

Marcadores moleculares polimórficos entre algodoeiros mocós e herbáceos¹

Molecular polymorphic markers between moco and herbaceous cotton

Milena Ferreira Alves², Fábio Rodrigo Araújo Pereira³, Andrezza Miná de Andrade⁴, Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes⁵, Lúcia Vieira Hoffmann^{6*} e Paulo Augusto Vianna Barros⁷

Resumo - Programas de melhoramento genético de algodão vêm sendo utilizados para desenvolver cultivares do gênero *Gossypieae* que atendam aos produtores e à indústria têxtil. Este trabalho visou avaliar marcadores moleculares, analisando uma população F2 segregante do cruzamento entre o algodoeiro herbáceo Codetec 401 e o algodoeiro mocó CNPA 6M. Sementes de 93 indivíduos F2 foram plantadas e seu DNA foi extraído. Para a amplificação dos fragmentos de DNA foram utilizados 62 pares de *primers* microssatélites (SSR) e RAPD que foram, posteriormente e respectivamente, separados por eletroforese em gel de poliacrilamida e agarose. Vinte e seis marcadores microssatélites (42%) foram polimórficos. Um total de 325 marcadores RAPD foram obtidos, com uma média de 9,8 marcadores por *primer*. Foram polimórficos 101 (31%) marcadores RAPD. O cruzamento entre algodoeiros mocó e herbáceo possui uma quantidade razoável de marcadores segregantes, portanto pode ser usado para mapeamento molecular. Além disso, por sua relativa proximidade ao algodoeiro herbáceo, pode ser um bom candidato ao uso em programas de premelhoramento, e os marcadores então usados em seleção genômica.

Palavras-chave - Algodão. Microssatélites. Melhoramento genético.

Abstract - Cotton breeding programs continuously develop varieties to supply producers and textile industry. The aim of this work was to evaluate molecular markers analyzing a population derived from an intercross between the upland cotton variety Codetec 401 and the moco variety CNPA 6M. Seeds from 93 F2 individuals were planted and DNA was extracted, then amplified by 62 microsatellite primer pairs and 33 RAPD primers. Amplified fragments were separated by vertical acrylamide or horizontal agarose gels, stained by silver nitrate or ethidium bromide, respectively, for microsatellite and RAPD. Twenty six microsatellite markers (42%) were polymorphic. A total of 325 RAPD markers were obtained, with a medium number of 9,8 markers per primer. The polymorphic RAPD markers totalized 101 (31%). Intercrosses among moco and upland cotton have a reliable quantity of segregating markers; hence can be used in molecular mapping efforts. Furthermore, for its genetic proximity to upland cotton, moco cotton can be an option to be used on cotton pre-breeding programs, and the markers can be used for genomic selection.

Key Words - Cotton. Microsatellite. Genetic breeding.

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 31/10/2008; aprovado em 25/05/2009

Pesquisa financiada pelo Fundo de Apoio à Cultura do Algodão (FACUAL)

²Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular/UFRN, Natal-RN, Brasil, milenafalves@yahoo.com.br

³Programa de Pós-graduação UFLA, Lavras-MG, Brasil, fabiorodrigopereira@hotmail.com

⁴Centro de Biotecnologia da Amazônia, Manaus-AM, Brasil andrezzaamina@yahoo.com.br

⁵Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular/UESC, Vitória-SC, Brasil, ivppmbio@yahoo.com.br

⁶Embrapa Algodão/CNPA, R. Osvaldo Cruz 1143, Caixa Postal 174, Campina Grande, PB, Brasil, hoff@cnpa.embrapa.br

⁷Embrapa Algodão/CNPA, Campina Grande, PB, Brasil, pavbarroso@cnpa.embrapa.br

Introdução

O algodão (*Gossypium*) é uma espécie de alto valor sócio-econômico, sendo produzido em aproximadamente 150 países e apresentando consumo mundial de cerca de 25 milhões de toneladas de pluma de algodão por ano (BELTRÃO, 2008; ZHANG, 2008). Os principais produtores da cultura do algodão são a China, os Estados Unidos, a Índia, o Paquistão, o Uzbequistão, a Turquia e o Brasil (RICHETTI; MELO-FILHO, 2001; SANTOS et al., 2008), sendo os quatro primeiros países produtores de cerca de 2/3 do algodão do mundo (ZHANG, 2008). Atualmente estão identificadas cinquenta espécies de algodão distribuídas nos continentes: Ásia, África, Austrália e América (BRUBAKER et al., 1999). Dentre estas espécies, apenas quatro são exploradas economicamente: *G. herbaceum*, *G. arboreum*, *G. barbadense* e *G. hirsutum*, sendo que a última contribui com cerca de 90% da produção mundial de algodão (ZHANG, 2008).

Por este alto valor sócio-econômico, diversidade genética e variabilidade destas espécies, as mesmas vêm sendo amplamente estudadas, tornando-as bastante conhecidas geneticamente (LIU et al., 2000a, 2000b.). A diversidade genética do *Gossypium* tem sido caracterizada com o uso de isoenzimas (WENDEL et al., 1992) e com um grande número de marcadores moleculares tais como AFLPs (ABDALLA et al., 2001; IQBAL et al., 2001; PILLAY; MYERS, 1999), RAPD (KHAN et al., 2000), RFLPs (BRUBAKER; WENDEL, 1994) e, com destaque nos últimos anos, marcadores microssatélites ou simplesmente SSR (GUPTA; VARSHNEY, 2000). Entretanto, apesar do avanço tecnológico contemporâneo, algumas barreiras persistem no que diz respeito aos progressos genéticos dentro de programas de melhoramento, pois a domesticação das diferentes espécies de interesse agrônomo demonstra a tendência de selecionar genótipos com caracteres agrônomo superiores, fato que torna esta variabilidade progressivamente reduzida. Bertini et al. (2006), estudando a diversidade genética do algodoeiro cultivado em várias regiões do Brasil, mostraram que estas cultivares apresentam limitada diversidade genética, pois muitas variedades de algodão *G. hirsutum* var. *latifolium* têm sido desenvolvidas a partir de cruzamentos com ancestrais próximos, obtendo apenas um limitado aumento na produtividade.

Pesquisas, no sentido de reduzir a vulnerabilidade genética de cultivares, têm sido amplamente desenvolvidas com a finalidade de introduzir germoplasma mais diversificado, o que poderia aumentar a variabilidade genética dos bancos de germoplasma do algodoeiro. Nesse sentido *G. hirsutum* var. *marie galante*, poderia representar uma valiosa fonte de variabilidade, pois além de pertencer a mesma espécie do principal algodoeiro cultivado atualmente (*G. hirsutum* var. *latifolium*), é adaptada a

condições climáticas do semi-árido nordestino, uma região extremamente seca. Variedades desta espécie foram desenvolvidas pela Embrapa (Cedro, BRS, Buriti, etc). Assim características de interesse presentes nesta variedade podem ser introgridas em materiais adaptados de elevado potencial produtivo. Desse modo, o premelhoramento é a alternativa mais promissora para interligar os recursos genéticos e os programas de melhoramento das espécies. Neste sentido, espera-se que os materiais resultantes do premelhoramento possam ser incluídos nos programas de melhoramento (NASS; PATERNIANI, 2000).

O objetivo deste trabalho foi avaliar marcadores moleculares que possam ser utilizados em mapeamento molecular, bem como desenvolver ações de premelhoramento, analisando uma população F2 segregante do cruzamento entre as variedades Codetec 401 (*G. hirsutum* var. *latifolium*) e CNPA 6M (*G. hirsutum* var. *marie galante*), para posterior inclusão de características de importância econômica presentes na variedade de algodoeiro mocó, em programas de melhoramento genético da variedade de algodão mais cultivada mundialmente, *G. hirsutum* var. *latifolium*.

Material e métodos

As variedades CNPA 6M, algodoeiro mocó (*G. hirsutum* var. *marie galante*), e Codetec 401, variedade de algodoeiro herbáceo (*G. hirsutum* var. *hirsutum*), foram cruzadas. Para isto, foram identificadas e emasculadas, em cada tarde, flores cuja maturação se daria na noite subsequente e feita a polinização no dia seguinte pela manhã.

No período devido, as sementes F1 foram colhidas e plantadas em casa de vegetação, em Piracicaba (SP). Após o desenvolvimento das plantas, seu DNA foi extraído e analisado por marcadores microssatélites para comprovar a validade do cruzamento. Por autofecundação destas plantas, foram geradas as sementes da geração F2. Desta foram selecionadas 120 sementes que foram plantadas duas a duas em baldes com capacidade de 10 L, em casa de vegetação. Além destas, 16 ensaios da geração F1 e 10 da geração parental, seis Codetec 401 e quatro CNPA 6M também foram plantadas.

O DNA dos diferentes genótipos utilizados foi extraído a partir de amostras de folhas jovens, conforme descrito por Menezes et al. (2008). A quantificação do DNA foi realizada por eletroforese em gel de agarose 0,8%, por comparação da intensidade de fluorescência de amostras de concentrações conhecidas do fago *lambda*; coradas com brometo de etídio (EtBr) e visualizada em transluminador sob luz ultravioleta. A quantificação foi conferida também utilizando-se espectrofotometria, de acordo com Lopes et al. (2002).

A análise por marcadores microssatélites foi realizada com 93 indivíduos F2, além de um indivíduo F1 e de seus genitores, CNPA 6M e Coodetec 401; sendo utilizados 62 pares de *primers* desenvolvidos e otimizados para algodão por Liu et al. (2000a, 2000b) e por Nguyen et al. (2004). As reações com *primers* desenvolvidos por Liu et al. (2000a, 2000b) foram realizadas para um volume total de 20 μ L, contendo: 25 ng de DNA genômico, 0,15 μ M de cada *primer*, 0,2 mM de dNTP, 50 mM de KCl, 10 mM de Tris-HCl pH 8,3, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 2,5 a 3,5 mM de $MgCl_2$, conforme descrito, para cada um dos pares de *primers* utilizados. As condições físicas durante a PCR foram constituídas por uma desnaturação inicial de 95 °C por 12 minutos e seguiram-se 47 ciclos de desnaturação - anelamento - extensão. Nos primeiros 11 ciclos de amplificação, a desnaturação foi feita a 94 °C por 15 segundos; a temperatura de anelamento, no primeiro ciclo de 65 °C por 30 segundos, diminuindo um grau a cada ciclo (*touch down*), chegando a 55 °C no décimo primeiro ciclo; a extensão foi de 72 °C por 1 minuto. Os outros trinta e seis ciclos foram de 94 °C por 15 segundos; 55 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto. Seguiu-se extensão final a 72 °C por 6 minutos. Os *primers* desenvolvidos por Nguyen et al. (2004) foram utilizados em reações com volume total de 20 μ L, contendo 20 ng de DNA genômico, 0,15 μ M de cada *primer*, 0,2 mM de dNTP, 50 mM de KCl, 10 mM de Tris-HCl pH 8,3, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 2 mM de $MgCl_2$. As condições físicas durante a PCR foram constituídas por uma desnaturação inicial de 94 °C por 5 minutos, a partir do qual se seguiram 35 ciclos. A desnaturação em cada ciclo foi realizada a uma temperatura de 94 °C por 30 segundos e quatro diferentes temperaturas de anelamento foram utilizadas de acordo com a especificidade de cada *primer* (55 °C, 51 °C, 50 °C e 46 °C), por 1 minuto, seguido da extensão de 72 °C por 1 minuto. A extensão final ocorreu a 72 °C por 8 minutos. Os produtos de amplificação foram corados com nitrato de prata conforme metodologia descrita por Creste et al. (2001).

Para a amplificação dos marcadores de RAPD utilizaram-se 33 iniciadores de 10 bases dos conjuntos Operon A (2; 4; 13), C (10; 18), E (2; 16; 18; 19; 20), M (5; 7; 11), N (1; 2; 4; 5; 9; 10; 11; 12; 15; 18; 20), P (3) e Z (1; 11; 12; 14; 15; 18; 19; 29). As PCRs foram realizadas em Campina Grande, Paraíba, com desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, seguida de 45 ciclos compostos por: desnaturação a 94 °C por 1 minuto, anelamento do iniciador a 35 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 2 minutos. Ao final dos 45 ciclos, uma extensão final a 72 °C por 5 minutos foi realizada. Os fragmentos obtidos foram analisados em géis de agarose, corados com brometo de etídio.

Testes χ^2 (qui-quadrado) foram utilizados para conferir a segregação na proporção 1:2:1 ($p > 0,05$) da população F2.

Resultados e discussão

As plantas F1 geradas a partir do cruzamento entre o algodoeiro herbáceo Coodetec 401 e o mocó CNPA 6M apresentaram alelos de ambos os pais, comprovando a validade do cruzamento. As sementes resultantes da autofecundação desses indivíduos geraram 93 indivíduos F2.

Foram identificados 26 locos microssatélites que apresentaram padrão polimórfico, entre os 62 analisados. Na Figura 1 observa-se o padrão polimórfico do *primer* BNL 2544. Dentre os marcadores polimórficos, apenas 10 segregaram na proporção mendeliana 1:2:1, como apresentado na Tabela 1. A localização nos cromossomos, apresentada na Tabela 1, está conforme descrito por Liu et al. (2000a, 2000b) e Nguyen et al. (2004), disponível no banco de dados do algodão < <http://www.cottonmarker.org> >.

Foram testados 33 *primers* RAPD, que estão representados, juntamente com o número de bandas fornecidas por cada *primer* e presença ou não de polimorfismo, na Tabela 2 (página seguinte). Todos os *primers* RAPD apresentaram pelo menos uma banda polimórfica. No total foram analisadas 325 bandas, uma média de 9,8 bandas por *primer*, e dentre elas, 101 foram polimórficas. Entretanto, apenas 52 destes marcadores segregaram na proporção 3:1.

A porcentagem de polimorfismo entre algodoeiros mocós e herbáceos foi calculada em 31,07% pelos marcadores RAPDs. Foram identificados 26 marcadores microssatélites polimórficos, localizados em 20 diferentes

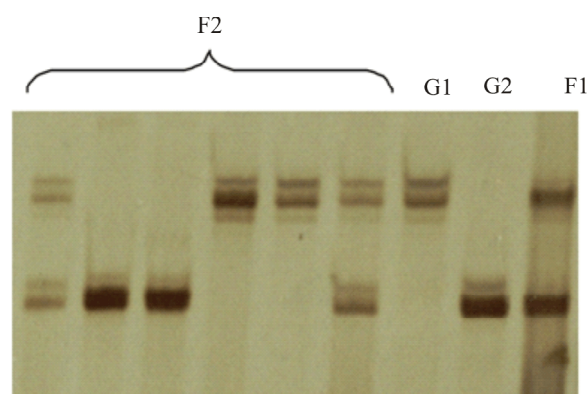


Figura 1 - Representação de alguns indivíduos analisados pelo *primer* BNL 2544, mostrando padrão polimórfico. O G1 – Genitor CNPA 6M e o G2 – Genitor Coodetec 401 apresentam diferentes padrões de bandas. O cruzamento é confirmado pela presença dos dois alelos no indivíduo que representa a geração F1, além dos indivíduos representativos da geração F2 apresentarem diferentes padrões de alelos

Tabela 1 - Número de indivíduos da população F2 de acordo com os alelos herdados para cada loco (homozigotos para o alelo herdado do parental 6M, heterozigotos ou homozigotos para o alelo herdado do parental Coodetec), teste qui quadrado testando o ajuste da segregação observada para a esperada para o marcador codominante e localização cromossômica para cada loco

Primers SSR	Alelo 6M	Heterozigoto	Alelo Coodetec	TESTE QUI	Localização Cromossômica
BNL 1434	29	49	15	0,10625	C2
BNL 3816	23	50	18	0,48393	C12 e C26
BNL 3359	24	56	13	0,03908*	C6 e C25
BNL 3599	53	18	8	0,00000*	C12 e C26
BNL 3995	18	47	23	0,55058	C5
BNL 3563	15	28	34	0,00048*	C10
BNL 3902	22	46	23	0,96306	C15
BNL 3482	25	37	16	0,11455	C26 e C20
BNL 786	25	57	7	0,00097*	C15
BNL 1665	23	47	18	0,55058	C10
BNL 2544	23	43	26	0,74401	C18
BNL 169	26	45	22	0,80217	C20
BNL 1597	20	53	17	0,21838	C7
BNL 2590	19	48	25	0,61972	C9
BNL 3646	28	46	18	0,33938	C20
BNL 3084	16	34	43	0,00001*	D03 e A02
BNL 1672	8	62	17	0,00022*	C9 e C23
BNL 3649	27	41	23	0,53311	A03
BNL 1059	29	45	18	0,26502	C14 e C23
BNL 1064	14	24	54	0,00000*	C6
BNL 256	24	32	34	0,00858*	C10
BNL 2496	12	59	21	0,01099*	C17
BNL 2572	36	31	23	0,00229*	C4
CIR 097	28	43	20	0,42995	C14
CIR 081	27	42	22	0,57478	C12
CIR 381	27	44	22	0,66816	C2 e C14

(*) Marcadores que segregaram na proporção esperada

cromossomos. Destes marcadores, 57,69% segregaram na proporção mendeliana (1:2:1).

Vários mapas genéticos foram construídos para o algodoeiro utilizando RFLP (REINISH et al., 1994; ULLOA; MEREDITH, 2000), AFLP e SSR (NGUYEN et al., 2004). Entretanto a grande maioria dos trabalhos de mapeamento utiliza cruzamentos entre o algodoeiro herbáceo e *G. barbadense*, algodoeiro cultivado, também tetraplóide. O cruzamento entre espécies distintas visa maximizar a distância genética, de maneira a poder encontrar um número suficiente de locos contrastantes para saturação do genoma do

algodão, de aproximadamente 5941 cM em 26 grupos de ligação (NGUYEN et al., 2004; RONG et al., 2004), que seria de cerca de 200 marcadores, no mínimo, para uma distância média de 30 cM entre os marcadores. Entretanto, as características que segregam em um cruzamento interespecífico podem ser bastante diferentes daquelas segregantes em populações de melhoramento, gerando necessidades de ajustes para sua aplicação. O presente trabalho permitiu a identificação de marcadores polimórficos que podem auxiliar na construção de mapas genéticos entre as cultivares e a variedade marie galante, mais próximo geneticamente do algodoeiro herbáceo.

Tabela 2 - *Primers* RAPD avaliados na geração F2, gerado do cruzamento entre Coodetec 401 e CNPA 6M. Estão representados os números de bandas obtidas por *primer*, o número total de bandas polimórficas, e número de marcadores que segregaram na proporção 3:1

Primer	N° de bandas	Bandas		Primer	N° de Bandas	Bandas	
		Bandas polimórficas	polimórficas 3:1			Bandas polimórficas	polimórficas 3:1
N1	5	3	1	Z1	9	2	1
N2	11	1	1	Z11	13	3	1
N4	10	2	1	Z12	11	2	0
N5	15	7	2	Z14	9	1	1
N9	9	5	3	Z15	11	2	2
N10	7	3	1	Z18	10	4	4
N11	8	3	3	Z19	14	2	1
N12	4	4	1	Z20	9	2	1
N15	7	3	2	E2	13	4	4
N18	9	3	1	E16	14	5	1
N20	8	3	3	E18	9	2	0
A2	9	5	2	E19	11	1	1
A4	13	4	2	E20	12	3	1
A13	9	3	2	P3	7	3	2
M5	9	1	0	C10	9	3	1
M7	8	4	3	C18	10	4	0
M11	13	4	3				

Além de o algodoeiro mocó pertencer a espécie *G. hirsutum*, presume-se que sua domesticação tenha sido a mesma que deu origem ao algodoeiro herbáceo, que deve ter ocorrido entre cerca de 5000 a 3000 A.C., no sul do México ou Guatemala, ainda que se tenha colocado a hipótese de o mocó ter sido um evento diferente de domesticação, que pode ter ocorrido na Colômbia (STEPHENS, 1973). *G. barbadense* foi domesticado no Peru (STEPHENS, 1973).

Os marcadores contrastantes identificados também podem vir a ser utilizados em populações de pré-melhoramento, visando ampliar a base genética do algodoeiro cultivado, para seleção genômica. Seria importante a introdução de novas características e aumento da diversidade genética do algodoeiro cultivado, e existe diversidade genética, medida por marcadores moleculares, muito maior considerando os vários tetraplóides que dentro de *G. hirsutum* var. latifolium (LACAPE et al., 2007).

Um crescente número de trabalhos vem sendo desenvolvidos com algodão e um grande número de marcadores microssatélite já tem localização

cromossômica (LIU et al., 2000b; REDDY et al., 2001). É possível buscar novos marcadores polimórficos com uma melhor distribuição cromossômica (conforme pode-se observar na Tabela 1, os *primers* apresentaram-se distribuídos pelos diferentes cromossomos), dando assim maior cobertura do genoma. Como o algodoeiro apresenta um genoma relativamente grande, com cerca de 5400 cM em 26 grupos de ligação (NGUYEN et al., 2004), seria necessário, portanto, a complementação de mais marcadores além dos utilizados no presente trabalho para cobertura do genoma.

Conclusão

Os marcadores polimórficos identificados podem ser utilizados para mapeamento molecular ou seleção genômica de populações de cruzamento entre algodoeiros mocós e herbáceos, de distância genética intermediária, com uma quantidade razoável de marcadores segregantes e maior facilidade, em relação a outras espécies que não *G. hirsutum*, de adaptação aos atuais programas de melhoramento.

Agradecimentos

Agradecemos ao FACUAL (Fundo de Apoio à Cultura do Algodão) pelo apoio financeiro às atividades do projeto, e a Givaldo Marques da Rocha, Fábila Suely Lima Pinto e Francisco Alves Neto, funcionários da Embrapa Algodão, pelo apoio técnico.

Referências

- ABDALLA, A. M. et al. Genetic diversity and relationships of diploid and tetraploid cottons revealed using AFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, n. 02-03, p. 222-229, 2001.
- BELTRÃO, N. et al. (org). Algodão brasileiro em relação ao mundo: situação e perspectiva. In: SILVA, Odilon R. R. F. da et al. **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 19-30.
- BERTINI et al. Characterization and diversity analysis of cotton cultivars using microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 02, p. 321-329, 2006.
- BRUBAKER, C. L.; WENDEL, J. F. Reevaluating the origin of domesticated cotton (*Gossypium hirsutum*; Malvaceae) using nuclear restriction fragment length polymorphism (RFLPs). **American Journal of Botany**, v. 81, n. 10, p. 1309-1326, 1994.
- BRUBAKER, C. L.; BOURLAND, F. M.; WENDEL, J. F. The Origin and Domestication of Cotton. In: SMITH, C. W.; COTHREN, J. T. **Cotton: origin, History, Technology, and Production**. New York: John Wiley & Sons, 1999. p. 3-31.
- CRESTE, S.; TULMAN, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, n. 04, p. 299-306, 2001.
- GUPTA, P. K.; VARSHNEY, R. K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. **Euphytica**, v. 113, n. 03, p. 163-185, 2000.
- IQBAL, J. et al. A genetic bottleneck in the 'evolution under domestication' of upland cotton *Gossypium hirsutum* L. examined using DNA fingerprinting. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 103, n. 04, p. 547-554, 2001.
- KHAN, S. A. et al. Molecular phylogeny of *Gossypium* species by DNA fingerprinting. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, n. 5-6, p. 931-938, 2000.
- LACAPE, J. M. et al. Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs. **Molecular Breeding**, v. 19, n. 01, p. 45-58, 2007.
- LIU, S. et al. Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in cotton race stock accessions. **Crop Science**, v. 40, p. 1459-1469, 2000a.
- LIU, S. et al. Chromosomal assignment of microsatellite loci in cotton. **Journal of Heredity**, v. 09, n. 04, p. 326-332, 2000b.
- LOPES, R. et al. Marcadores Moleculares Dominantes (RAPD e AFLP). **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 05, n. 29, p. 56-60, 2002.
- MENEZES, I. P. P. et al. Distância genética entre linhagens avançadas de germoplasma de algodão com uso de marcadores de RAPD e microsatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1339-1347, 2008.
- NASS, L. L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 03, p. 581-587, 2000.
- NGUYEN, T. B. et al. Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 01, p. 167-175, 2004.
- PILLAY, M.; MYERS, G. O. Genetic diversity in cotton assessed by variation in ribosomal RNA genes and AFLP markers. **Crop Science**, v. 39, p. 1881-1886, 1999.
- REDDY, O. U. K. et al. New dinucleotide and trinucleotide microsatellite marker resources for cotton genome research. **Journal of Cotton Science**, v. 05, n. 03, p. 103-113, 2001.
- REINISCH, A. J. et al. A detailed RFLP map of cotton *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense*: chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. **Genetics**, v. 138, n. 03, p. 829-847, 1994.
- RICHETTI, A.; MELO-FILHO, G. A. Aspectos sócio-econômicos do algodoeiro. In: LAZAROTTO, C.; ARANTES, E. M.; LAMAS, F. M. **Algodão Tecnologia de Produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. p. 13-35.
- RONG J. et al. A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals features of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*). **Genetics** v. 166, p. 389-417, 2004.
- SANTOS, R. F.; KOURI, J.; SANTOS, J. W. Crise e recuperação no mercado brasileiro da matéria-prima agrícola. In: SILVA, Odilon R. R. F. da et al. **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 31-60.
- STEPHENS, S. G. Geographical distribution of cultivated cottons relative to probable centers of domestication in the new world. In: SRB, A. M. (Ed.) **Genes, Enzymes and Populations**. New York: Plenum Press, 1973. p. 239-254.
- ULLOA, M.; MEREDITH JR., W. R. Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intra-specific population. **Journal of Cotton Science**, v. 04, n. 03, p. 161-170, 2000.
- WENDEL, J. F.; BRUBAKER, C. L.; PERCIVAL A. E. Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of Upland cotton. **American Journal of Botany**, v. 79, n. 11, p. 1291-1310, 1992.
- ZHANG, H. B. Recent Advances in Cotton Genomics. **International Journal of Plant Genomics**, v. 2008, p. 1-20, 2008.