											
XVII	16											
XVIII	20											
IX	41											
XX	31											
XXI	40											
XXII	9											
XXIII	8											
XXIV	7											
XXV	2											
XXVI	3											
XXVII	29											
XXVIII	6											

Chapada Diamantina; Irecê; Vitória da Conquista

Tabela 8. Percentagem de locos polimórficos de acessos *C. lanatus* do BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido

Acessos	Nº de locos polimórficos	% de locos polimórficos	Acessos	Nº de locos polimórficos	% de locos polimórficos
1	7	10,93	22	32	50
2	19	29,68	23	32	50
3	16	25	24	15	23,43
4	30	46,87	25	29	45,31
5	23	35,93	26	26	40,62
6	15	24,43	27	29	45,31
7	14	21,87	28	29	45,31
8	12	18,75	29	14	21,87
9	24	37,5	30	18	28,12
10	22	34,37	31	22	34,37
11	23	39,39	32	24	37,5
12	37	57,81	33	16	25
13	39	60,93	34	13	20,3
14	15	23,47	35	19	29,68
15	24	37,5	37	22	45,31
16	21	32,81	38	22	34,37
17	10	15,62	39	29	45,31
18	23	35,93	40	11	17,8
19	30	46,87	41	14	21,87
20	25	45,31	42	15	23,43
21	29	50			

■ Chapada Diamantina; ■ Irecê; ■ Vitória da Conquista; ■ ‘Crimson Sweet’

ABSTRACT

The genetic variability of watermelon accessions collected from different regions of the State of Bahia is stored in the Watermelon Germplasm Bank and was evaluated using morphological descriptors and molecular markers (RAPD – Random Amplified Polymorphism of DNA). Seventeen morphological descriptors and 64 RAPD loci (monomorphic and polymorphic) were used. The field trial for the morphological evaluation was carried out in a randomized block with three replications. The molecular evaluation of the same accessions was done using eight plants from each accession, totalizing 324 individuals. The morphological data were analyzed statistically and the means were compared by Tukey test at 5% of probability level. Multivariate analyses using Mahalanobis distance, similarity coefficient of Jaccard and Tocher grouping method were performed. The percentage of polymorphic loci and genetic variability of the accessions were also estimated. Ten different groups from the morphological data were identified, but, in group I, accessions from different regions were found. Nine descriptors accounted for 85% of the variability among accessions. The molecular analysis identified similarity groups. Twenty eight groups from molecular data were identified, some of them, coincident with morphological groups. The molecular variance indicates 46,3% of genetic variability among accessions and 24,6% within accessions from different regions. Both results indicate the existence of genetic variability within and among accessions collected in different regions of the State of Bahia, as well as, confirm the applicability of morphological descriptors to identify accessions with important traits to be used in breeding programs. Therefore, the association of morphological data to molecular markers is an important tool for characterization of accessions from Germplasm Bank.

5. CONCLUSÕES GERAIS

1. Há variabilidade genética dentro e entre os 43 acessos de melancia que estão sendo conservados no BAG de Cucurbitáceas, sendo que os mesmos apresentam características que podem ser exploradas em programas de melhoramentos.
2. Os descritores morfológicos comprimento do ramo principal, espessura da casca na região da inflorescência, padrão de listra, teor de sólidos solúveis, formato do fruto, cor externa do fruto, espessura da casca na região distal, peso do fruto e número de ramos representam caracteres de importância para o melhoramento e responderam por 85% da variação entre os acessos, devendo ser aplicados na caracterização morfológica de germoplasma de melancia.
3. A associação da caracterização morfológica com a molecular é importante na discriminação mais efetiva de acessos, com vista em uma seleção para conservação a longo prazo. Além disso, adotando-se a caracterização molecular é possível avaliar um número efetivamente maior de amostras, o que constitui vantagens na organização de bancos de germoplasma.
4. Comparando-se a caracterização morfológica com a caracterização molecular verifica-se a superioridade dos marcadores moleculares, observada no maior número de grupos obtidos com os marcadores RAPD. Somando-se a isto, efeitos ambientais podem ser eliminados, havendo uma cobertura mais ampla do genoma. Contudo, para uma comparação mais efetiva entre esses dois marcadores é necessário que na avaliação molecular seja aplicado um maior número de *primers*, visando uma avaliação mais eficiente da amplitude de variação gerada por cada marcador.

ANEXOS

6.1 INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

NOTICE TO CONTRIBUTORS

Scope and Policy

Genetics and Molecular Biology (formerly named *Revista Brasileira de Genética/Brazilian Journal of Genetics* - ISSN 0100-8455) is published quarterly by the Sociedade Brasileira de Genética (Brazilian Society of Genetics).

The Journal considers contributions that present the results of original research in genetics, evolution and related scientific disciplines.

Although **Genetics and Molecular Biology** is an official publication of the Brazilian Society of Genetics, contributors are not required to be members of the Society.

It is a fundamental condition that submitted manuscripts have not been and will not be published elsewhere. With the acceptance of a manuscript for publication, the publishers acquire full and exclusive copyright for all languages and countries.

The use of registered names and trademarks does not imply, even in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protective laws and regulations and therefore free for general use.

Submission of Papers

1. Manuscripts should be submitted to:

Fábio de Melo Sene, Editor-in-Chief
Genetics and Molecular Biology
Rua Capitão Adelmio Norberto da Silva, 736
14025-670 Ribeirão Preto, SP - Brasil

2. A submission package sent to the Editorial Office must contain:

- a) A cover letter signed by all authors stating that they have approved the submission of the manuscript and that the findings have not been published or are not under consideration for publication elsewhere;
- b) Three copies of the manuscript and figures.
- c) Two copies of any unpublished or in-press companion articles referred to in the submission.
- d) A copy of the text, tables and figures on a disk. Be sure that the disk is adequately protected; if a disk arrives damaged, a new disk will be requested, causing delays in publication. Formats for text are Word or RTF, in Windows platform. Images in TIF or JPG formats should be sent in separate files (For Figures, see detailed instructions in 3.1.g). Disk must be labeled with the first author's last name, platform and software. (See detailed instructions below). Failure to adhere to these guidelines can delay the handling of your contribution, and manuscripts may be returned before being reviewed.

3. Categories of Contribution

3.1. Research Articles

Manuscripts must be written in English in double-spaced, 12-point type throughout, including the References Cited section, appendices, tables and legends; printed on one side only of A4 paper with 2.5 cm margins; marked with consecutive page numbers, beginning with the cover page.

The following elements must start on a new page and be ordered as they are listed below:

a) **The title page** must contain: a concise and informative title; the authors' names (first name at full length); the authors' institutional affiliation, including department, institution, and city, state or province, and country; different affiliations indicated with superscript numbers; a short running title of about 35 characters, including spaces; up to five key words; the corresponding author's name, postal address, phone and fax numbers and email address. The corresponding author is the person responsible for checking the page proofs, and arranging for the payment of color illustrations and author's alteration charges.

b) **The Abstract** must be a single paragraph that does not exceed 200 words and summarizes the main results and conclusions of the study. It should not contain references.

c) **The text** must be as succinct as possible. *Text citations*: articles should be referred to by authors' surnames and date of publication; citations with two authors must include both names; in citations with three or more authors, name the first author and use "et al". Only articles that are published or in press should be cited. In the case of personal communications or unpublished results, all contributors must be listed by initials and last name (*et al* should not be used). *Numbers*: In the text, numbers nine or less must be written out except as part of a date, a fraction or decimal, a percentage, or a unit of measurement. Use Arabic numerals for numbers larger than nine. Avoid starting a sentence with a number. *Binomial Names*: Latin names of genera, species and intraspecific taxa in the text must be printed in italics; names of orders and families should be in the Title.

The text includes the following elements:

Introduction – Description of the background that led to the study.

Material (or Subjects) and Methods – Details relevant to the conduct of the study. Statistical methods should be explained at the end of this section.

Results – Undue repetition in text and tables should be avoided. Comment on significance of results is appropriate but broader discussion should be part of the Discussion section.

Discussion – The findings of the study should be placed in context of relevant published data. Ideas presented in other publications should not be discussed solely to make an exhaustive presentation.

Some manuscripts may require different formats appropriate to their content.

d) **The Acknowledgments** must be a single paragraph that immediately follows the discussion and includes references to grant support.

e) **The References Section:** citations must be ordered alphabetically by the first author; only articles that are published or in press should be included; personal communications must be cited within the text; journal titles must be abbreviated according to Medline (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/jrbrowser.cgi>).

Sample journal article citation:

Breuer ME and Pavan C (1955) Behaviour of polytene chromosomes of *Rhyncosciara angelae* at different stages of larval development. *Chromosoma* 7:371-386.

Bertollo LAC, Takahashi CS and Moreira-Filho O (1978) Cytotaxonomic consideration on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Rev Bras Genet* 1:103-120.

Sample book citation:

Salzano FM and Freire-Maia N (1967) *Populações Brasileiras*. Companhia Editora Nacional and EDUSP, São Paulo, 178 pp.

Dobzhansky T (1951) *Genetics and Origin of Species*. 3rd edition. Columbia University Press, New York, 364 pp.

Sample chapter-in-book citation:

Carvalho A, Monaco LC and Krug CA (1966) Melhoramento genético das plantas e sua repercussão econômica. In: Pavan C and da Cunha AB (eds) *Elementos de Genética*. 2nd ed. EDUSP and Companhia Editora Nacional, São Paulo, pp 587-653.

Sample abstracts in meeting citation:

Basile R (1973) Cromossomos Politénicos em células nutritivas de ovócitos de ovário atrofiado de *Rhyncosciara*. *Ciênc e Cult* 25 (suppl): 248. XXV Reunião Anual da SBPC, Rio de Janeiro, Brazil.

Sample Thesis/Dissertation citation:

Frota-Pessoa O (1953) Revision of the *Tripunctata* group of *Drosophila* with description of fifteen new species. PhD Thesis, Universidade do Brasil, Rio de Janeiro.

f) **Tables** each table must start on a new page. A concise title should be provided above the table. Tables must be numbered consecutively in Arabic numerals. Each column must have a title in the box head. Footnotes, typed directly below the table, should be indicated in lowercase superscript numbers.

g) **Figures** must be numbered consecutively in Arabic numerals. Legends should be typed on a separate sheet. Three sets of illustrations of the highest quality must be provided, one original and two copies in glossy paper. If you have created figures electronically, submit them also as hard copies. Scanned figures should not be submitted. Images should be in TIF or JPG format and provided in separate files. Figures in Word format cannot be published. Journal quality reproduction will require grayscale and color at resolution yielding 300 ppi. Authors should submit bitmapped line art at resolution yielding 600–1200 ppi. These resolutions refer to the output size of the file; if it is anticipated that images will be enlarged or reduced, the resolutions should be adjusted accordingly. Identify each illustration by affixing on the back a label containing: the number of the figure, the name of the first author, and an arrow indicating top of illustration. Illustrations supplied on disks must follow instructions in item 2 (Submission package). Color illustration can be accepted, but authors are asked to defray the cost. For costs of color figures, check with the Editorial Office.

h) **Nomenclature:** current standard international nomenclature should be adhered to.

i) **Sequences** may appear in text or in figure. DNA must be sequenced on both strands. DNA, RNA, or protein sequences equal to or greater than 50 units must be entered into appropriate data bank and the accession number must be provided before publication of the article. Long sequences requiring more than two pages to reproduce will not be published unless the Editorial decision is that the publication is necessary. Complete mtDNA sequence will not be published.

j) **Data access:** reference should be made to availability of detailed data and materials used for reported studies.

k) **Ethical issues:** Reports of experiments on live vertebrates must include a brief statement that the work was approved by the institutional review board. For experiments involving human subjects, authors must also include a statement that informed consent was obtained from all subjects. If photos or any other identifiable data are included, a copy of the signed consent must accompany the manuscript.

3.2 **Short Communications** present brief observations that do not warrant full-length articles. They should not be considered preliminary communications. Their format is that of full-length article. The text must be kept to a minimum.

3.3 **Letters to the Editor** relate or respond to recent published items in the journal. Discussions of political, social and ethical issues of interest to geneticists are also welcome in this form.

3.4 **Review Articles** are welcome.

3.5 **Book Reviews:** publishers are invited to submit books on Genetics, Evolution and related disciplines, for review in the journal.

3.6 **History, Story and Memories:** accounts on historical aspects of Genetics relating to Brazil.

4. Proofs

Page proofs will be sent to the corresponding author. Changes made to page proofs, apart from printer's errors, will be charged to the authors. Notes added in proof require Editorial approval.

Subscription

Membership to the Brazilian Society of Genetics entitles subscription to **Genetics and Molecular Biology**. For nonmembers and institutions, the annual subscriptions rates (4 issues/year) are:

Brazil and other South American Countries (Air Mail): Institutional - R\$ 300,00; Personal: R\$ 150,00

Other Countries (Air Mail): Institutional - US\$ 300.00; Personal - US\$ 50.00

6.2 INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA HORTICULTURA BRASILEIRA

normas

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Tipos de trabalho

O periódico *Horticultura Brasileira* (HB) é a revista oficial da Sociedade de Olericultura do Brasil. HB destina-se à publicação de artigos técnico-científicos que descrevem trabalhos originais sobre hortaliças, plantas medicinais e ornamentais que venham contribuir, significativamente, para o desenvolvimento destes setores.

A Comissão Editorial necessita da anuência de todos autores do(s) trabalho(s), que devem assinar a carta de encaminhamento ou a primeira página do trabalho original. Caso um ou mais autores não possa(m) assinar, a razão deve ser mencionada na carta de encaminhamento. Neste caso, o autor correspondente deverá se responsabilizar pela anuência do(s) faltante(s). Os artigos submetidos são revisados por dois consultores *ad hoc*s, sendo ainda analisados pelo Editor Associado especializado da área a que se refere o artigo. Cabe à Comissão Editorial tomar a decisão final de aceite, alteração ou rejeição do trabalho. Alterações só serão realizadas com a anuência do(s) autor(es). O autor correspondente receberá a versão gráfica do trabalho para análise e eventual correção. Nesta fase não serão aceitas modificações de conteúdo ou estilo. A HB não adota política de distribuição de separatas.

A HB aceita artigos técnico-científicos escritos em português, inglês ou espanhol. É composto das seguintes seções: 1. Artigo Convidado; 2. Carta ao Editor; 3. Pesquisa; 4. Economia e Extensão Rural; 5. Página do Horticultor; 6. Insumos e Cultivares em Teste; 7. Nova Cultivar; e 8. Comunicações.

1. ARTIGO CONVIDADO: tópico de interesse atual, a convite da Comissão Editorial;

2. CARTA AO EDITOR: assunto de interesse geral. Será publicada a critério da Comissão Editorial;

3. PESQUISA: artigo relatando um trabalho original, referente a resultados de pesquisa cuja reprodução é claramente demonstrada;

4. ECONOMIA E EXTENSÃO RURAL: trabalho na área de economia aplicada ou extensão rural;

5. PÁGINA DO HORTICULTOR: comunicação ou nota científica contendo dados e/ou informações passíveis de utilização imediata pelo horticultor;

6. INSUMOS E CULTIVARES EM TESTE: comunicação ou nota científica relatando ensaio com agrotóxicos, fertilizantes ou cultivares;

7. NOVA CULTIVAR: manuscrito relatando o registro de novas cultivares e germoplasma, sua descrição e disponibilidade, com dados comparativos;

8. COMUNICAÇÕES: seção destinada à comunicação entre leitores e a Comissão Editorial e vice-versa, na forma de breves avisos, sugestões e críticas. O texto não deve exceder 300 palavras, ou 1.200 caracteres, e deve ser enviado em duas cópias devidamente assinadas, acompanhadas de disquete e indicação de que o texto se destina à seção Comunicações. Por questões de espaço, nem todas as comunicações recebidas poderão ser publicadas e algumas poderão ser publicadas apenas parcialmente.

GUIDELINES FOR THE PREPARATION AND SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Subject Matter

Horticultura Brasileira (HB) is the official journal published quarterly by the Brazilian Society for Horticultural Science. HB publishes original papers which contribute to the scientific and technologic development of horticultural crops. The journal covers basic and applied researches on vegetable crops, medicinal herbs and ornamental plants.

The Editorial Board requires the signature of all authors on the first page of the original paper or on the submission letter. If one or more authors could not sign, the submission letter must contain the reason(s). In this case, the corresponding author will take the responsibility for the submitted paper. The manuscripts are examined by two reviewers of the specific research area. The Editorial Board makes the final decision on acceptance, changes or rejection. No changes will be made without the approval of the author(s). The corresponding author will receive the galley proof which should be corrected and returned to the publisher; changes in content and style should not be made. No offprint will be supplied.

Horticultura Brasileira (HB) is dedicated to publishing technical and scientific articles written in Portuguese, English or Spanish. HB has the following sections: 1. Invited Article; 2. Letter to the Editor; 3. Research; 4. Economy and Rural Extension; 5. Grower's Page; 6. Pesticides and Fertilizers in Test; 7. New Cultivar; and 8. Communications.

1. INVITED ARTICLE: deals with topics that arouse interest. Only invited articles are accepted in this section;

2. LETTER TO THE EDITOR: a subject of general interest. It will be accepted for publication after being submitted to a preliminary evaluation by the Editorial Board;

3. RESEARCH: manuscript describing a complete and original study in which the replication of the results has clearly been established;

4. ECONOMY AND RURAL EXTENSION: manuscript dealing with applied economy and rural extension;

5. GROWER'S PAGE: communications or short notes with information that could be quickly usable by farmers;

6. PESTICIDES AND FERTILIZERS IN TEST: communications or scientific notes describing tests with pesticides, fertilizers and cultivars;

7. NEW CULTIVAR: this section contains recent releases of new cultivars and germplasm and includes information on origin, description, availability, and comparative data;

8. COMMUNICATIONS: these have the objective of promoting communication among readers and the Editorial Board as short communications, suggestions and criticism, in a more informal way. They should be concise, not exceeding 300 words or 1,200 characters. These should be signed by author(s) and submitted in duplicate (original and one copy), along with a diskette that contains a copy of the text.

O periódico HB é publicado a cada três meses, de acordo com a quantidade de trabalhos aceitos.

Os trabalhos enviados para a HB devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos simultaneamente à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. Está também implícito que, no desenvolvimento do trabalho, os aspectos éticos e respeito à legislação vigente do *copyright* foram também observados. Manuscritos submetidos em desacordo com as normas não serão considerados. Após aceitação do manuscrito para publicação, a HB adquire o direito exclusivo de *copyright* para todas as línguas e países. Não é permitida a reprodução parcial ou total dos trabalhos publicados sem a devida autorização por escrito da Comissão Editorial da Horticultura Brasileira.

Para publicar na HB, é necessário que o primeiro autor do trabalho seja membro da Sociedade de Olericultura do Brasil e esteja em dia com o pagamento da anuidade. Cada artigo submetido deverá ser acompanhado da anuência à publicação de todos os autores, e será avaliado pela Comissão Editorial, Editores Associados e/ou Assessores *ad hoc*, de acordo com a seção a que se destina.

Submissão dos trabalhos

Os originais deverão ser submetidos em três vias, em programa Word 6.0 ou versão superior, **em espaço dois**, fonte arial tamanho doze. O disquete contendo o arquivo deverá ser incluído. Todas as fotos deverão ser enviadas no original. Figuras e/ou quadros deverão ser de boa qualidade.

Devido aos altos custos de impressão gráfica da revista, solicita-se aos autores que sejam sucintos na redação, utilizando o mínimo de tabelas, figuras e citações bibliográficas.

Os artigos serão iniciados com o título do trabalho, que não deve incluir nomes científicos, a menos que não haja nome comum no idioma em que foi redigido. Ao título deve seguir o nome, endereço postal e eletrônico completo dos autores (veja padrão de apresentação nos artigos publicados nos últimos volumes da Horticultura Brasileira).

A estrutura dos artigos obedecerá ao seguinte roteiro: 1. Resumo em Português ou Espanhol com palavras-chave ao final. As palavras-chave devem ser sempre iniciadas com o(s) nome(s) científico(s) da(s) espécie(s) em questão e nunca devem repetir termos para indexação que já estejam no título; 2. *Abstract*, em Inglês, acompanhado de título e *keywords*. O *abstract*, o título em Inglês e *keywords* devem ser versões perfeitas de seus similares em Português ou Espanhol; 3. Introdução; 4. Material e Métodos; 5. Resultados e Discussão; 6. Agradecimentos; 7. Literatura Citada; 8. Figuras e Tabelas. Este roteiro deverá ser utilizado para a seção Pesquisa. Para as demais seções veja padrão de apresentação nos artigos publicados nos últimos volumes da Horticultura Brasileira. Para maior detalhamento consultar a *home page* da SOB: www.hortciencia.com.br ou www.sobhortalica.com.br

As citações de artigos no texto deverão ser feitas conforme os exemplos: Esaú & Hoeffert (1970) ou (Esaú & Hoeffert, 1970). Quando houver mais de dois autores, utilize a expressão latina *et alli*, de forma abreviada (*et al.*), sempre em itálico, como segue: De Duve *et al.* (1951) ou (De Duve *et al.*, 1951). Quando houver mais de um artigo do(s) mesmo(s) autor(es), no mesmo ano, indicar por uma letra minúscula, logo após a data de publicação do trabalho, como segue: 1997a, 1997b.

The journal HB is issued every three months, depending on the amount of material accepted for publication.

HB publishes original manuscripts that have not been submitted elsewhere. With the acceptance of a manuscript for publication, the publishers acquire full and exclusive copyright for all languages and countries. Unless special permission has been granted by the publishers, no photographic reproductions, microform and other reproduction of a similar nature may be made of the journal, of individual contributions contained therein or of extracts therefrom.

Membership in the *Sociedade de Olericultura do Brasil* is required for publication. For the paper to be eligible for publication the first author must be a Society member and the manuscripts should be accompanied by the agreement for publication signed by the authors. All manuscripts will be evaluated by the Editorial Board, Associated Editors and/or *ad hoc* consultants in accordance with their respective sections.

Manuscript submission

Manuscripts should be submitted in **triplicate** (original and two copies) typed **double-spaced** (everything must be double spaced) and printed. Use of the "Arial" font, size 12, is required. Include a copy of the manuscript on computer diskette at submission. The Editorial Board will only accept 3.5 inch diskette which have the files copied on them using the program Word 6.0 or superior.

The title page should include: title of the paper (scientific names should be avoided); name(s) of author(s) and address(es). Please refer to a recent issue of HB for format.

The structure of the manuscript should include: 1. Abstract and Keywords. Keywords should start with scientific names and it should not repeat words that are already in the title; 2. Summary in Portuguese (a translation of the abstract will be provided by the Journal for non-Portuguese-speaking authors) and Keywords (Palavras-chave). 3. Introduction; 4. Material and Methods; 5. Results and Discussion; 6. Acknowledgements; 7. Cited Literature and 8. Figures and Tables. This structure will be used for the Research section. For other sections please refer to a recent issue of HB for format. You can also visit Hotr.Bras home page in the following addresses: www.hortciencia.com.br or www.sobhortalica.com.br.

Bibliographic references within the text should have the following format: Esaú & Hoeffert (1970) or (Esaú & Hoeffert, 1970). When there are more than two authors, use a reduced form, like the following: De Duve *et al.* (1951) or (De Duve *et al.*, 1951). References to studies done by the same author in the same year should be noted in the text and in the list of the Cited Literature by the letters a, b, c, etc., as follows: 1997a, 1997b.

In the Cited Literature, references from the text should be listed in alphabetical order by last name, without numbering them. Papers that have two or more authors should be listed in chronological order, following all the papers of the first

Na seção de Literatura Citada deverão ser listados apenas os trabalhos mencionados no texto, em ordem alfabética do sobrenome, pelo primeiro autor. Trabalhos com dois ou mais autores devem ser listados na ordem cronológica, depois de todos os trabalhos do primeiro autor. As referências bibliográficas deverão obedecer as normas da ABNT (NBR 6023, de 2002)

Exemplos:

a) Periódico:

VAN DER BERG, L.; LENTZ, C.P. Respiratory heat production of vegetables during refrigerated storage. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, v. 97, n. 3, p. 431-432, Mar. 1972.

b) Livro:

ALEXOPOULOS, C.J. *Introductory mycology*. 3. ed. New York: John Wiley, 1979. 632 p.

c) Capítulo de livro:

ULLSTRUP, A.J. Diseases of corn. In: SPRAGUE, G.F. (Ed.) *Corn and corn improvement*. New York: Academic Press, 1955. cap.3, p. 465-536.

d) Tese:

SILVA, C. *Herança da resistência à murcha de Phytophthora em pimentão na fase juvenil*. 1992. 72 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia), ESALQ, USP, Piracicaba.

e) Trabalhos apresentados em congressos (quando não incluídos em periódicos):

HIROCE, R.; CARVALHO, A.M.; BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C.; SANTOS, R.R.; GALLO, J.R. Composição mineral de frutos tropicais na colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., 1977, Salvador. *Anais...* Salvador: SBF, 1977. p. 357-364.

f) Trabalhos apresentados em congresso, publicados em revista/CD-ROM:

REIS, N. V. B. Comparação da evaporação externa com três modelos de estufas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.20, n.2, julho 2002. Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 42º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

g) Trabalhos apresentados em meio eletrônico:

g1) Periódico:

KELLY, R. Eletronic publishing at APS: Its not just online journalism. *HPS News Online*, Los Angeles, nov. 1996. Disponível em <<http://www.hps.org/hpsnews/19065.html>>. Acesso em 25 nov. 1998.

g2) Trabalhos apresentados em congresso:

SILVA, R. W.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma de qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: UFPe, 1996. Disponível em <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em 21 jan. 1997.

Uma cópia da prova tipográfica do manuscrito será enviada eletronicamente para o autor principal, que deverá fazer as possíveis e necessárias correções e devolvê-la em 48 horas. Correções extensivas do texto do manuscrito, cujo formato e conteúdo já foram aprovados para publicação, não são aceitáveis. Alterações, adições, deleções e edições implicarão novo exame do manuscrito pela Comissão Editorial. Erros e omissões presentes no texto da prova tipográfica corrigido e devolvido à Comissão Editorial são de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

author, second author and so on. Please refer to a recent issue of HB for more details. The bibliographic references should be done accordingly to the ABNT norms (NBR 6023, from 2002).

a) Journal:

VAN DER BERG, L.; LENTZ, C.P. Respiratory heat production of vegetables during refrigerated storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 97, n. 3, p. 431-432, Mar. 1972.

b) Book:

ALEXOPOULOS, C.J. *Introductory mycology*. 3. ed. New York: John Wiley, 1979. 632 p.

c) Chapter:

ULLSTRUP, A.J. Disease of corn. In: SPRAGUE, G.J., (Ed.) *Corn and corn improvement*. New York: Academic Press, 1955. p. 465-536.

d) Thesis:

SILVA, C. *Herança da resistência à murcha de Phytophthora em pimentão na fase juvenil*. 1992. 72 p. Tesis (master in phytopathology), ESALQ, USP, Piracicaba.

e) Articles from Scientific Events (when not published in journals):

HIROCE, R.; CARVALHO, A.M.; BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C.; SANTOS, R.R.; GALLO, J.R. Composição mineral de frutos tropicais na colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., 1977, Salvador. *Anais...* Salvador: SBF, 1977. p. 357-364.

f) Articles from scientific events, published in refereed journals:

REIS, N. V. B. Comparação da evaporação externa com três modelos de estufas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.20, n.2, julho 2002. Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 42º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

g) Articles published by eletronic means:

g1) Journal:

REIS, N. V. B. Comparação da evaporação externa com três modelos de estufas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.20, n.2, julho 2002. Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 42º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

g2) Articles from scientific events:

SILVA, R. W.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma de qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: UFPe, 1996. Disponível em <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em 21 jan. 1997.

A copy of the galley proof of the manuscript will be sent to the first author who should make any necessary corrections and send it back within 48 hours. Extensive corrections of the text of the manuscript, whose format and content have already been approved for publication, will not be accepted. Alterations, additions, deletions and editing implies that a new examination of the manuscript must be made by the Editorial Board. Errors and omissions which are present in the text of the corrected galley proof that has been returned to the Editorial Board are entirely the responsibility of the author.

Na seção de Literatura Citada deverão ser listados apenas os trabalhos mencionados no texto, em ordem alfabética do sobrenome, pelo primeiro autor. Trabalhos com dois ou mais autores devem ser listados na ordem cronológica, depois de todos os trabalhos do primeiro autor. As referências bibliográficas deverão obedecer as normas da ABNT (NBR 6023, de 2002)

Exemplos:

a) Periódico:

VAN DER BERG, L.; LENTZ, C.P. Respiratory heat production of vegetables during refrigerated storage. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, v. 97, n. 3, p. 431-432, Mar. 1972.

b) Livro:

ALEXOPOULOS, C.J. *Introductory mycology*. 3. ed. New York: John Wiley, 1979. 632 p.

c) Capítulo de livro:

ULLSTRUP, A.J. Diseases of corn. In: SPRAGUE, G.F. (Ed.) *Corn and corn improvement*. New York: Academic Press, 1955. cap.3, p. 465-536.

d) Tese:

SILVA, C. *Herança da resistência à murcha de Phytophthora em pimentão na fase juvenil*. 1992. 72 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia), ESALQ, USP, Piracicaba.

e) Trabalhos apresentados em congressos (quando não incluídos em periódicos):

HIROCE, R.; CARVALHO, A.M.; BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C.; SANTOS, R.R.; GALLO, J.R. Composição mineral de frutos tropicais na colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., 1977, Salvador. *Anais...* Salvador: SBF, 1977. p. 357-364.

f) Trabalhos apresentados em congresso, publicados em revista/CD-ROM:

REIS, N. V. B. Comparação da evaporação externa com três modelos de estufas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.20, n.2, julho 2002. Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 42º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

g) Trabalhos apresentados em meio eletrônico:

g1) Periódico:

KELLY, R. Electronic publishing at APS: Its not just online journalism. *HPS News Online*, Los Angeles, nov. 1996. Disponível em <<http://www.hps.org/hpsnews/19065.html>>. Acesso em 25 nov. 1998.

g2) Trabalhos apresentados em congresso:

SILVA, R. W.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma de qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: UFPe, 1996. Disponível em <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em 21 jan. 1997.

Uma cópia da prova tipográfica do manuscrito será enviada eletronicamente para o autor principal, que deverá fazer as possíveis e necessárias correções e devolvê-la em 48 horas. Correções extensivas do texto do manuscrito, cujo formato e conteúdo já foram aprovados para publicação, não são aceitáveis. Alterações, adições, deleções e edições implicarão novo exame do manuscrito pela Comissão Editorial. Erros e omissões presentes no texto da prova tipográfica corrigido e devolvido à Comissão Editorial são de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

author, second author and so on. Please refer to a recent issue of HB for more details. The bibliographic references should be done accordingly to the ABNT norms (NBR 6023, from 2002).

a) Journal:

VAN DER BERG, L.; LENTZ, C.P. Respiratory heat production of vegetables during refrigerated storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 97, n. 3, p. 431-432, Mar. 1972.

b) Book:

ALEXOPOULOS, C.J. *Introductory mycology*. 3. ed. New York: John Wiley, 1979. 632 p.

c) Chapter:

ULLSTRUP, A.J. Disease of corn. In: SPRAGUE, G.J., (Ed.) *Corn and corn improvement*. New York: Academic Press, 1955. p. 465-536.

d) Thesis:

SILVA, C. *Herança da resistência à murcha de Phytophthora em pimentão na fase juvenil*. 1992. 72 p. Tesis (master in phytopathology), ESALQ, USP, Piracicaba.

e) Articles from Scientific Events (when not published in journals):

HIROCE, R.; CARVALHO, A.M.; BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C.; SANTOS, R.R.; GALLO, J.R. Composição mineral de frutos tropicais na colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., 1977, Salvador. *Anais...* Salvador: SBF, 1977. p. 357-364.

f) Articles from scientific events, publised in refered jornsals:

REIS, N. V. B. Comparação da evaporação externa com três modelos de estufas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.20, n.2, julho 2002. Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 42º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

g) Articles publised by eletronic means:

g1) Journal:

REIS, N. V. B. Comparação da evaporação externa com três modelos de estufas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v.20, n.2, julho 2002. Suplemento 2. CD-ROM. Trabalho apresentado no 42º Congresso Brasileiro de Olericultura, 2002.

g2) Articles from scientific events:

SILVA, R. W.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma de qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: UFPe, 1996. Disponível em <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em 21 jan. 1997.

A copy of the galley proof of the manuscript will be sent to the first author who should make any necessary corrections and send it back within 48 hours. Extensive corrections of the text of the manuscript, whose format and content have already been approved for publication, will not be accepted. Alterations, additions, deletions and editing implies that a new examination of the manuscript must be made by the Editorial Board. Errors and omissions which are present in the text of the corrected galley proof that has been returned to the Editorial Board are entirely the responsibility of the author.