

TELMA MIRANDA DOS SANTOS

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Prunus persica* POR MEIO DE  
MARCADORES MICROSSATÉLITES**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S237d  
2010

Santos, Telma Miranda dos, 1984-

Diversidade genética de *Prunus persica* por meio  
de marcadores microssatélites / Telma Miranda dos  
Santos. – Viçosa, MG, 2010.

ix, 41f. : il. ; 29cm.

Orientador: Claudio Horst Bruckner.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 27-41.

1. Pêssego - Melhoramento genético. 2. *Prunus persica*.  
3. Variação (Genética). 4. Marcadores moleculares.

I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 634.252

TELMA MIRANDA DOS SANTOS

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Prunus pérsica* POR MEIO DE  
MARCADORES MICROSSATELITES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de julho de 2010.

---

Prof. Cosme Damião Cruz  
(Coorientador)

---

Prof. Glauco Vieira Miranda

---

Pesq. Patrícia Silva Flores

---

Prof. Sérgio Yoshimitsu Motoike

---

Prof. Cláudio Horst Bruckner  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, por tudo que tenho e sou.

À minha mãe Maria, pelo apoio e amor infinito.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), através do curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao querido professor Dr. Cláudio Horst Bruckner, pela orientação, disponibilidade, paciência, incentivo, sugestões e amizade.

À Professora Dra. Márcia Regina Costa, pela coorientação, pelos ensinamentos compartilhados e pelas sugestões imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao Professor Cosme Damião Cruz, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Professor Glauco Vieira Miranda, por disponibilizar o Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, pelas sugestões e pela disponibilidade em participar da Banca Examinadora.

Ao Professor Sérgio Yoshimitsui Motoike e à Dra. Patrícia Silva Flores, pela disponibilidade em participar da Banca Examinadora e pelas sugestões, que enriqueceram este trabalho.

À CAPES e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

Aos demais professores e funcionários da UVF, especialmente do Setor de Fruticultura, pela valiosa contribuição.

A Janaína, Lorêta e Rafael, pelo auxílio no momento certo.

Aos meus prezados amigos José Osmar, Patrícia, Marcos, Rosana, Luciana, Carlos Eduardo e Welberth, pela amizade, pelo apoio e pela colaboração nos trabalhos; e à estagiária Sílvia, pela dedicação e fidelidade.

Aos meus colegas de laboratório Filipe, Geísa, Fabiana, Renata e Éder (mão-Santa), pelo companheirismo, pela compreensão, enfim, pelo convívio durante a execução deste trabalho.

À minha família e aos meus amigos, pelo apoio, em especial a Lorena e João Paulo, pela amizade e por tornar o mais familiar possível a vida em Viçosa; a Paty e Carlos, por ajudarem a responder às minhas dúvidas e pelos bons momentos compartilhados; a Gemima, Camila, Felipe, Kátia e Danilo, pelos momentos de alegria compartilhados; e aos meus colegas da pós-graduação em Fitotecnia, pelo companheirismo e pela amizade ao longo do curso.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVO.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	8
3.1. Material vegetal.....	8
3.2. Extração do DNA .....	11
3.3. Amplificação do DNA.....	12
3.4. Número de alelos por loco.....	13
3.4.1. Frequência alélica .....	13
3.4.2. Heterozigosidade .....	13
3.4.3. Conteúdo Médio de Informação Polimórfica (PIC) .....	14
3.4.4. Dissimilaridade .....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
4.1. Número de alelos por loco.....	16
4.1. Frequência alélica.....	17
4.2. Heterozigosidade .....	18

4.3. Conteúdo médio de informação polimórfica.....	18
4.4. Dissimilaridade.....	19
4.5. Análise de agrupamento .....	22
5. CONCLUSÕES .....	26
6. REFERÊNCIAS .....	27

## RESUMO

**SANTOS, Telma Miranda dos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2010. Diversidade genética de *Prunus persica* por meio de marcadores microssatélites.** Orientador: Claudio Horst Bruckner. Coorientadores: Cosme Damião Cruz e Márcia Regina Costa.

O pessegueiro, planta predominantemente autógama e com taxa de cruzamento inferior a 5%, é uma das espécies frutíferas mais pesquisadas em todo o mundo. A presença de variabilidade genética é fundamental para progressos no melhoramento de plantas. Os marcadores moleculares são ferramentas úteis para detectar variações no genoma, e marcadores microssatélites têm demonstrado ser altamente eficientes na análise genética de espécies como o pessegueiro, que tem baixa diversidade genética. Este estudo objetivou avaliar a informatividade de 22 locos *Simple Sequence Repeats* (SSR) e avaliar a similaridade genética entre cultivares de pessegueiro. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. Foram calculadas a frequência alélica, a heterozigosidade esperada e observada e o conteúdo médio de informação polimórfica (PIC). A similaridade genética entre dois cultivares foi calculada pelo índice ponderado, a partir do número de alelos comuns que eles compartilham. Com esses dados, gerou uma matriz de dissimilaridade, que foi utilizada para realizar a análise de agrupamento utilizando o método hierárquico aglomerativo UPGMA. Todas as análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa GENES. Dos 22 *primers* SSR, oito foram polimórficos, e os demais não amplificaram. Um total de 53 alelos foram amplificados, sendo o número médio de alelos por loco 6,625, que oscilou entre 4 e 9. A frequência alélica variou de 0,0072 a 0,4928 quando foram

utilizados os *primers* UDP98 411 e UDP98 022. A heterozigosidade esperada variou de 0,5143 a 0,8579, com média de 0,7105, sendo a observada de 1,0. Os locos mais informativos foram UDP96 005, UDP98 021 e UDP98 407, com PIC de 0,8142, 0,8258 e 0,8416, enquanto os menos informativos foram UDP98 022 e UDP98 411, com PIC 0,3963. A média desse parâmetro em todos os locos foi 0,6553. A análise dos dados dos 53 alelos resultantes da amplificação de oito *primers* SSR não distinguiu todos os cultivares analisados. A maior dissimilaridade encontrada foi de 87,74%. A dissimilaridade média foi de 49,97%, entre meios-irmãos foi de 44,87% e entre irmãos completos, 11,85%. Não foram diferenciados os cultivares Joia 3 de Joia 4 e Aldrigui de Gaúcho nem Campinas 1 de Olímpia. Cultivares de pessegueiro que apresentavam características fenotípicas diferentes não puderam ser separados com base nas informações dos *primers*.

## ABSTRACT

SANTOS, Telma Miranda dos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July of 2010. **Genetic diversity of *Prunus persica* using microsatellite markers.** Adviser: Claudio Horst Bruckner. Co-Advisers: Cosme Damião Cruz and Marcia Regina Costa.

The peach tree, a predominantly autogamous plant with an outcrossing rate of less than 5%, is one of the most researched fruit species worldwide. The presence of genetic variability is crucial for progress in plant breeding. Molecular markers are useful for detecting variations in the genome, and microsatellite markers have been shown to be highly efficient in genetic analysis of species such as the peach, which has low genetic diversity. This study aimed to evaluate the informativeness of 22 *Simple Sequence Repeats* (SSR) loci and assess the genetic similarity between peach cultivars. The study was conducted at the Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal of the Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, in Viçosa, MG. We calculated the allele frequency, the expected and observed heterozygosities and the average polymorphic information content (PIC). The genetic similarity between two cultivars was calculated by the weighted index, based on the number of common alleles that they share. With these data, a dissimilarity matrix was generated that was used to perform a cluster analysis using the UPGMA hierarchical clustering method. All statistical analyses were performed using the GENES program. Of the 22 SSR *primers*, eight were polymorphic, and the others were not amplified. A total of 53 alleles were amplified, and the mean number of alleles per locus was 6.625, which ranged between 4 and 9. The allele frequency ranged from 0.0072 to 0.4928 when we used *primers* UDP98 411 and UDP98 022. The expected heterozygosity ranged from 0.5143 to 0.8579, averaging 0.7105, with the observation at 1.0. The most informative loci were UDP96 005, UDP98 021 and UDP98 407, with PIC of 0.8142, and 0.8258 0.8416, while the least informative were UDP98 022 and UDP98 411 with PIC 0.3963. The average of this parameter for all loci was 0.6553. Data analysis of 53 alleles resulting from the amplification

of eight SSR *primers* did not distinguish all analyzed cultivars. The greatest dissimilarity found was 87.74%. The average dissimilarity was 49.97%, with those between half-siblings at 44.87% and between siblings, 11.85%. There were no differences in the Joia 3 of Joia 4 and Aldrigui of Gaúcho cultivars or of Campinas 1 of Olympia. Peach varieties that had different phenotypic characteristics could not be separated based on information from the *primers*.

## 1. INTRODUÇÃO

*Prunus persica* (L.) Batsch pertence ao gênero *Prunus* (L.) (Rosaceae), dentro do qual é a espécie de maior interesse comercial e com maior número de cultivares explorados no mundo. São conhecidas três variedades botânicas de *P. persica*: *vulgaris*, *nucipersica* e *platycarpa* (RASEIRA; NAKASU, 2002). *P. persica* (L.) Batsch var. *vulgaris*: suas frutas têm epiderme pilosa e podem apresentar polpa branca ou amarela, ser mais ou menos fibrosa e servir para conserva ou para consumo *in natura*, incluindo a maioria dos cultivares de valor econômico. *P. persica* var. *nucipersica* produz frutos com epiderme glabra e geralmente muito colorida. São as nectarineiras, cujo número de cultivares com valor comercial é considerável (SACHS; CAMPOS, 1998). *P. persica* var. *platycarpa* produz frutos de forma achatada, conhecidos como pêssegos chatos ou *peentoo*. É espécie diploide, com o número-base de cromossomos  $x = 8$  e  $2n = 16$ , e predominantemente autógama, com taxa de cruzamento inferior a 5%, embora percentagens mais altas, como 14 e até 33% de polinização aberta, tenham sido obtidas em algumas pesquisas (HESSE, 1975). Sua origem é chinesa, encontrando-se referências sobre a existência da cultura desde 20 séculos antes de Cristo. O nome da espécie foi atribuído como se ela fosse originária da Pérsia. Entretanto, provavelmente foi levada da China para a Pérsia, onde foi conhecida pela civilização ocidental, e a partir dessa região espalhou-se para o resto do mundo, por meio de sementes (LAYNE, 1987; SACHS; CAMPOS, 1998). O pessegueiro é uma espécie frutífera de clima temperado, apresentando genótipos com capacidade de adaptação em ampla faixa de condições ambientais, sendo cultivada em regiões de clima temperado, subtropical e tropical de altitude (SILVEIRA, 2003).

O pêssego é a oitava fruta mais produzida no mundo e uma das mais consumidas *in natura*. A produção mundial de pêssegos e de nectarinas, em 2008, foi de 18.000.853 toneladas (FAO, 2010). O Brasil é o décimo terceiro produtor, apesar de seus 22.398 hectares de área colhida (AGRIANUAL, 2010). A produção é insuficiente para o abastecimento interno (SATO, 2001) em razão, principalmente, da sazonalidade da produção, baixa produtividade, problemas de logística e alta perecibilidade dos frutos.

A produção brasileira de pêssego no ano de 2007 foi de 185.959 toneladas (AGRIANUAL, 2010). O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor, com 94.056 toneladas em 14.857 hectares, seguido por São Paulo (38.537 toneladas em 2.001 hectares) e Minas Gerais, com 26.475 toneladas em 1.015 hectares, tendo este último a maior produtividade do país, com mais de 26 t/ha (AGRIANUAL, 2010).

Sua base genética foi drasticamente estreitada na segunda metade do século 19, quando algumas plântulas de pêssego tipo *Chinese Cling* foram introduzidas, a partir do Sul da China, nos Estados Unidos e amplamente propagadas. Esses genótipos foram repetidamente utilizados como genitores em programas de melhoramento genético devido ao grande tamanho dos seus frutos, firmeza e qualidade da polpa, levando a altos níveis de endogamia e coascendência, agora encontrada entre cultivares de pêssego (SCORZA et al., 1985). O baixo grau de heterogeneidade torna difícil a diferenciação de genótipos e a determinação da diversidade genética em germoplasma de pessegueiro (LI et al., 2008).

Até meados da década de 1960, a diferenciação de genótipos nos estudos de genética e melhoramento estava associada às características morfofenológicas das plantas. Porém, esse método de análise tem como limitações as influências ambientais sobre o fenótipo, além do gasto excessivo de tempo e dinheiro (SANSAVINI, 1998). Adicionalmente, dentro do gênero *Prunus* o pessegueiro e a nectarineira pertencem à espécie de menor variabilidade genética, possuindo baixo polimorfismo das características morfofenológicas (VINATZER et al., 1999), de tal maneira que, muitas vezes, a identificação entre cultivares baseada somente no fenótipo deixa muitas dúvidas quanto à verdadeira identidade dos genótipos (PANCALDI et al., 1999). Buscando superar esse fator limitante, novos métodos de análise foram sendo introduzidos em auxílio à caracterização genética de cultivares. Inicialmente, a análise isoenzimática foi empregada para identificação de cultivares (PANCALDI; BATTISTINI, 1991), entretanto essa técnica não fornece

polimorfismo suficiente para caracterização detalhada de genótipos de baixa variabilidade, como é o caso do pessegueiro, não permitindo a individualização, mas somente a separação em grupos (ARULSEKAR; PARFITT, 1986; LIMA, 2001; MONET et al., 1985; DURHAM et al., 1987; MESSEGUER et al., 1987; MOWREY et al., 1990). Porém, quando se utilizam marcadores moleculares de DNA a possibilidade de identificação de genótipos aumenta consideravelmente em todas as espécies frutícolas (MULCAHY et al., 1993), nas quais a combinação de poucos marcadores é suficiente para diferenciá-las, produzindo um tipo de impressão digital molecular da planta, também conhecida como *fingerprinting* varietal, a qual é obtida a partir da análise do seu DNA (SANSAVINI, 1998).

No melhoramento genético de plantas tem-se buscado, cada vez mais, a seleção assistida por marcadores moleculares, visando obter maior eficiência na transferência de fatores genéticos. Os marcadores moleculares são ferramentas úteis para detectar variações no genoma aplicáveis em identificação de cultivares, na análise de *pedigree* ou na identificação das fontes de germoplasma distantes; por isso, podem ser usados em diferentes fases do melhoramento, aumentando o poder de análise genética das plantas. Segundo Aranzana et al. (2002), a seleção precoce com marcadores seria particularmente interessante em pêsego e outras culturas do gênero *Prunus*, dado o seu longo período de geração (3 a 5 anos). No entanto, esses marcadores eram utilizados apenas de forma limitada no melhoramento de pessegueiro, principalmente pelo fato de esta planta possuir baixo nível de variabilidade genética devido ao seu sistema de acasalamento predominantemente autogâmico (MILLER et al., 1989) e por apresentar estreita base genética, uma vez que a maioria se originou de um número limitado de genitores (SCORZA et al., 1985).

Atualmente existe grande variedade de marcadores moleculares disponíveis para diferentes espécies vegetais. O uso de marcadores moleculares baseado em DNA resulta em consistente e robusto método para identificar material vegetal com base na estabilidade em diferentes condições ambientais ou diferentes tecidos. Análises moleculares foram anteriormente executadas no gênero *Prunus* utilizando diferentes marcadores, como isoenzimas (MESSEGUER et al., 1987; MOWREY; WERNER, 1990), *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLPs) (KANEKO et al., 1986; UEMATSU et al., 1991; BADENES; PARFITT, 1995; BOUHADIDA et al., 2007), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (GOGORCENA;

PARFITT, 1994; WARBURTON; BLISS, 1996; LU et al., 1996; CASAS et al., 1999), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLPs) (ARANZANA et al., 2003; ARADHYA et al., 2004; FANG et al., 2006) e *Single-Nucleotide Polymorphism* (SNPs) (FANG et al., 2006). Tais métodos foram amplamente utilizados para caracterizar e classificar cultivares ou para estimativas de relação entre os membros do gênero *Prunus* e estudos de diversidade em pessegueiro. Marcadores RAPD e AFLP foram avaliados para seu potencial uso na identificação de cultivares de pessegueiro (DIRLEWANGER et al., 1998), mas sua expressão dominante, baixa reprodutibilidade (RAPDs) ou a complexidade do método (AFLPs) limitam a sua utilização como marcadores de rotina para essa finalidade.

Microsatélites são sequências simples repetidas (SSRs), as quais consistem em um a seis nucleotídeos repetidos em *tandem*. Determinado microsatélite é um loco polimórfico, e os diferentes números de unidades repetidas em dado microsatélite constituem os alelos desse loco. Cada alelo produz fragmento de tamanho diferente, gerando “bandas” distintas que são visualizadas em géis. Nesse polimorfismo, os genótipos homocigotos apresentam apenas uma “banda”, enquanto os heterocigotos amplificam duas “bandas” (CAIXETA et al., 2009). São abundantes em genomas procarióticos e eucarióticos (WEBER, 1990; FIELD; WILLS, 1996). Esses marcadores têm demonstrado ser altamente eficientes para a análise genética de espécies, como o pessegueiro, que têm baixa diversidade genética (ARANZANA et al., 2001; ARUS et al., 2003), devido ao seu elevado polimorfismo e reprodutibilidade (GUPTA; VARSHNEY, 2000; WÜNSCH; HORMAZA, 2002). Eles têm sido eficientes para a identificação de genótipos tanto em plantas quanto em animais. Mais de 100 marcadores microsatélites foram relatados em pessegueiro (CIPRIANI et al., 1999; SOSINSKI et al., 2000; TESTOLIN et al., 2000; ARANZANA et al., 2002, 2003; WANG et al., 2002; DIRLEWANGER et al., 2002).

Microsatélites foram usados como marcadores genéticos para identificar cultivares e acessos de germoplasma em muitas fruteiras, como videira (*Vitis* sp.) (LAMBOY; ALPHA, 1998; SCHUCK et al., 2009), *Malus hupehensis* (Damp.) Rehd. (BENSON et al., 2001), citros (GULSEN; ROOSE, 2001), cereja-azedada (*P. cerasus* L.) (CANTINI et al., 2001), kiwi (*Actinidia Lindl.*) (ZHEN et al., 2004), abacate (*Persea americana* Mill.) (ALCARAZ; HORMAZA, 2007), abricós (MESSINA et al., 2004), ameixas (DECROOCQ et al., 2004; MNEJJA et al., 2004),

cerejas (WÜNSCH ; HORMAZA, 2002; VAUGHAN; RUSELL, 2004) e amêndoas (TESTOLIN et al., 2004). Esses marcadores também têm sido usados para construção de mapas de ligação interespecíficos (FOOLAD et al., 1995; DIRLEWANGER et al., 2004) e intraespecíficos (HOWAD et al., 2005), e os microssatélites têm auxiliado na construção do mapa genético de *Prunus* (ARANZANA et al., 2003).

Marcadores SSR oferecem algumas vantagens em relação aos outros marcadores moleculares, incluindo a herança codominante, hipervariabilidade e transmissibilidade (TAURAZ, 1989; BELL; ECKER, 1994; GUILFORD et al., 1997; SOSINSKI et al., 2000). Além de sua codominância, reprodutibilidade e facilidade de serem detectados pelo PCR, são ideais para o mapeamento do genoma, assim como para estudos de genética populacional (DAYANANDAN et al., 1998).

Aranzana et al. (2002), utilizando 35 *primers* SSR para comparar 14 cultivares de pessegueiro e 11 cultivares de nectarineira, constataram que 24 pares de *primers* produziram bandas polimórficas; uma taxa de polimorfismo de 69%, em que cada loco continha, em média, 3,2 alelos. Quando 16 pares de *primers* SSR foram utilizados em 212 cultivares de pessegueiros e nectarineiras para a análise da diversidade genética, 87% foram separados (ARUS et al., 2003). Esses marcadores foram utilizados para genotipagem de pessegueiros e nectarineiras (CIPRIANI et al., 1999; ARANZANA et al., 2003).

Em 1986, a Universidade Federal de Viçosa iniciou o Programa de Melhoramento Genético de Pessegueiro, visando à obtenção de cultivares de mesa adaptados às condições edafoclimáticas da região. Dentro desse programa, espera-se selecionar, em populações segregantes derivadas de hibridações, genótipos favoráveis, ou seja, que produzam frutos de boa qualidade e tenham baixa necessidade de frio para superar o período de dormência (ALBUQUERQUE et al., 2000).

A presença de variabilidade genética é fundamental na obtenção de progressos no melhoramento de plantas por meio de seleção, viabilizando o emprego de técnicas que possibilitem a identificação de genótipos superiores (CARVALHO; FEDERIZZI, 1989).

O melhoramento de plantas tem por base ampliar a variabilidade por meio de cruzamentos controlados. Por isso, é fundamental o conhecimento das populações formadas, a fim de prever o potencial das combinações a partir de diferentes genitores, o que vai permitir maior amplitude de seleção para o caráter desejado,

aumentando, dessa forma, o ganho genético (HARTWIG et al., 2007). Cruzamentos recombinaam a variabilidade existente. Dessa forma, a realização de seleção eficiente depende do entendimento da herança e da variabilidade genética.

## 2. OBJETIVO

Objetivo principal:

- Avaliar a diversidade genética de *Prunus persica* da coleção da UFV, utilizando-se marcadores moleculares microssatélites.

Os objetivos específicos foram avaliar:

A diversidade alélica de 22 marcadores SSR:

- Número de alelos por loco.
- Frequência alélica.
- Heterozigosidade.
- Conteúdo Médio de Informação Polimórfica (PIC) dos *primers*.

A distância genética e diversidade:

- Dissimilaridade entre cultivares.
- Dissimilaridade entre irmãos completos.
- Dissimilaridade entre meios-irmãos.
- Análise de agrupamento.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, entre setembro de 2009 e março de 2010.

#### 3.1. Material vegetal

Amostras de 69 cultivares de pessegueiro e nectarineira pertencentes à coleção da Universidade Federal de Viçosa foram analisadas. Entre os cultivares, 27 foram lançados pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e 25 pela Embrapa Clima Temperado (EMBRAPA-CPACT), sendo os demais de outras origens (Quadro 1). A principal diferença entre o programa de melhoramento do IAC e o da EMBRAPA-CPACT é que o primeiro se dedica, principalmente, a obter cultivares para consumo *in natura* ou de dupla finalidade e que sejam adaptados a condições subtropicais (inverno com 40 a 120 horas de temperatura abaixo de 7,2 °C). O programa do CPACT, além de visar cultivares com essa finalidade, visa à criação de cultivares cujos frutos se destinam à industrialização. Quanto à adaptação, embora esse programa trabalhe com cultivares e seleções cuja necessidade de frio hibernal vai desde 150 até 500 horas, a concentração maior está em torno de 300 horas (RASEIRA; NAKASU, 2002).

Quadro 1 - Origem, características e genealogia de 69 variedades de pessegueiro

<b>CULTIVAR</b>	<b>Genealogia</b>	<b>Pol</b>	<b>Car</b>	<b>Fin</b>	<b>N. F.</b>	<b>Orig</b>
Aldrigui	Seleção do Rio Grande do Sul	A	P	C	350	EM
Alô doçura	Autof. de Cristal	B	P	M		IAC
Argel	-					
Aurora 1	Poli. aberta de Ouromel-3	A	P	M		IAC
Aurora 2	Poli. aberta de Ouromel-4	A	P	M		IAC
Baronesa	(Hawaia X Southland)F3	A	MS	M	400	EM
Belvedere	Delicioso X Interlúdio	A	S	M	400	EM
Biuti	Halford-2 X Rubi	A	P	M/C		IAC
Bolão	(Angel X Rosado de Itaquera)F1	B	S	M		IAC
Bolinha	Poli. aberta de Aldrigui	A	P	C	300-400	EM
Br- 1	Delicioso X Panamint	B	P	M	300	EM
Campinas 1	Autof. de Lake City	A	P	C		IAC
Capdesbosq	Lake City X S56-87	A	P	C	300	EM
Cardeal	F2 do Cruzamento 338-90 F.V	A	MS	M	250	EM
Cascata 580	-					EM
Centenária	Poli. aberta Doçura 2	A	S	M	80	IAC
Centenário	Poli. aberta Ouromel 2	A	S	M		IAC
Cerrito	(Lake City X S56-32) F2	A	P	C	200	EM
Chula	Delicioso X Panamint	B	S	M	350	EM
Colibri	Autof. De Cristal	B	P	M		IAC
Convênio	(Amsdem X Abóbora) F2	A	P	C	400	EM
Coral	Delicioso X Interlúdio	B	S	M	350	EM
Cristal	Suber X Pérola De Itaquera	B	P	M		IAC
Cristal taquari	-					
Delicioso Precoce	Supermel X Rubrosol	B	S	M		IAC
Diamante	Convênio X Pelotas 77			C	300	EM
Douradão	Poli. aberta de Dourado 1	A	S	M	200	IAC
Dourado 1	Tutu X Maravilha	A	S	M		IAC
Elberta	-					AM
FlordaPrince	Fla 2-7 X Maravilha	A	MS	M	150	EUA
FlordaSun	(Southland X Hawaiian)F3 X Springtime	M	P	S.I	300	EUA
Gaúcho	Robusto x Panamint			M		EM
Joia 1	Nectar X Maravilha	B	S	M	100	IAC
Joia 2	Tutu X Colombina	B	S	M	100	IAC
Joia 3	Catita X Rubrosol	B	S	M	100	IAC
Joia 4	Catita X Rubrosol	B	S	M	100	IAC
Josefina	Poli. aberta (Ouromel X Rubrosol)	B	S	M		IAC
Lakecity amarelo	-					

Continua...

Quadro 1 - Cont.

<b>CULTIVAR</b>	<b>Genealogia</b>	<b>Pol</b>	<b>Car</b>	<b>Fin</b>	<b>N. F.</b>	<b>Orig</b>
Maciel	Conserva 171 X Conserva 334	A	P	M/C	200-300	EM
Maravilha	Sun Red X Fla 28-48 (Okinawa X Highland) F2	B	MS	M	100	IAC
Marli	(Delicioso X Interlúdio) F2	B	MS	M	300	EM
Minasul	-					
Okinawa	Poli. aberta de Planta Nativa de Ilhas Ryuku - Okinawa	B	S	P. E	100	
Olímpia	Bolinha x 7-28					EM
Ouronectar	-					
Pampeano	Maravilha Ou Sentinela *	BC	MS	M	200	EM
Pérola de Itaquera	-					
Petisco	Campinas-1 x Tos China	A	S	M		IAC
Pilcha	Poli. Aberta de Precoce Rosado	A	P	M	400	EM
Precocinho	Poli. Aberta de Diamante	A	P	C	150	EM
Premier	Cardeal 15 de Novembro	B	MS	M	150	EM
Princesa	(Hawai x Southland)F3	A	S	M	250	EM
Real	Lake City X Rei Da Conserva	A	P	C		IAC
Régis	Poli. Aberta de Petisco 2	A	P	M/C		IAC
Rei da conserva	-					
Relíquia	Rei da Conserva X Jewel	B	P	M		IAC
Rubimel	Chimarrita X Flor da Prince	A	MS	M	200-300	EM
Rubrosol (Sunred)	Poli. aberta [Panamint X (Southland X Hawaiian) F2]	A	MS	M		EUA
Sentinela	Poli. aberta de Premier	B	P	M	150	EM
Setembrino	Autof. de Tutu	B	S	M		IAC
Talismã	Rei da Conserva X Jewel	B	P	M		IAC
Topázio	Lake City X Intermediário			C	350	EM
Tropic Beauty	-	A	P		150	EUA
Tropical	Poli. aberta de IAC 371-2	A	S	M		IAC
Tropic Sweet	-	A			100-200	EUA
UFV 186	-			P. E		UFV
UFV 286	-			P. E		UFV
UFV 107	Campinas 1 X Miraflores					UFV
UFV 207	Campinas 1 X Miraflores					UFV

Pol = polpa; Car = caroço; Fin = finalidade; N.F = necessidade de frio; B = branca; P = preso; M = mesa; Orig = origem; A = amarela; S = solto; C = conserva; Autof = autofecundação; BC = branco-creme; MS = meio solto; M/C = mesa/conserva; Poli = polinização; IAC = Instituto Agrônomo de Campinas; e EM = EMBRAPA.

\*Origem desconhecida, acredita-se que tenha as cvs Maravilha ou Sentinela como progenitores.

### 3.2. Extração do DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de tecido foliar jovem, utilizando-se o método CTAB proposto por Doyle e Doyle (1990) com algumas modificações. O tampão de extração continha 2% CTAB, 1,5 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris pH 8,0, 2% PVP e 0,4%  $\beta$ -mercaptoetanol. A suspensão foi incubada a 65 °C por 60 minutos, realizando-se a homogeneização a cada 10 minutos. Posteriormente foram adicionados 700  $\mu$ L de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), sendo as suspensões homogeneizadas e centrifugadas por 10 minutos a 16.100 g, em temperatura ambiente. A fase aquosa foi transferida para um novo microtubo, repetindo-se o passo anterior. O sobrenadante foi transferido para um tubo de microcentrífuga, adicionando-se isopropanol a 10 °C na proporção 1:1, e em seguida incubado em geladeira por três horas. Decorrido esse tempo, os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 16.100 g. O pellet foi lavado duas vezes com etanol 70% e uma vez com etanol 95% e seco por 20 minutos em temperatura ambiente. Para a remoção do RNA contido no precipitado, o DNA foi ressuspensão em 300  $\mu$ L TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8,0) contendo 40  $\mu$ g de RNase e incubado por 60 minutos a 37 °C. Posteriormente, adicionaram-se 1/10 de cloreto de sódio (NaCl 5M) e 2/3 do volume de isopropanol 10 °C. A solução foi homogeneizada suavemente e mantida em freezer a -20 °C por três horas. Novamente, os microtubos foram centrifugados a 16.100 g por 10 minutos e os sobrenadantes descartados, sendo o precipitado lavado duas vezes com 300  $\mu$ L de etanol 70% a 10° C e em seguida com etanol 95%. O precipitado (DNA) foi ressuspensão em 200  $\mu$ L TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8,0) e conservado em freezer a -20 °C.

Para verificação da qualidade do DNA, utilizou-se um minigel de agarose 0,8%, corado em solução de brometo de etídeo (0,2 mg/L). A concentração do DNA foi quantificada espectrofotometricamente, e as amostras foram lidas nas absorvâncias de luz UV 260 e 280 nanômetros em espectrofotômetro modelo Genesys 10'S-Thermo Scientific. O DNA extraído foi diluído a 10 ng/mL em TE e armazenado em freezer a - 20 °C, para ampliações de PCR.

### 3.3. Amplificação do DNA

Vinte e dois pares de marcadores SSR previamente desenvolvidos para pessegueiro foram estudados (Tabela 1). As reações de amplificação foram preparadas em um volume final de 20 µL contendo 40 ng de DNA genômico, tampão de PCR 1X (Promega), 1,2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 50 mM de cada dNTP (Promega), 1 µM de cada iniciador e 0,5 U de Taq DNA Polimerase (Promega). As amplificações foram realizadas em termociclador Primus 96 Plus (MWG AG Biotech). O seguinte programa de amplificação foi utilizado: (i) desnaturação inicial de três minutos a 94 °C, (ii) 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos, temperatura de anelamento do *primer* (realizado gradiente de 57,9 a 67,9 °C) por 45 segundos, 72 °C por 30 segundos e (iii) extensão final a 72 °C por 10 minutos. Após a amplificação, adicionaram-se aos produtos da reação 5 µL de uma solução de corante (formamida 98%, 10 mmol/L EDTA pH 8,0, azul de bromofenol 0,002%, 0,002% xileno cianol). A mistura foi desnaturada a 95 °C por cinco minutos, refrigerada; posteriormente, 4 µL foram aplicados no gel de poli-acrilamida desnaturante 6% (acrilamida 6%/bisacrilamida (19:1) e 7,5 M/L de ureia-gel) previamente aquecido em tampão TBE 1X (100 mmol/L Tris, 100 mmol/L de ácido bórico, 2 mmol/L EDTA), para ser separado por eletroforese a 100 V, por quatro horas e corado com solução de nitrato de prata 0,2% por 20 minutos, como descrito em detalhes por Creste et al. (2001). Os fragmentos amplificados foram visualizados e digitalizados, utilizando-se o escâner da impressora HP PSC 1510.

Tabela 1 - Sequência, temperatura e tamanho dos fragmentos de 22 *primers* SSR

PRIMER	Tipo de repetição	Tm °C	Pb	Referência
BPPCT 001	(GA) <sub>27</sub>	62,7°	124-195	Dirlewanger et al. (2002)
BPPCT 006	(AG) <sub>19</sub>	63,2°	111-137	Dirlewanger et al. (2002)
BPPCT 007	(AG) <sub>22</sub> (CG) <sub>2</sub> (AG) <sub>4</sub>	59,9°	123-167	Dirlewanger et al. (2002)
BPPCT 008	(GA) <sub>36</sub>	62,5°	100-156	Dirlewanger et al. (2002)
BPPCT 015	(AG) <sub>13</sub>	62,5°	164-258	Dirlewanger et al. (2002)
BPPCT 017	(GA) <sub>28</sub>	61,1°	139-181	Dirlewanger et al. (2002)
BPPCT 038	(GA) <sub>25</sub>	61,6°	103-139	Dirlewanger et al. (2002)
CPPCT 022	(CT) <sub>28</sub> CAA(CT) <sub>20</sub>	53,5°	214-306	Aranzana et al. (2002)
CPPCT 029	(CT) <sub>24</sub>	61,6°	129-196	Aranzana et al. (2002)
CPPCT 030	(CT) <sub>30</sub>	54,4°	160-190	Aranzana et al. (2002)
UDP96 003	(CT) <sub>11</sub> (CA) <sub>28</sub>	63,9°	143	Cipriani et al. (1999)
UDP96 005	(AC) <sub>16</sub> TG(CT) <sub>2</sub> CA(CT) <sub>11</sub>	64,0°	155	Cipriani et al. (1999)
UDP96 015	(CA) <sub>31</sub>	62,6°	174	Cipriani et al. (1999)
UDP98 021	(GA) <sub>22</sub> (CA) <sub>11</sub>	63,7°	145	Testolin et al. (2000)

Continua...

Tabela 1 - Cont.

UDP98 022	(TC) <sub>12</sub> (AG) <sub>24</sub>	62,2°	113-139	Testolin et al. (2000)
UDP98 025	(CA) <sub>19</sub>	63,3°	101-159	Testolin et al. (2000)
UDP98 407	(GA) <sub>29</sub>	63,4°	166-240	Cipriani et al. (1999)
UDP98 408	(CT) <sub>14</sub>	64,6°	100-108	Cipriani et al. (1999)
UDP98 411	(TC) <sub>16</sub>	64,4°	150	Testolin et al. (2000)
UDP98 412	(AG) <sub>28</sub>	63,3°	129	Testolin et al. (2000)
UDP98 414	(TC) <sub>24</sub>	62,5°	150	Testolin et al. (2000)
PS9F8		49,3°	-	-

### 3.4. Número de alelos por loco

O número de alelos por loco foi determinado a partir da análise do perfil do gel. Apesar de os cultivares estudados neste trabalho não estarem em equilíbrio de Hardy-Weinberg, por serem de diferentes origens e cruzamentos, utilizou-se esse procedimento como fonte de informação quanto à qualidade dos *primers*.

#### 3.4.1. Frequência alélica

Esta frequência foi estimada a partir do número de ocorrências das diferentes classes genótípicas. Assim, denominando a ocorrência de homocigotos na população de  $n_{ii}$  e de heterocigotos de  $n_{ij}$ , tem-se:

$$f(A_i) = p_i = \frac{2n_{ii} + \sum_{j=1, j \neq i}^a n_{ij}}{2N}$$

Sendo  $a$  o número de alelos apresentados por loco  $i$  e  $N$  o número total de indivíduos na população.

#### 3.4.2. Heterozigosidade

A heterozigosidade observada é:

$$H_0 = \frac{\sum_{j=1, j \neq i}^a n_{ij}}{N}$$

A heterozigiosidade esperada foi calculada em função da frequência de heterozigotos numa população supostamente em equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo:

$$f(\text{Heterozigoto}_{\text{ sob EHW}}) = H_e = 1 - \sum_{i=1}^a p_i^2$$

### 3.4.3. Conteúdo Médio de Informação Polimórfica (PIC)

Uma informação importante para caracterizar a diversidade genética da população é o conteúdo médio de informação polimórfica (PIC), expresso por:

$$\text{PIC} = 1 - \sum_{i=1}^a p_i^2 - \sum_{i,j=1}^a \sum_{(i \neq j)} p_i^2 p_j^2$$

Um loco foi considerado polimórfico quando o  $\text{PIC} \geq 0,1$  (que corresponde aproximadamente à situação em que o alelo mais frequente tem frequência menor que 0,95) e altamente polimórfico quando  $\text{PIC} \geq 0,7$ . Os dados foram analisados por meio do programa estatístico GENES (CRUZ, 2008).

### 3.4.4. Dissimilaridade

A similaridade genética entre dois cultivares foi quantificada a partir do número de alelos comuns que eles compartilham:

$$S_{ii'} = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^L p_j c_j$$

em que:

$p_j = \frac{a_j}{A}$  : peso associado ao loco j, determinado por:

$a_j$  : número total de alelos do loco j; e

$A$  : número total de alelos estudados.

$$\text{Sendo } \sum_{j=1}^L p_j = 1$$

L: número de locos.

Como esse índice reflete uma medida de similaridade entre cultivares, utilizou-se para análise de agrupamento uma medida de dissimilaridade definida por:

$D = 1 - S$ .

Foi construído o dendrograma por meio do método do agrupamento *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA). Para verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o respectivo dendrograma, foi estimado o Coeficiente de Correlação Cofenética.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Número de alelos por loco

Dos 22 *primers* avaliados, oito foram amplificados (Tabela 2) com o total de 53 alelos. Os *primers* UDP98 021 e UDP98 407 amplificaram o maior número de alelos em relação aos demais, enquanto UDP98 022 e UDP98 411, a menor quantidade deles. O número médio de alelos amplificados foi 6,625.

Tabela 2 - Número e tamanho dos alelos, Heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), observada ( $H_0$ ) e poder informativo de oito *primers* SSR avaliados em 69 cultivares de pêssego

<i>Primer</i>	Nº alelos	Tamanho alelos (pb)	$H_e$	$H_0$	PIC
BPPCT 007	6	150-175	0,7764	1,0	0,744
UDP96 005	8	155-195	0,8349	1,0	0,8142
UDP96 015	8	155-205	0,7058	1,0	0,6585
UDP98 021	9	150-185	0,8442	1,0	0,8258
UDP98 022	4	140-160	0,5143	1,0	0,3963
UDP98 407	9	175-225	0,8579	1,0	0,8416
UDP98 025	5	140-175	0,6359	1,0	0,5659
UDP98 411	4	140-185	0,5143	1,0	0,3963
<b>Média</b>	<b>6,625</b>		<b>0,7105</b>	<b>1,0</b>	<b>0,6553</b>
<b>Total</b>	<b>53</b>				

Dos 53 alelos que foram amplificados, o número de alelos variou de quatro a nove, valores superiores aos encontrados por outros autores. Cheng et al. (2009) obtiveram média de 3,125 alelos por loco ao usarem sete pares de *primers* em 32 variedades de pêssego. No trabalho de Shiran et al. (2007), o número de alelos encontrados em amendoeira variou de 2 a 4, o que é considerado baixo em

comparação com outras espécies do gênero *Prunus*, como amêndoa (*P. communis* Fritsch.), com valor médio de 6,64. Sosinski et al. (2000), avaliando 28 cultivares de pêssigo com oito marcadores microssatélites, observaram 3,0 alelos em média por loco. Testolin et al. (2000), utilizando 17 pares de *primers* SSR para estudar a diversidade genética de 50 cultivares de pêssigos e nectarinas, obtiveram de 2-8 alelos amplificados em cada locos, com um número médio de 4,5 alelos. Dirlewanger et al. (2002) selecionaram 41 pares de *primers* SSR para análise da diversidade em 27 cultivares de pêssigo, obtendo, em cada loco, de um a nove alelos amplificados, com média de 4,2. Aranzana et al. (2002), estudando 24 cultivares de pêssigo com 24 microssatélites polimórficos, encontraram a média de 3,2 alelos por loco. Li et al. (2008) conseguiram um total de 111 alelos identificados com 22 locos SSR em 51 cultivares de pêssigo na China, uma média de cinco por loco. O valor encontrando neste trabalho está próximo do informado por Aranzana et al. (2003) em uma população de 212 cultivares de pêssigo utilizando 16 marcadores SSR, cuja média foi 7,3 alelos por loco. Rojas et al. (2008) utilizaram nove *primers* SSRs, que amplificaram 59 alelos numa população de 117 cultivares, com média de 6,6 por loco. O número de alelos observados por loco em pêssigo foi abaixo (4-9 neste trabalho) do verificado em outras fruteiras, como macieira, na qual variou de 6 -13, uma média de 9,2 (GALLI et al., 2005). Esse valor, porém, foi mais alto que o determinado em um grupo de 10 cultivares de cereja estudados com nove SSR, que apresentaram variação de 3 - 6 alelos por loco, com média de 4,1 (KAÇAR et al., 2005). Entretanto, nesse tipo de comparação tem-se que levar em consideração o número de genótipos em estudo.

#### **4.1. Frequência alélica**

A frequência alélica variou de 0,0072 a 0,4928 quando foram utilizados os *primers* UDP98 411 e UDP98 022, constatando-se ainda a presença de alelos raros, uma vez que apenas um indivíduo apresentou alelos diferentes dos demais em ambos os casos. Rojas et al. (2008), avaliando 117 cultivares de pêssigo e nectarina com nove marcadores microssatélites, obtiveram frequência alélica entre 0,004 e 0,846,

com média de 0,152, sendo mais da metade dos alelos (41) alelos raros. Essas diferenças em conteúdo de informação por marcador podem ser explicadas pelo número de cultivares estudados em cada caso, refletindo a chance mais alta de encontrar mais alelos quando o número de genótipos também é maior.

#### **4.2. Heterozigosidade**

A heterozigosidade esperada variou de 0,5143 a 0,8579, uma média de 0,7105, porém a observada foi de 1,0, já que todos os indivíduos se mostraram heterozigotos. Em trabalhos realizados por Rojas et al. (2008), a  $H_o$  e  $H_e$  encontradas foram de 0,345 e 0,552, respectivamente, valores esses próximos aos encontrados por Aranzana et al. (2003) (0,350 e 0,500, respectivamente).

#### **4.3. Conteúdo médio de informação polimórfica**

Os locos mais informativos foram UDP96 005, UDP98 021 e UDP98 407, com PIC de 0,8142, 0,8258 e 0,8416, sendo os menos informativos UDP98 022 e UDP98 411, com PIC 0,3963. A média desse coeficiente em todos os locos foi 0,6553. Esse alto valor se deve ao fato de os cultivares analisados serem de diferentes origens e apresentarem maior número de genitores com características contrastantes.

Foram considerados altamente polimórficos os *primers* BPPCT 007, UDP96 005, UDP98 021 e UDP98 407, por apresentarem  $PIC \geq 0,7$ .

Bouhadida et al. (2007), caracterizando 19 clones relacionados ao cultivar Miraflores e utilizando 20 pares de *primers* microssatélites, constataram que BPPCT 007 foi monomórfico nos materiais vegetais analisados. A heterozigosidade observada ( $H_o$ ) variou de 0 a 0,70, com valor médio de 0,18. A heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) alterou-se de 0 a 0,67, com valor médio de 0,29. O poder de discriminação (PD) passou de 0 nos locos monomórficos para até 0,67, com valor médio de 0,31. Tais resultados indicam baixa variabilidade do material estudado,

o que pode ser explicado pela estreita relação genética entre os acessos de pêssago estudados e, em particular, entre os clones de "Miraflores". Neste estudo, BPPCT 007 foi polimórfico, amplificando seis alelos.

Alguns *primers* utilizados no trabalho de Bouhadida et al. (2007) foram testados aqui, não fornecendo resultados satisfatórios de amplificação. Foram os casos de CPPCT 022, CPPCT 020, CPPCT 030, UDDP98 408, BPPCT 001, BPPCT 008, BPPCT 017 e BPPCT 038. Essa diferença possivelmente se deva ao fato de terem sido utilizados cultivares diferentes nos dois trabalhos.

Li et al. (2008), ao avaliarem a diversidade genética de 51 cultivares na coleção núcleo primário na China, constataram alelos raros na maioria dos locos SSR. Todos os *primers* selecionados foram altamente polimórficos e específicos. O maior número de alelos e alelos raros foi detectado com o *primer* BPPCT001, o que significa que BPPCT001 foi o loco mais polimórfico entre todos os locos SSR analisados. Neste estudo, a presença de alelos raros foi detectada por dois *primers*, que apresentaram apenas um indivíduo polimórfico: UDP98 411 (Okinawa) e UDP98 022 (Cascata 580). Não foram obtidas amplificações utilizando o *primer* BPPCT 001.

O resultado deste trabalho está de acordo com a base genética estreita conhecida do pêssago e da nectarina, pois em variedades modernas a fonte principal de diversidade veio de um número reduzido de genótipos originalmente criados no Norte da América no final do século XIX.

#### **4.4. Dissimilaridade**

A análise dos dados dos 53 alelos resultantes da amplificação de oito locos SSR não distinguiu todas as variedades analisadas. A distância variou de zero a 87,74, sendo a distância média de 49,97%.

Três pares de cultivares não foram diferenciados pelos *primers* utilizados. Eles compartilham 16 alelos em oito locos, são eles: Joia 3 e Joia 4, Campinas 1 e Olímpia, Aldrigui e Gaúcho. Os pêssagos Joia 3 e Joia 4 provêm do cruzamento Catita x Rubrosol, realizado em 1974, na Estação Experimental de Monte Alegre

do Sul. Catita é um pêsego de polpa branca, tenra, de caroço solto, sabor doce-acidulado franco, agradável, de alta produtividade, resultante de autofecundação da variedade Taichi, que provém do cruzamento Rei da Conserva x Jewel. Rubrosol, originariamente chamada de Sunred, ou seja, uma nectarina de polpa amarela e caroço meio solto e de sabor agridoce marcante. Foi introduzida da Florida e é originária da polinização livre de [Panamint x (Southland x Hawaiian) F2] (OJIMA et al., 1987). Como foram obtidas a partir do mesmo cruzamento e apresentam características semelhantes, é natural que não sejam distinguidas com facilidade, mesmo que em nível molecular.

Campinas 1 é um cultivar de pêsego para conserva obtido pela autofecundação de Lake City. O cultivar Olímpia resultou de cruzamento realizado em 1983 entre o cultivar Bolinha e uma seleção introduzida do México, 7-28, lançado pela Embrapa em 2004. Não há relação genética entre elas.

Aldrigui é uma seleção do Rio Grande do Sul, cultivar de pêsego para conserva, enquanto Gaúcho é um cultivar para consumo *in natura* (BRUCKNER, 1987). Também não existem relações genéticas entre Aldrigui e Gaúcho, mas, ao empregar maior número de *primers*, talvez seja possível distinguir esses cultivares que não foram diferenciados com os *primers* utilizados neste trabalho.

A menor similaridade encontrada, compartilhando apenas três alelos em sete locos, foi entre o cultivar Okinawa e os cultivares Rubrosol, Diamante, Ouronectar, Delecioso Precoce e Aurora 1, em que a dissimilaridade foi 87,74. Apenas Aurora 1 tem o porta-enxerto Okinawa como ancestral, mas há muitas gerações anteriores, pois Aurora 1 foi obtida pela polinização aberta de Ouromel 3, que é uma seleção do cruzamento entre Tutu e Colombina. Colombina resultou na autofecundação de Sunlite, que foi obtido a partir do cruzamento de NJN-21 x (Okinawa x Panamint) (OJIMA et al., 1989). As demais variedades não apresentam parentesco com Okinawa.

Para os cultivares UFV 107 e UFV 207, a dissimilaridade foi de 16,98%, compartilhando 14 alelos em oito locos. Essas plantas foram obtidas na UFV a partir do cruzamento entre Campinas 1 e Miraflores (BRUCKNER, 2010 – comunicação pessoal).

UFV 186 e Ufv 286 são materiais que podem ser utilizados como porta-enxertos ananizantes para ameixa (BRUCKNER, 1988), e a dissimilaridade entre eles foi de 25,47%. Não há dados de genealogia desses dois genótipos, que foram coletados em pomar de produtor.

As nectarineiras Josefina e Centenária tiveram dissimilaridade de 49,06%, compartilhando 10 alelos em oito locos. Josefina foi obtida da terceira geração de polinização aberta de híbridos do cruzamento entre o pêssego Ouromel com a nectarina Rubrosol (OJIMA et al., 1986). Centenária, é originária da polinização aberta de Doçura-2, que foi obtida a partir do cruzamento entre o pêssego Cristal e a nectarina Colombina (OJIMA et al., 1988). Colombina é uma nectarina introduzida da Flórida e provém da autofecundação de Sunlite, cuja origem é (Okinawa x Panamint) x NJN 21.

A menor dissimilaridade encontrada no porta-enxerto Okinawa foi de 49,06% com FlordaPrince, que é uma introdução da Flórida, lançada no Brasil pelo IAC.

Entre os cultivares cujo grau de parentesco era de irmãos-completos, a dissimilaridade média foi de 11,85% (Tabela 3). A maior semelhança entre irmãos-completos é esperada, uma vez que apresentam os mesmo genitores.

Tabela 3 - Dissimilaridade entre irmãos-completos

<b>Cultivares</b>	<b>Genitores</b>	<b>Dissimilaridade</b>
Alô-doçura e Colibri	Autofecundação de Cristal	0,0754
Joia 3 e Joia 4	Catita x Rubrosol	0,0000
Belvedere e Coral	Delicioso x Interlúdio	0,2547
Relíquia e Talismã	Rei da Conserva x Jewel	0,0849
Baronesa e Princesa	Hawaiian x Southland	0,1698
UFV 107 e Ufv 207	Campinas 1 x Miraflores	0,1698
Chula e BR-1	Delicioso x Panamint	0,0754
<b>Média</b>		<b>0,1185</b>

A dissimilaridade média entre meios-irmãos foi de 44,87% (Tabela 4). Apesar de apresentarem um genitor comum, a média da dissimilaridade dos meios-irmãos não divergiu muito em relação à média geral dos 69 cultivares.

Tabela 4 - Cultivares e seus respectivos genitores entre parêntese e a dissimilaridade entre meios-irmãos

<b>Cultivares e seus respectivos genitores entre parêntese</b>	<b>Dissimilaridade</b>
Belvedere (Delicioso x Interlúdio) e BR-1 (Delicioso x Panamint)	0,3302
Gaúcho (Robusto x Panamint) e BR-1 (Delicioso x Panamint)	0,4717
Belvedere (Delicioso x Interlúdio) e Chula (Delicioso x Panamint)	0,4056
Coral (Delicioso x Interlúdio) e Chula (Delicioso x Panamint)	0,3207
Coral (Delicioso x Interlúdio) e BR-1 (Delicioso x Panamint)	0,2453
Gaúcho (Robusto x Panamint) e Chula (Delicioso x Panamint)	0,5471
Dourado 1 (Tutu x Maravilha) e Flordaprince (Fla2-7 x Maravilha)	0,4339
Dourado 1 (Tutu x Maravilha) e Joia 3 (Nectar x Maravilha)	0,4528
Flordaprince (Fla2-7 x Maravilha) e Joia 3 (Nectar x Maravilha)	0,7169
Capdesbosq (Lake City x S56-87) e Real (Lake City x Rei da Conserva)	0,4528
Capdesbosq (Lake City x S56-87) e Topázio (Lake City x Intermediário)	0,6037
Real (Lake City x Rei da Conserva) e Topázio (Lake City x Intermediário)	0,3207
Real (Lake City x Rei da Conserva) e Relíquia (Rei da Conserva x Jewel)	0,4905
Real (Lake City x Rei da Conserva) e Talismã (Rei da Conserva x Jewel)	0,4905
<b>Média</b>	<b>0,4487</b>

#### 4.5. Análise de agrupamento

A análise de agrupamento revelou um bom ajuste entre as distâncias apresentadas graficamente e a matriz original de distâncias com um Coeficiente de Correlação Cofenética de 0,6895.

Cultivares de pessegueiro que apresentam características fenotípicas distintas não puderam ser separados com base nas informações dos *primers* utilizados, como observado no dendrograma da Figura 1. Cultivares de pessegueiro e nectarineiras ficaram nos mesmos grupos, assim como pêssegos para consumo *in natura* ou de conserva, que apresentam polpa amarela ou polpa

branca, assim como de maior ou menor necessidade de frio. São características de herança monogênica: polpa branca dominante sobre a amarela, caroço solto dominante sobre caroço aderente e película pubescente (pêssego) dominante sobre glabra (nectarina). Enquanto características como necessidade de frio e época de maturação são de herança poligênica (RASEIRA; NAKASU, 2002).

Wünsch et al. (2006), utilizando SSR para caracterizar o germoplasma espanhol de pessegueiro, constataram que cultivares que podem ser facilmente diferenciados morfológicamente não puderam ser distinguidos com SSR por eles utilizados. Li et al. (2008), avaliando uma coleção de pessegueiro na China, verificaram que diferentes grupos de variedades não foram distinguidos com 22 marcadores microssatélites.

Método de agrupamento: Ligação Média Entre Grupo (UPGMA)

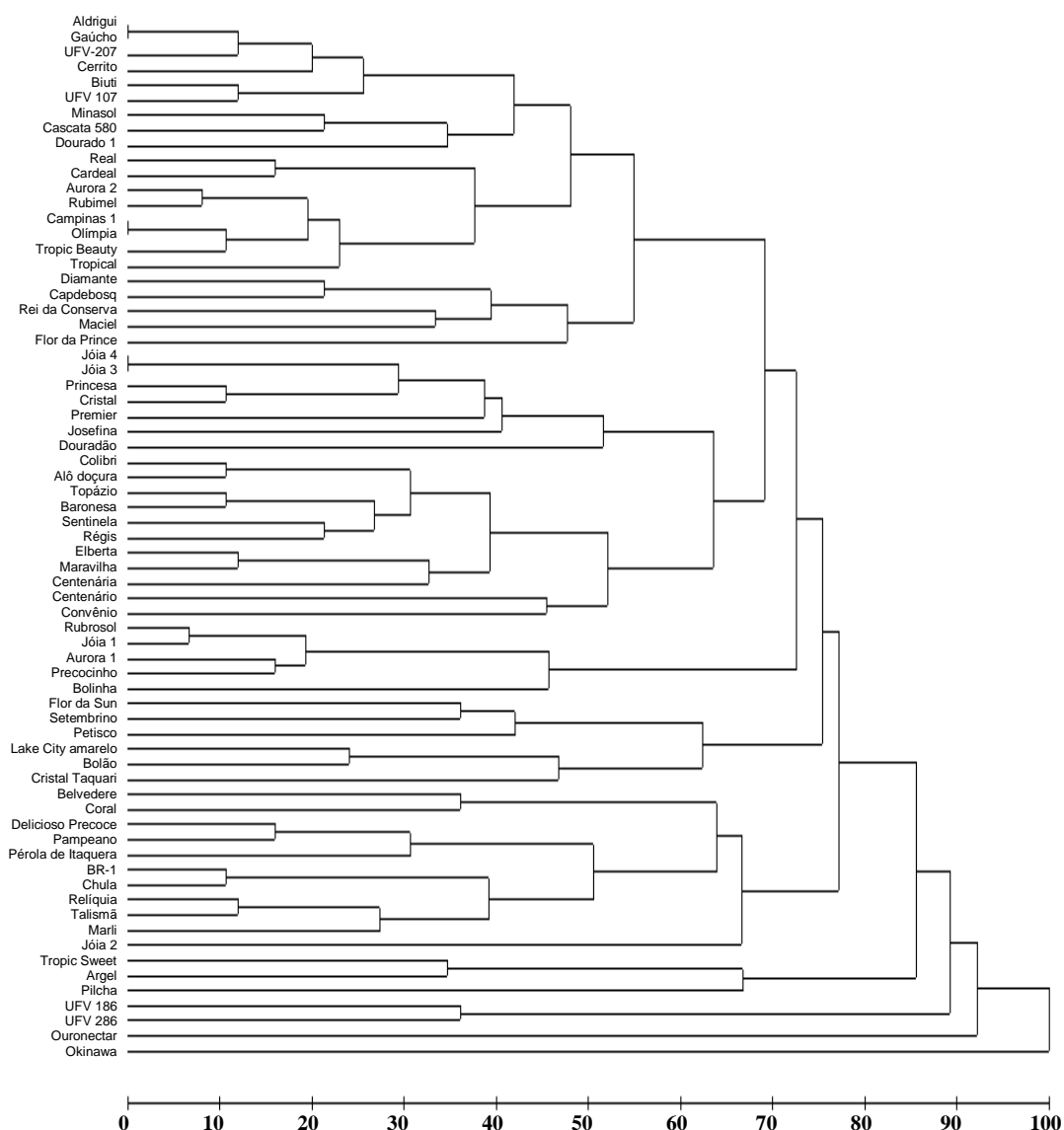


Figura 1 - Dendrograma de 69 variedades de pêssgo avaliadas com oito *primers* SSR.

O porta-enxerto Okinawa não ficou dentro de nenhum grupo, apesar de estar na genealogia de alguns dos cultivares avaliados. Cultivares lançados pela Embrapa e pelo IAC foram agrupados aleatoriamente no dendrograma, apesar de os genitores utilizados nos dois programas serem diferentes, mostrando que existe variabilidade considerável entre os cultivares lançados pelas duas instituições.

O cultivar Colibri e Alô Doçura ficaram bem próximos no dendrograma, sendo ambos provenientes da autofecundação do cultivar Cristal (BRUCKNER, 1987); a dissimilaridade entre eles foi de 7,5%, enquanto os valores de

dissimilaridade entre Cristal e Colibri e Cristal e Alô Doçura foi de 39,63 e 32,07%, respectivamente.

Belvedere, Coral e Marli são cultivares provenientes do cruzamento Delicioso x Interlúdio (BRUCKNER, 1987) e apresentaram dissimilaridades de 32,07% (Coral e Marli), 25,47% (Belvedere e Coral) e 40,57% entre Belvedere Marli. Princesa e Baronesa são provenientes do cruzamento Hawaiian x Southland (EMBRAPA, 1974) e ficaram dentro de um grupo maior, e sua distância foi de 16,98%.

Os cultivares Joia 3, Joia 4, Josefina e Tropical têm a nectarina Rubrosol como genitor, mas eles não foram agrupados. Resultados semelhantes foram encontrados por Bianchi et al. (2004), que, avaliando 29 porta-enxertos de *Prunus* spp a partir de 5 *primers*, constataram que o agrupamento de alguns materiais não mostrou concordância com os dados de genealogia. Em contrapartida, Cheng et al. (2009), utilizando sete *primers* microssatélites em pessegueiro, verificaram que a análise de agrupamento separou os 32 cultivares avaliados em dois grupos distintos, geralmente concordantes com a informação de genealogia conhecida. Cultivares estreitamente relacionados nem sempre são agrupados a partir de análises moleculares.

Esses resultados indicam que a coleção está composta por cultivares divergentes e os marcadores SSR podem ser utilizados para identificar alto nível de variação em pessegueiro.

## 5. CONCLUSÕES

Foi possível obter informatividade de oito *primers* SSR, encontrando-se de quatro a nove alelos por loco, frequência alélica entre 0,0072 e 0,4928, heterozigosidade média de 0,7105 e PIC médio de 0,6553.

A dissimilaridade entre os cultivares foi de 0 a 87,74%, mostrando que dentro da coleção existe variabilidade. Houve presença de pares de cultivares com padrão genotípico idêntico, apesar de fenotipicamente distintos. A dissimilaridade entre irmãos-completos foi menor que entre meios-irmãos.

Diferentes grupos de variedades não puderam ser separados com base em informações dos *primers* utilizados.

## 6. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2010. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, Consultoria & AgroInformativos, 2010. p. 438-44.

ALBUQUERQUE, A. S.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; SALOMÃO, L. C. C. Avaliação de cultivares de pêsego e nectarina em Araçuaia, Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 47, n. 272, p. 401-10, 2000.

ALCARAZ , M. L.; HORMAZA, J. I. Molecular characterization and genetic diversity in an avocado collection of cultivars and local Spanish genotypes using SSRs. **Hereditas**, v. 144, p. 244-53, 2007.

ARADHYA, M.; WEEKS, C.; SIMON, C.J. Molecular characterization of variability and relationships among seven cultivated and selected wild species of *Prunus* L. using amplified fragment length polymorphism. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 103, p. 131-44, 2004.

ARANZANA, M. J.; GARCÍA-MAS, J.; CARBÓ, J.; ARUS, P. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. **Plant Breeding**, v. 121, p. 87-92, 2002.

ARANZANA, M. J.; CARBO, J.; ARUS, P. Microsatellite variability in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: cultivar identification, marker mutation, pedigree inferences and population structure. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p.1341-52, 2003.

ARANZANA, M. J.; PINEDA, A.; COSSON, P.; DIRLEWANGER, E.; ASCASIBAR, J.; CIPRIANI, G.; RYDER, C. D.; TESTOLIN, R.; ABBOTT, A.; KING, G. J.; IEZZONI, A. F.; ARU'S, P. A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 819-25, 2003.

ARANZANA, M. J.; VICENTE, M. C.; ARUS, P. Comparison of fruit and leaf DNA extraction for AFLP and SSR analysis in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). **Acta Horticulturae**, v. 546, p. 297-300, 2001.

ARUS, P.; ARANZANA, M. J.; CARBO, J. SSR and AFLP markers for germplasm evaluation and cultivar identification in peach. **Acta Horticulturae**, v. 606, p.35-9, 2003.

ARULSEKAR, S.; PARFITT, D. E. Isozymes analyses procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio, and fig. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 4, p. 928-33, 1986.

BADENES, M. L.; PARFITT, D. E. Phylogenetic relationships of cultivated *Prunus* species from an analysis of chloroplast DNA variation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 90, p. 1035-41, 1995.

BARBOSA, W.; OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; RIGITANO, O.; MARTINS, F. P.; CASTRO, J. L.; SANTOS, R. R. dos. 'Tropical'; novo pêssego de coloração vermelha intensa e bem precoce para São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 10., 1989, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1989c. p. 426-30.

BARBOSA, W.; OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; RIGITANO, O.; MARTINS, F. P.; SANTOS, R. R. dos; CASTRO, J. L. **Melhoramento do pessegueiro para regiões de clima subtropical-temperado**: realizações do Instituto Agrônomo no período de 1950 a 1990. Campinas, SP, 1997. (Documento IAC 52).

BARBOSA, W.; OJIMA, M.; CAMPO DALL'ORTO, F. A. Comportamento do pessegueiro 'Douradão' em Itupeva. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 1261-5, 1999.

BARBOSA, W.; OJIMA, M.; CAMPO DALL'ORTO, F. A. Pêssego 'Douradão'. In: **Novas variedades brasileiras de frutas**. JaboticabalSP: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. 205 p.

BASSOLS, M. C.; NAKASU, B. H.; FELICIANO, A. J. '**Precocinho**': nova cultivar de pêssego de indústria. Pelotas, RS: EMBRAPA-UEPAE de Cascata, 1981. 10 p. (Documentos, 4).

BENSON, L. L.; LAMBOY, W. F.; ZIMMERMAN, R. H. Molecular identification of *Malus hupehensis* (tea crabapple) accessions using simple sequence repeats. **HortScience**, v. 36, p. 961-6, 2001.

BELL, C. J.; ECKER, J. R. Assignment of 30 SSR loci to the linkage map of Arabidopsis. **Genomics**, v. 19, p. 137-44, 1994.

BIANCHI, V. J.; SANSAVINI, S.; FACHINELLO, J. C. Microsatellite markers for identification of *Prunus* spp. rootstocks. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 3, p. 303-6, May/June 2004.

BOUHADIDA, M.; CASAS, A. M.; MORENO, M. A.; GOGORCENA, Y. Molecular characterization of Miraflores peach variety and relatives using SSRs. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 140-5, 2007.

BOUHADIDA, M.; MARTÍN, J. P.; EREMIN, G.; PINOCHET, J.; MORENO, M. A.; GOGORCENA, Y. Chloroplast DNA diversity in *Prunus* and its implication on phylogenetic relationships. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 132, p. 670-9, 2007.

BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético do pessegueiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 9, n. 1, p. 7-19, 1987.

BRUCKNER, C. H. Ocorrência de nanismo em ameixeiras enxertadas sobre pessegueiros. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: SBF, 1987, p. 107-9.

CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A. C. B de; BRITO, G. G de; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG, 2009. p. 11-94.

CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; OJIMA, M.; BARBOSA, W.; MARTINS, F. P.; RIGITANO, O. 'Centenário': nova seleção de pêssgo amarelo. **Bragantia**, Campinas, v. 46, n. 2, p. 443-8, 1987.

CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; OJIMA, M.; BARBOSA, W.; MARTINS, F. P.; RIGITANO, O. 'Delicioso Precoce': nova seleção de pêssgo IAC para as regiões mais frias de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 233-9, 1989.

CANTINI, C.; IEZZONI, A. F.; LAMBOY, W. F.; BORITZKI, M.; STRUSS, D. DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 126, p. 205-9, 2001.

CARVALHO, F. I. F.; FEDERIZZI, L. C. Evolução da cultura da aveia no sul do Brasil. **Trigo e soja**, Porto alegre, v. 102, p. 16-19, 1989.

CASAS, A. M.; IGARTUA, E.; BALAGUER, G.; MORENO, M. A. Genetic diversity of *Prunus* rootstocks analysed by RAPD markers. **Euphytica**, v. 110, p. 139-49, 1999.

CHENG, Z.; HUANG, H. SSR fingerprinting chinese peach cultivars and landraces (*Prunus persica*) and analysis of their genetic relationships. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 120, p.188-93, 2009.

CIPRIANI, G.; LOT, G.; HUANG, W.-G.; MARRAZZO, M. T.; PETERLUNGER, E.; TESTOLIN, R. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch): isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, p. 65-72, 1999.

CRESTE, S.; TULMANN-NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of simple sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrilamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biological Report**, v. 4, p. 299-306, 2001.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-5, 1990.

CRUZ, C. D. **Programa genes – Diversidade genética**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2008. v. 1. 278 p.

DAYANANDAN, S. O.; RAJORA, O. P.; BAWA, K. S. Isolation and characterization of microsatellites in trembling aspen (*Populus tremuloides*). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 96, p. 950-6,1998.

DECROOCQ, V.; HAGEN, L.; FAVÉ, M. -G.; EYQUARD, J. -P.; PIERRONNET, A. Microsatellite markers in the hexaploid *Prunus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simple-sequence repeat. **Molecular Breeding**, v. 13, n. 2, p. 135-42, february 2004.

DIRLEWANGER, E.; DUHA, S.; VIRUEL, M. A.; SAUNIER, R. Identification of peach varieties using molecular markers. **Acta Horticulturae**, v. 465, p. 69-77, 1998.

DIRLEWANGER, E.; COSSON, P.; TAVAUD, M.; ARANZANA, J.; POIZAT, C.; ZANETTO, A.; ARÚS, P.; LAIGRET, F. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, p. 127-38, 2002.

DIRLEWANGER, E.; GRAZIANO, E.; JOOBEUR, T.; GARRIGA-CALDERÉ, F.; COSSON, P.; HOWARD, W.; ARÚS, P. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. In: THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE OF THE UNITED STATES OF AMERICA, 26., 2004. **Proceedings...** [S.l. : s.n.], june 2004. v. 101, p. 9891-6.

DURHAM, R. E.; MOORE, G. A.; SHERMAN, W. B. Isozyme banding patterns and their usefulness as genetic markers in peach. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 112, p. 1013-8, 1987.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Pêssego**: cultivares para mesa. Pelotas, RS, 1974. 23 p (Boletim técnico, 92).

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Pêssego**: cultivares para conserva. Pelotas, SP, 1974. 16 p (Boletim técnico, 93).

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Pêssego para mesa e nectarina, cultivares**. Pelotas, RS, 1979. 32 p. (Circular técnica, 1).

FANG, J.; TWITO, T.; ZHANG, Z.; CHAO, C. C. T. Genetic relationships among fruiting-mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) cultivars evaluated with AFLP and SNP markers. **Genome**, v. 49, p. 1256-64, 2006.

FAO. **Pêssegos e nectarinas**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>> . Acesso em: 7 maio 2010.

FELICIANO, A. J.; BASSOLS, M. do C. M.; NAKASU, B. H.; NUNES, E. C. Pêssego ‘BR-1’, promissora cultivar tardia para mesa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1979, Pelotas. **Anais...** Pelotas, RS: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1979. v. 3.

FIELD, D.; WILLS, C. Long, polymorphic microsatellites in simple microorganisms. **Proceedings Biological Sciences**, v. 263, p. 209-15, 1996.

FOOLAD, M. R.; ARULSEKAR, S.; BECERRA, V.; BLISS, F. A. A genetic map of *Prunus* based on an interspecific cross between peach and almond. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 91, n. 2, p. 262-9, July 1995.

GALLI, Z.; HALASZ, G.; KISS, E.; HESZKY, L. Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. **Hortscience**, v. 40, n. 7, p. 1974-7, December 2005.

GOGORCENA, Y.; PARFITT, D. E. Evaluation of RAPD marker consistency for detection of polymorphism in apricot. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 59, p. 163-7, 1994.

GUILFORD, P.; PRAKASH, S.; ZHU, J. M.; RIKKERINK, E.; GARDINER, S.; BASSETT, H.; FORSTER, R. Microsatellites in *Malus domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, p. 249-54, 1997.

GULSEN, O.; ROOSE, M. L. Lemon: diversity and relationships with selected Citrus genotypes as measured with nuclear genome markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 126, p. 309-17, 2001.

GUPTA P. K.; VARSHNEY R. K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis in bread wheat. **Euphytica**, v. 113, p. 163-85, 2000.

HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; BERTAN, I.; VALÉRIO, I. P.; SILVA, G. O.; RIBEIRO, G.; FINATTO, T.; SILVEIRA, G. Variabilidade de caracteres adaptativos da aveia branca *Avena sativa* L.) em cruzamentos dialélicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 337-45, 2007.

HESSE, C. O. Peaches. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. **Advances in fruit breeding**. Indiana: Purdue University Press, 1975. p. 285-335.

HOWAD, W.; YAMAMOTO, T.; DIRLEWANGER, E.; TESTOLIN, R.; COSSON, P.; CIPRIANI, G.; MONFORTE, A. J.; GEORGI, L.; ABBOT, A.; ARÚS, P. Mapping with a few plants: using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. **Genetics**, v. 171, n. 3, p. 1305-9, 2005.

KAÇAR, Y.; IEZZONI, A.; CETINER, S. Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers. **Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 5, p.616-9, 2005.

KANEKO, T.; TERACHI, T.; TSUNEWAKI, K. Studies on the origin of crop species by restriction endonuclease analysis of organellar DNA. II. Restriction analysis of ctDNA of 11 *Prunus* species. **Japanese Journal of Genetics**, v. 61, p. 157-68, 1986.

LAYNE, R. E. C. Peach rootstocks. In: ROM, R. C.; CARLSON, R. F. (Eds.). **Rootstocks for Fruit Crops**. New York: John Wiley and Sons, 1987. p. 185-216.

LAMBOY, W. F.; ALPHA, C. G. Using simple sequence repeats (SSRs) for fingerprinting germplasm accessions of grape (*Vitis* L.) species. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 123, p. 182-8, 1998.

LI, T. H.; LI, Y. X.; LI, C.; ZHANG, H. L.; QI, Y. W.; WANG, T. Simple sequence repeat analysis of genetic diversity in primary core collection of peach (*Prunus persica*). **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, n. 1, p. 102-10, 2008.

LIMA, M. R. M. S. **Caracterização de cultivares de *Prunus persica* (L.) Batsch através de marcadores moleculares**. 2001. 33 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2001.

LU, Z.-X.; REIGHARD, G. L.; BAIRD, W. V.; ABBOTT, A. G.; RAJAPAKSE, S. Identification of peach rootstock cultivars by RAPD markers. **HortScience**, v. 31, p. 127-9, 1996.

MESSEGUER, R.; ARUH, S. P.; CARRERA, M. Identification of peach cultivars with pollen isozymes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 31, p. 107-17, 1987.

MESSINA, R.; LAIN, O.; MARRAZZO, M. T.; CIPRIANI, R.; TESTOLIN, R. New set of microsatellite loci isolated in apricot. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 432-4, 2004.

MILLER, P. J.; PARFITT, D. E.; WEINBAUM, S. A. Outcrossing in peach. **Hortscience**, v. 24, p. 359-60, 1989.

MNEJJA, M.; GARCIA-MAS, J.; HOWAD, M.; BADENES, M. L.; ARÚS, P. Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 2, p. 163-6, 2004.

MOWREY, B.; WERNER, D.; BYRNE, D. Inheritance of isocitrate dehydrogenase, malate dehydrogenase, and shikimate dehydrogenase in peach and peach almond hybrids. . **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, p. 312-9, 1990.

MOWREY, B.; WERNER, D.; BYRNE, D. Isozyme survey of various species of *Prunus* in the subgenus *Amygdalus*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 44, p. 251-60, 1990.

MONET, R.; BASTARD, Y.; GIBAUT, B. Etude genetique et amelioration des peches plates. **Agronomie** , v. 5, p. 727-31, 1985.

MULCAHY, D. L.; CRESTI, M.; SANSAVINI, S.; DOUGLAS, G. C.; LINSKENS, H. F.; BERGAMINI MULCAHY, G.; VIGNANI, R.; PANCALDI, M. The use of random amplified polymorphic DNAs to fingerprint apple genotypes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 54, p. 89-96, 1993.

NAKASU, B. H.; FELICIANO, A. J.; RASEIRA, M. do C. B.; HOUGH, L. F. 'Àgata', 'Onix' e 'Bolinha', novas cultivares de pêssego de industrias para o sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA/DDT-CNPq, 1986. v. 2, p. 441-4.

NAKASU, B. H.; FELICIANO, A. J.; RASEIRA, M. do C. B.; NUNES, E. C.; MORAIS, L. A. H. ‘Sentinela’, ‘Pilcha’ e ‘Chula’ – Novas cultivares de pêssego para mesa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA/DDT–CNPq, 1986. v. 2, p. 437-40.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F. A.; RIGITANO, O.; SCARANARI, H. J.; MARTINS, F. P.; TOMBOLATO, A. F. C.; BARBOSA, W. Quatro novas cultivares de IAC de pêssegos brancos de caroço solto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 9, p. 1009-13, 1983.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A. F. C. Comportamento do pêssego ‘Flordaprince’ – Nova seleção bem precoce introduzida da Flórida. **Bragantia**, Campinas, v. 43, n. 1, p. 261-6, 1984.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A. F. C.; RIGITANO, O.; SCARANARI, H. J.; MARTINS, F. P.; SANTOS, R. R. dos. ‘Dourado-1’ e ‘Dourado-2’, novos cultivares de pêssego amarelo para mesa. **Bragantia**, Campinas, v. 44, n. 1, p. 451-5, 1985.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A. F. C.; MARTINS, F. P.; RIGITANO, O. ‘Josefina’ – Nova nectarina de polpa branca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1986. v. 2, p. 417-9.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; MARTINS, F. P.; SANTOS, R. R. dos.; RIGITANO, O. Novas cultivares IAC de pêssegos precoces: tipos Joia e Doçura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 7, p. 729-32, 1987.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL’ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; MARTINS, F. P.; CASTRO, J. L.; SANTOS, R. R. dos.; SABINO, J. C.; BOVI, V.; RIGITANO, O. ‘Centenária’: nova nectarina amarela pouco exigente de frio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. v. 2, p. 635-8.

OJIMA, M.; CAMPO DALL'ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; RIGTTANO, O. **Desenvolvimento da fruticultura de clima temperado em São Paulo:** contribuição do Instituto Agrônômico até seu Centenário: 1887/1987. Campinas, MG: IAC, 1988. 63 p. (Documentos IAC, 11).

OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; RIGITANO, O.; MARTINS, F. P.; SANTOS, R. R. dos. 'Aurora-1' e 'Aurora-2': novos cultivares de pêsego doces de polpa amarela. In: CONGRESSO BRASILEIRA DE FRUTICULTURA, 10., 1989, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1989. p. 422-5.

OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; BARBOSA, W.; MARTINS, F. P.; CASTRO, J. L.; SANTOS, R. R. dos.; SABINO, J. C.; BOVI, V.; RIGITANO, O. 'Régis' – Novo cultivar de pêsego para mesa e conserva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 3, p. 293-6, 1991.

PANCALDI, M.; BATISTTINI, S. Utilizo degli isoenzime per l'identificazione varietale in albicocco. **Atti Convegno AgroBioFrut.** [S.l.]: Cesena, 1991. p. 195-202.

PANCALDI, M.; KAÇAR, T.; KUDEN, A. B.; SANSAVINI, S. Impiego di microsattelliti sequenziati nel pesco per il "fingerprinting" e l'analisi genealogica del mandorlo. **Frutticoltura**, Bologna, n. 11, p. 70-3, 1999.

RASEIRA, M. C. B.; NAKASU, B. H. Cultivares: descrição e recomendação. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. **A cultura do pessegueiro.** Brasília: Embrapa-SPI; Pelotas: Embrapa-CPACT, 1998. p. 29-99.

RASEIRA, M. C. B.; NAKASU, B. H. Pessegueiro. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.) **Melhoramento de fruteiras de clima temperado.** Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. p. 89-126.

RIGITANO, O. Quatro novas variedades de pêsego precoces selecionadas para as condições do estado de São Paulo. **O Agrônomo**, Campinas, v. 16, n. 7-8, p. 1-4, 1964.

RIGITANO, O.; OJIMA, M. Pêssego: novas seleções fazem o quadro se alterar. **Coopercotia**, São Paulo, v. 28, n. 256, p.30-1, 1971.

RIGITANO, O.; OJIMA, M.; CAMPO DALL'ORTO, F. A. **Comportamento de novas seleções de pêssegos introduzidas da Flórida**. Campinas SP: Instituto Agrônomo, 1975. 12 p. (Circular, 46).

ROJAS ,G.; MÉNDEZ, M. A.; MUÑOZ, C.; LEMUS, G.; HINRICHSEN, P. Identification of a minimal microsatellite marker panel for the fingerprinting of peach and nectarine cultivars. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 5, 2008. Special Issue.

SACHS, S.; CAMPOS, A. D. O pessegueiro. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. do C. B. (Eds.). **A Cultura do pessegueiro**. Pelotas, SP: EMBRAPA/CPACT, 1998. p. 13-9.

SACHS, S. A fruticultura de clima temperado no extremo sul do Brasil: um balanço dos resultados obtidos pela pesquisa nos últimos vinte anos. In: SIMPOSIO DE DESENVOLVIMENTO INTEGRADO DO EXTREMO SUL, 1., 1973, Pelotas. **Anais...** Pelotas, SP: Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, 1973. 7 p.

SACHS, S.; NAKASU, B. H.; BASSOLS, M. do C. M. Pêssego-cultivar Baronesa. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Pêssego – cultivares para mesa**. Pelotas, RS: EMBRAPA/IPEAS, 1974. p. 8-9.

SACHS, S.; NUNES, E. C.; NAKASU, B. H. Pêssego para conserva – Cultivar Capteboscq. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Pêssego, cultivares para conserva**. Pelotas, SP: EMBRAPA/IPEAS, 1974. p. 8-10. (Boletim Técnico, 93).

SACHS, S.; BASSOLS, M. do C. M.; NAKASU, B. H. Pêssego para conserva – Cultivar Cerrito. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA E AGROPECUÁRIA. **Pêssego, cultivares para conserva.** Pelotas, SP: EMBRAPA/IPEAS, 1974. p. 15-6 (Boletim Técnico, 93).

SACHS, S.; NAKASU, B. H.; NUNES, E. C. Pêssego, cultivar Cardeal. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Pêssego, cultivares para mesa.** Pelotas, RS: EMBRAPA/IPEAS, 1974. p. 16-7 (Boletim Técnico, 92).

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 4, p. 477-91, 1987.

SANSAVINI, S. Biotecnologie frutticole: le nuove frontiere delle ricerche per il miglioramento genetico e la propagazione delle piante da frutto. **Frutticoltura**, Bologna, n. 5, p. 75-81, 1998.

SÃO PAULO – Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Cultivares lançadas pelo IAC no período de 1968 – 1979. **O Agrônomo**, Campinas, v. 32, p. 39-168, 1980.

SATO, G. S. Produção de pêssegos de mesa e para indústria no Brasil. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 61-3, 2001.

SCHUCK, M. R.; MOREIRA, F. M.; GUERRA, M. P.; VOLTOLINI, J. A.; GRANDO, M. S.; SILVA, A. L. da. Molecular characterization of grapevine from Santa Catarina, Brazil, using microsatellite markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 487-95, 2009.

SCORZA, R.; MEHLENBACHER, S. A.; LIGHTNER, G. W. Inbreeding and coancestry of freestone peach cultivars of the eastern United States and implications for peach germplasm improvement. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 110, p. 547-52, 1985.

SHERMAN, W. B.; RODRIGUEZ, C. P.; LYRENE, P. M.; SHARPE, R. H. Low-chill peach and nectarine breeding at the University of Florida. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, v. 109, p. 222-3, 1996.

SHIRAN, B.; AMIRBAKHTIAR, N.; KIANI, S.; MOHAMMADI, S. H.; SAYED-TABATABAEI, B. E.; MORADI, H. Molecular characterization and genetic relationship among almond cultivars assessed by RAPD and SSR markers. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 280-92, 2007.

SILVEIRA, C. A. P. **Avaliação do efeito das horas de frio, épocas de aplicação e concentrações de cianamida hidrogenada e óleo mineral na brotação e frutificação efetiva de pessegueiro em condições de inverno subtropical**. 2003. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2003.

SOSINSKI, B.; GANNAVAPU, M.; HAGER, L. D.; BECK, L. E.; KING, G. J.; RYDER, C. D.; RAJAPAKSE, S.; BAIRD, W. V.; BALLARD, R. E.; ABBOT, A. G. Characterization of microsatellite in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p.1034-41, 2000.

TAURAZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Res.**, v. 17, p. 6463-71, 1989.

TESTOLIN, R.; MARRAZZO, T.; CIPRIANI, G. Microsatellite DNA in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. **Genome**, v. 43, p. 512-20, 2000.

TESTOLIN, R.; MESSINA, R.; LAIN, O.; MARRAZZO, M. T.; HUANG, W. -G.; CIPRIANI, G. Microsatellites isolated in almond from an AC-repeated enriched library. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 459-61, september 2004.

UEMATSU, C.; SASAKUMA, T.; OGIHARA, Y. Phylogenetic relationships in the stone fruit group of *Prunus* as revealed by restriction fragment analysis of chloroplast DNA. **Japanese Journal of Genetics**, v. 66, p.59-69, 1991.

VAUGHAN, S. P.; RUSSELL, K. Characterization of novel microsatellites and development of multiplex PCR for large-scale population studies in wild cherry; *Prunus avium*. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 429-31, september 2004.

VINATZER, B.; PANCALDI, M.; SANSAVINI, S. Potenzialità e limiti Del “fingerprinting” nell’identificazione varietale del pesco. **Frutticoltura**, Bologna, n. 4, p.97-101, 1999.

WANG, Y.; GEORGI, L. L.; ZHEBENTYAYEVA, T. N.; REIGHARD, G. L.; SCORZA, R.; ABBOTT, A. G. High throughput targeted SSR marker development in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. **Genome**, v. 45, p. 319-28, 2002.

WARBURTON, M. L.; BLISS, F. A. Genetic diversity in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and compared to inbreeding coefficients. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, p.1012-19, 1996.

WEBER, J. L. Informativeness of human (dC-dA)*n*. (dG-dT)*n* polymorphisms. **Genomics**, v. 7, p. 524-30, 1990.

WÜNSCH, A.; HORMAZA, J. I. Molecular characterization of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) SSR sequences. **Heredity**, v. 89, n. 1, p. 56-63, july 2002.

WÜNSCH, A.; CARRERA, M.; HORMAZA, J. I. Molecular characterization of local Spanish peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] germplasm. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 53, p. 925-32, 2006

ZHEN, Y.; LI, Z.; HUANG, H. Molecular characterization of kiwifruit (*Actinidia*) cultivars and selections using SSR markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 129, p. 374-82, 2004.