



ISSN 1676 - 1340

Dezembro, 2002

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 35***

### **Avaliação da variabilidade genética de acessos de melão tipo Cantaloupe utilizando marcadores moleculares RAPD**

Gláucia Salles Cortopassi Buso  
Hélio Márcio Ferreira Tavares  
José Amauri Buso

Brasília, DF  
2002

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte (Final) - Brasília, DF  
CEP 70770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600

Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária-Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Marcos Rodrigues de Faria

Marta Aguiar Sabo Mendes

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

Suplentes: Edson Junqueira Leite

José Roberto de Alencar Moreira

Supervisor Editorial: Miraci de Arruda Camara Pontual

Revisor de texto: Felisberto de Almeida

Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi

Tratamento de Ilustrações: Alysson Messias da Silva

Editoração Eletrônica: Alysson Messias da Silva

Foto capa: Fábio de Oliveira Freitas

Capa: Alysson Messia da Silva

**1ª edição**

1ª impressão (2002): tiragem 150

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

Buso, Gláucia Salles Cortopassi.

Avaliação da variabilidade genética de acessos de melão tipo Cantaloupe utilizando marcadores moleculares RAPD / Gláucia Salles Cortopassi Buso, Hélio Márcio Ferreira Tavares, José Amauri Buso. - Brasília : Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002.

19 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, ISSN 1676-1340 ; n. 35)

1. Melão tipo Cantaloupe - Variação genética - Marcadores moleculares. 2. Melão - Melhoramento genético. 3. Cucumis melo. I. Hélio Márcio Ferreira Tavares. II. José Amauri Buso. III. Título. II. Série.

581.35 CDD 21

© Embrapa 2002

# Sumário

<b>Resumo</b> .....	5
<b>Abstract</b> .....	7
<b>Introdução</b> .....	9
<b>Material e Métodos</b> .....	10
<b>Resultados e Discussão</b> .....	11
<b>Conclusões</b> .....	16
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	16
<b>Anexos</b> .....	18

# Avaliação da variabilidade genética de acessos de melão tipo Cantaloupe utilizando marcadores moleculares RAPD

---

*Gláucia Salles Cortopassi Buso<sup>1</sup>*

*Hélio Márcio Ferreira Tavares<sup>2</sup>*

*José Amauri Buso<sup>3</sup>*

## Resumo

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma espécie muito apreciada e de grande popularidade no mundo, tendo ocupado em 1999 uma área de 1,1 milhão de hectares para produção próxima de 20 milhões de toneladas de frutos. O Brasil é, atualmente, o terceiro produtor de melão da América do Sul, depois da Argentina e do Chile, com 17% da produção total. As cultivares de maior expressão, tanto em nível de produção como de mercado internacional, são os melões do tipo Cantaloupe, Amarelo Valenciano e Honey Dew, produzidos principalmente pela Espanha, Estados Unidos e Israel. Os melões do tipo Cantaloupe são os mais produzidos no mundo e os preferidos do mercado consumidor norte-americano. No Brasil são poucos os programas de melhoramento para o desenvolvimento de novas cultivares deste tipo. Para suprir a demanda de cultivares com melhores características, é necessário que melhoristas conheçam a variabilidade disponível no germoplasma de interesse e, se necessário, introduzam variabilidade genética com o objetivo de se aumentar as possibilidades de obtenção de novas cultivares. Uma forma ágil e eficiente de analisar a variabilidade é através da utilização de marcadores moleculares. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização molecular de acessos de melão, a maioria do tipo Cantaloupe, da coleção de germoplasma da Embrapa Hortaliças utilizando marcadores RAPD. A análise do dendrograma permitiu

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>2</sup> Estudante de graduação, UnB, Estagiário Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., PhD, Secretaria de Cooperação Internacional – SCl- Embrapa.

identificar dois grupos principais, o primeiro contendo em sua maioria acessos do tipo Cantaloupe e o segundo representado por acessos do tipo Amarelo. A similaridade genética variou de 0,53 a 0,98, com média de 0,76, entre os acessos de Cantaloupe analisados. Apesar da baixa variabilidade detectou-se alguns acessos divergentes. Esta informação pode ser importante na orientação de novos cruzamentos, e indica a possibilidade de extração de linhagens divergentes, importante no processo de obtenção de híbridos.

Termos para indexação:

Marcadores moleculares, *Cucumis melo* L., melão tipo Cantaloupe, melhoramento

# Genetic variability assessment of Cantaloupe type of melon using RAPD molecular markers

---

## Abstract

Melon (*Cucumis melo* L.) is a very appreciated species, of great popularity in the world, and have occupied in 1999 an area of 1,1 million hectares for an approximate production of 20 million tons of fruits. Brazil is, nowadays, the third melon producer of South America, after Argentina and Chile, with 17% of total production. The varieties of greater expression, at production and international market level, are of the following types: Cantaloupe melon, Yellow Valenciano and Honey Dew, produced mainly by Spain, United States and Israel. The Cantaloupe type of melons are the most produced in the world and the preferred in the American market. In Brazil there are few breeding programs for the development of new cultivars of this type of melon. To satisfy the necessity of better cultivars, it is necessary that breeders know the available variability in the germplasm of interest and if it is necessary to introduce genetic variability with the objective to increase the possibilities to obtain new cultivars. An agile way to efficiently analyze the variability is through the utilization of molecular markers. The objective of this work was to molecularly characterize melon accessions, the majority of the Cantaloupe type of the Embrapa Hortaliças germplasm collection utilizing RAPD molecular markers. Dendrogram analysis permitted to identify two main groups, the first one containing in its majority Cantaloupe type accessions and the second one with Yellow Valenciano type accessions. The genetic similarity varied from 0,53 a 0,98, with average of 0,76, among the analyzed Cantaloupe accessions. In spite of the low variability, some divergent accessions were detected. This information may be important for

8

Avaliação da variabilidade genética de acessos de melão tipo Cantaloupe utilizando marcadores moleculares RAPD

the orientation of new crossings, and it indicates the possibility of divergent lines extractions, important in hybrid obtaining process.

Index terms:

Molecular markers, muskmelon, *Cucumis melo* L., breeding

## Introdução

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma espécie muito apreciada e de grande popularidade no mundo, tendo ocupado em 1999 uma área de 1,1 milhão de hectares para produção próxima de 20 milhões de toneladas de frutos. O Brasil é, atualmente, o terceiro produtor de melão da América do Sul, depois da Argentina e do Chile, com 17% da produção total (Costa, 2002).

Diferentes cores de polpa, aroma, formas e tamanhos de melão são preferidos em diferentes partes do mundo, levando, atualmente, a uma grande demanda por novas cultivares de melão, com melhores qualidades de fruto e mais resistentes às doenças (McCreight, 1988). As cultivares de maior expressão, tanto em nível de produção como de mercado internacional, são os melões do tipo Cantaloupe, Amarelo Valenciano e Honey Dew, produzidos principalmente pela Espanha, Estados Unidos e Israel (Dias et al, 1998). Dentre os tipos de melão cultivados no Brasil são poucos os programas de melhoramento que visam o desenvolvimento de novas cultivares do tipo Cantaloupe (*Cucumis melo* var. *reticulatus*), que são os mais produzidos no mundo. Este tipo de melão é um dos preferidos do mercado americano, havendo potencial de entrada neste mercado para o melão brasileiro. O melão do tipo Cantaloupe é uma cultura de estação quente, geralmente requer 80 a 120 dias de condições de alta temperatura da sementeira até a colheita. Este tipo de melão tem o fruto redondo a oval, com a casca rendilhada.

As características mais desejáveis quanto à qualidade do fruto referem-se à conservação do mesmo após a colheita e, principalmente, alto conteúdo de açúcares, expresso como teor de sólidos solúveis (medidos em graus Brix) dos frutos no momento da comercialização. Para suprir a demanda de cultivares com melhores características, é necessário que melhoristas conheçam a variabilidade disponível no germoplasma de interesse e, se necessário, introduzam variabilidade genética com o objetivo de se aumentar as possibilidades de obtenção de novas cultivares, que contenham um maior teor de açúcares e características adequadas de fruto.

Uma forma ágil e eficiente de analisar a variabilidade é através da utilização de marcadores moleculares, pois detectam dissimilaridades entre os acessos em nível de DNA. O desenvolvimento de marcadores moleculares do tipo RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA") disponibilizou uma ferramenta eficiente

para a investigação de variação genética. Este tipo de marcador requer somente pequena quantidade de DNA, sendo um dos marcadores moleculares de menor custo, e é um procedimento menos trabalhoso do que outras metodologias de marcadores de DNA.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar, em nível molecular, acessos de melão, na sua maioria do tipo Cantaloupe, e avaliar a distância genética entre eles. Estes dados permitirão conhecer a variabilidade genética dos acessos de melão tipo Cantaloupe e servirão de auxílio aos melhoristas na tomada de decisões no planejamento de cruzamentos a partir do conhecimento da similaridade genética entre os acessos.

## Material e Métodos

**Material vegetal:** O material selecionado para análise de similaridade genética, incluiu 38 acessos de melão da coleção de trabalho da Embrapa Hortaliças, sendo 28 de melão tipo Cantaloupe (com algum tipo de resistência genética a doenças e diversidade da origem), 5 de linhagens e progênies obtidas por Paiva et al (1998), Paiva et al (2000a) e Paiva et al (2000b) e 5 acessos derivados de híbridos, utilizados como controle (Mission, Golden Charm, Farmers Yellow, Elizabeth e HyMark, todos autofecundados) (Tabela 1).

O DNA genômico foi extraído das folhas mais jovens, utilizando-se uma mistura equitativa de folhas de cinco indivíduos por acesso, de acordo com o protocolo CTAB 2%, conforme Ferreira & Grattapaglia (1995).

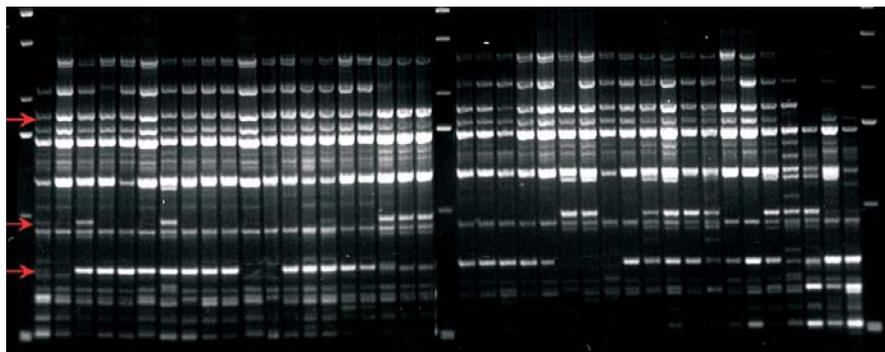
A amplificação do DNA foi feita em termociclador programado para 40 ciclos de: 1 minuto a 92 °C, 1 minuto a 35 °C, 2 minutos a 72 °C, utilizando 3,0 ml de DNA (concentração de 3,0 ng/ml) por indivíduo e um coquetel de reagentes contendo 3,46 ml de água destilada e autoclavada, 1,00 ml de BSA (2,5 mg), 1,30 ml de tampão 10X MgCl<sub>2</sub>, 1,04 ml de dNTP (2,5 mM), 3,00 ml de primer (Operon Technologies Inc.) a 10ng/ml e 0,20 ml de enzima Taq DNA polimerase. Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. Foram utilizados 22 "primers" Operon Technologies (OPA01, OPA02, OPA10, OPF03, OPO04, OPF05, OPF10, OPF12, OPF14, OPG09, OPN08, OPO03, OPO04, OPO09, OPX05, OPX13, OPX14, OPX18, OPY06,

OPY07, OPY15 e OPV06), selecionados em análise prévia, com base no nível e qualidade de polimorfismo.

Para analisar a similaridade genética entre os acessos de melão, foram utilizados marcadores polimórficos de DNA amplificados ao acaso RAPD. Uma matriz binária baseada na presença ou ausência dos marcadores RAPD foi gerada e utilizada para estimar a similaridade genética entre os acessos, empregando-se o coeficiente de Jaccard. Os acessos foram agrupados segundo sua similaridade pelo método de agrupamento UPGMA ("Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average") utilizando o software NTSYS versão 2.02pc (Rohlf, 1993).

## Resultados e Discussão

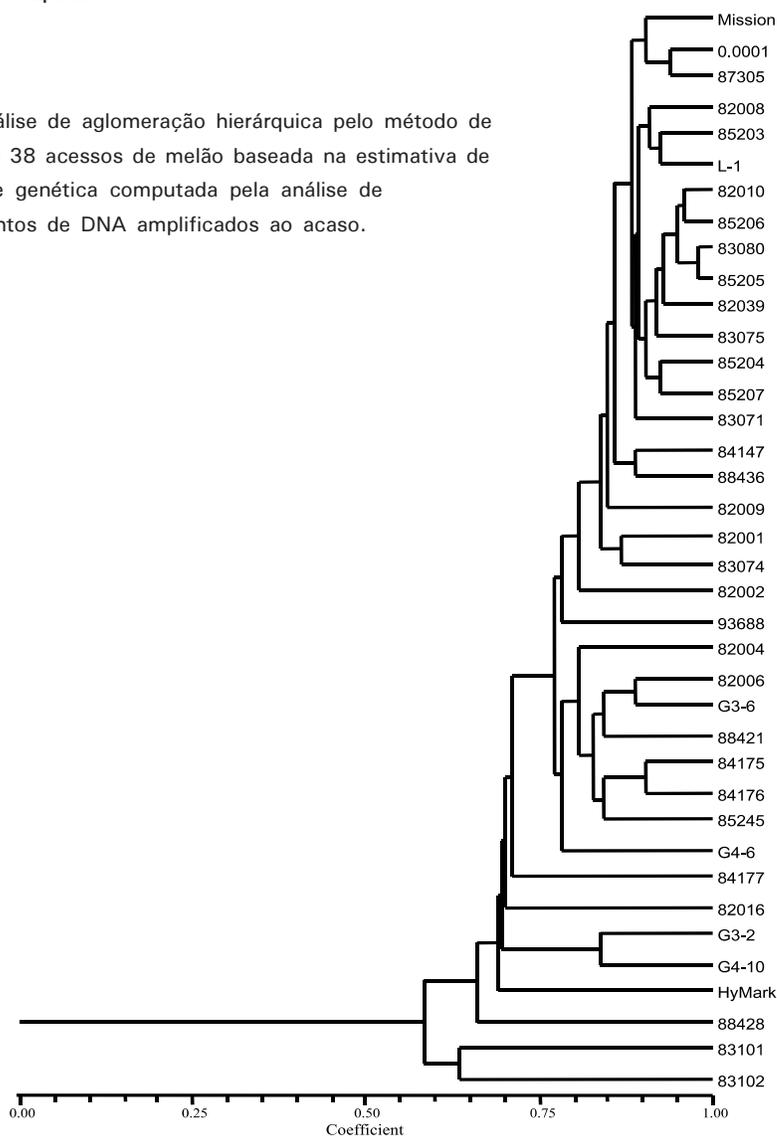
Um total de 63 fragmentos polimórficos RAPD foram selecionados para análise de acordo com a intensidade da banda no gel. A média de bandas polimórficas foi de 3 bandas por primer. Alguns primers, como OPW02, amplificaram uma única banda polimórfica, enquanto outros, como OPY07 (Fig. 1) e OPV15 amplificaram até 4 bandas polimórficas.



**Fig. 1.** Eletroforese de fragmentos RAPD (primer OPY07) em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio. As setas indicam os marcadores RAPD polimórficos usados na análise. Pistas 1, 22 e 43 Ladder 1Kb.

A análise do dendrograma (Fig. 2) permite verificar a formação de dois grupos principais, o primeiro contendo cerca de 95% dos acessos e o outro formado pelos acessos Golden Charm (83101) e Farmers Yellow (83102), oriundos da mesma região, USA, ambos com casca na cor amarela e Elizabeth, tipo Amarelo, oriundo do Japão.

**Fig. 2.** Análise de aglomeração hierárquica pelo método de UPGMA de 38 acessos de melão baseada na estimativa de similaridade genética computada pela análise de 63 fragmentos de DNA amplificados ao acaso.



No primeiro grupo, alguns acessos de mesma procedência agruparam-se proximamente no dendrograma, indicando a proximidade genética entre os mesmos. Como exemplo, os acessos 85205, 82039 e 85204, 85207, procedentes da Austrália, e 84175 e 84176, procedentes da Holanda. Observa-se também que dois acessos provenientes da mesma empresa de desenvolvimento de cultivares (0.0001 e 87305) são muito próximos, com 0,94 de similaridade (Tabela 2), indicando estreita base genética do material de onde foram obtidos.

Dentro do grupo de acessos do tipo Cantaloupe observou-se similaridade genética que variou de 0,53 a 0,98 com média de 0,76 (Tabela 2). Portanto, há possibilidade de se indicar cruzamentos entre acessos deste, com potencial de incremento da variabilidade genética de populações sintetizadas, para submissão a ciclos de seleção recorrente e/ou extração de linhagens. Staub et al (2000) utilizando RAPD, encontrou similaridade genética muito altas entre acessos do tipo Cantaloupe provenientes dos Estados Unidos (0,79 a 0,85). No presente trabalho a similaridade entre os acessos provenientes dos Estados Unidos variou de 0,66 a 0,94, com média de 0,81. A diferença de resultados certamente é devida a diferença do germoplasma avaliado e/ou número e tipo de "primers" utilizados.

Pode-se notar ainda a presença do acesso G3-6 entre os acessos do tipo Cantaloupe. Isto se deve ao fato de que tanto este como os acessos G3-2, G4-6 e G4-10 são provenientes de plantas que produzem frutos amarelos com polpa salmão, ou seja, são originados de um cruzamento com melão do tipo Cantaloupe.

O melhoramento genético de melão tipo Cantaloupe é ainda incipiente no país. A análise da similaridade genética pode auxiliar na escolha de genitores para se estabelecer populações base para se iniciar ciclos de seleção recorrente. Pode, também, enriquecer populações em processo de seleção aumentando-se a variabilidade das mesmas pela introdução de acessos geneticamente divergentes. Portanto, espera-se que as informações obtidas neste trabalho contribua para o melhoramento deste tipo de melão pela Embrapa. Espera-se também, que acessos geneticamente divergentes possam ser utilizados como fontes de linhagens endogâmicas para a produção de híbridos competitivos.





## Conclusões

Marcadores RAPD mostraram-se de grande utilidade para a rápida análise da variabilidade genética de acessos de melão do tipo Cantaloupe.

Parte dos acessos de melão do tipo Cantaloupe mantidos pela Embrapa Hortaliças, uma amostra considerada representativa dos acessos mantidos deste grupo, apresentam variabilidade genética entre 0,53 a 0,98, com média de 0,76.

Há possibilidade de se indicar acessos do tipo Cantaloupe para cruzamentos, com potencial de incremento da variabilidade genética de populações sintetizadas para submissão à ciclos de seleção recorrente, populações já em melhoramento e/ou extração de linhagens.

## Referências Bibliográficas

COSTA, N. D. Melão no São Francisco. **Cultivar HF**, v. 11, p. 15, 2002.

DIAS, R. de C. S.; COSTA, N.D.; CERDAN, C.; SILVA, P. C. G. da; QUEIROZ, M.A.; ZUZA, F.; LEITE, L. A. de S.; PESSOA, P. F. A. de P.; TERAQ, D. A cadeia produtiva do melão no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G. de; LIMA, S. M. V.; GOEDERT, W. T.; FREITAS FILHO, A de; VASCONCELOS, J. R. P. (Ed). **Cadeias produtivas e sistemas naturais: prospecção tecnológica**. Brasília, EMBRAPA-SPI / EMBRAPA-DPD, 1998. p. 441-494.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 2. Ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995.

McCREIGHT, J. D.; NERSON, H.; GRUMET, R. Melon (*Cucumis melo* L.) In: KALLOO, G. (Ed). **Vegetable breeding**. Boca Raton: CRC Press, 1988, p. 267-294.

PAIVA, W. O.; Neto, H. S.; CORDEIRO, E. R.; LOPES, A. G. S. Melhoramento do melão amarelo para cultivo no semi-árido. In: Encontro de Genética do Nordeste, 12., 1998, Feira de Santana. **Genética no terceiro milênio: Contribuição ao semi-árido: anais**. Feira de Santana: Sociedade Brasileira de Genética; Universidade Estadual de Feira de Santana. p. 378. A-54.

PAIVA, W. O.; MOREIRA, R. L. B.; NETO, L. G. P.; MEDEIROS, D. P. O.;  
MARQUES, R. N. Seleção de linhagens de melão Amarelo com polpa  
cantaloupe. ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 15., 2000, Fortaleza.  
**A genética no desenvolvimento do nordeste: anais.** Fortaleza: Sociedade  
Brasileira de Genética, 2000a. p. 160. Resumo D-077.

PAIVA, W. O.; NETO, H. S.; LOPES, A. G. S. Avaliação de linhagens de melão.  
**Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 109-113. 2000b.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate system.** Version  
2.0. New York: **Applied Biostatistics Inc.**, 1993.

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

## Anexos

**Tabela 1.** Acessos de melão, a maioria do tipo Cantaloupe da Coleção de Germoplasma da Embrapa Hortaliças utilizados na análise com marcadores RAPD.

Número CNPH	Nome	Origem	Observações
82-001	Edisto 47	U. Wisconsin-USA	DMR, PMR, Alternaria R.
82-002	Perlita	U. Wisconsin-USA	DMR,PMR, Rind Rot R,Crow Bblightr
82-004	Aroma F1	U. Wisconsin -USA	Round Fruit
82-006	Uc. Perlita Bush S1	U. Wisconsin -USA	PMR 1, Fusarium, Verticilium, Surfur tolerance
82-008	W 6	C. E. Thomas &.R.E. Webb	DMR,PMR, Altenaria, PRSV-w
82-009	Gulf Coast	U. Wisconsin	DMR, PMR, GSBR
82-010	Chilton	U. Wiscosin	DMR,PMR, GSBR
82-016	Hales Best Jumbo IPB		Lote 46..530.1028
82-039	Prince		Introdutor- F.J. Reifschneider
83-071	Cinco	USA	PRSV-w, DMR, PMR 1 e 2, Alternaria leaf blight
83-074	Top Mark	USDA-USA	
83-075	Super Market	USDA-USA	
83-080	Super Sprint	USDA-USA	
83-101	Golden Charm	USDA-USA	
83-102	Farmers Yellow	USDA-USA	
84-147	Muskmelon 18.072	Un. of California / USA	
84-175	Pancha F1 (S1)	Sluis & Groot (Holanda)	
84-176	Pharo F1 (S1)	Sluis & Groot (Holanda)	
84-177	H 019	Vilmorin (França)	
85-203	Rockmelon Saticoy H8H/TT	Austrália, F.J.B. Reifschneider	
85-204	Rockmelon Planter's Jumbo H92/SH	Austrália, F.J.B. Reifschneider	

Continua...

Continuação da Tabela 1.

85-205	Early Down Rockmelon	Austrália, F.J.B. Reifschneider	
85-206	Dixie Jumbo (Yates)	Austrália, F.J.B. Reifschneider	
85-207	Rockmelon Gulfcoast HS1/L1	Austrália, F.J.B. Reifschneider	
85-245	Cantaloupe Bellegard	França	
87-305	Vector F1 (S1)	Asgrow	
88-421	Saphire (S1)	Japão	PMR,FWR,GSBR
88-428	Elizabeth PMR F1	tipo amarelo, Japão	PMR
88-436	Top Mark Hy-Mark (F1)	Petoseed	Tolerante enxofre PMR raça 1; tolerante enxofre
	Mission (F1)	Asgrow	
93.688	Legend F1 (S1)	Asgrow	
00.001	Summet F1( S1)	Asgrow	
	Aroma F1 (S1)	Nordic Gene Bank, Suécia.	Introdução 2000
	West's F1 (S1)	Nordic Gene Bank, Suécia	Introdução 2000

DMR = Downy Mildew Resistance (*Pseudoperonospora cubensis*)

PMR = Powdery Mildew Resistance (*Sphaerotheca fuliginea* raça 1 ou 2)

GSBR = Gummy Stem Blight Resistance (*Dydymella melonis*)

FWR = Fusarium Wilt Resistance (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* raça 2)

CMV = Cucumis Mosaic Virus Resistance

PRSV-w = Papaya Ring Spot Virus - watermelon