

AGROBIODIVERSIDADE DE *Cucurbita* spp. NA REGIÃO NORTE DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

MARILENE HILMA DOS SANTOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2009

AGROBIODIVERSIDADE DE *Cucurbita* spp. NA REGIÃO NORTE DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

MARILENE HILMA DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Genética e Melhoramento de
Plantas

Orientadora: Prof^a. Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2009

AGROBIODIVERSIDADE DE *Cucurbita* spp. NA REGIÃO NORTE DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

MARILENE HILMA DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Genética e Melhoramento de
Plantas

Aprovada em 16 de fevereiro de 2009.

Comissão examinadora:

Prof. Manoel Abílio de Queiróz (D.Sc. - Genética e Melhoramento de Plantas) -
UNEB

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D.- Genética e Melhoramento de Plantas) -
UENF

Prof. Antonio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc. - Genética e Melhoramento) -
UENF

Prof^a. Rosana Rodrigues (D.Sc. - Produção Vegetal/Melhoramento de Plantas) -
UENF
Orientadora

Aos meus pais, Maria das Graças e Elias; aos meus irmãos Graciette, Gracilene e Eleilson; ao meu sobrinho Guilherme; ao meu cunhado Nelson e ao meu amado Marcony.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas inúmeras bênçãos derramadas em minha vida e a Virgem Maria pela sua poderosa intercessão;

À minha mãe Maria das Graças que mesmo diante de tantas dificuldades ensinou-me a viver dignamente, a lutar pelos meus objetivos e a não desistir;

Ao meu pai Elias, aos meus irmãos Graciete, Gracilene e Eleilson, ao meu cunhado Nelson e ao meu sobrinho Guilherme que mesmo distante reanimaram-me em todos os momentos;

Ao meu amado Marcony por fazer parte da minha vida, por todo carinho, paciência, amor e confiança;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela oportunidade de cursar o mestrado;

A FAPERJ pela concessão da bolsa e o apoio à pesquisa desenvolvida;

À Professora Rosana Rodrigues pela orientação, confiança e amizade;

Aos professores Messias Gonzaga Pereira e Telma Nair Santana Pereira pelas valiosas sugestões;

Ao Prof. Manoel Abílio de Queiroz e ao Prof. Antonio Teixeira do Amaral Júnior por terem contribuído significativamente para o aperfeiçoamento do trabalho;

Aos professores das disciplinas cursadas pelo conhecimento construído;

À EMATER pelo auxílio nas atividades de coleta;

Ao Agrônomo José Roberto Pereira da Silva pela participação nas atividades de coleta nas propriedades rurais e por todo conhecimento transmitido;

Aos pequenos produtores visitados do município de Campos do Goytacazes e de São João da Barra pela doação dos frutos de abóbora e pela disponibilidade em fornecer as informações necessárias a essa pesquisa;

Ao Carlos Alberto Martins Cordeiro pela ajuda com as coletas nos mercados locais;

À Pesquisadora Rosa Lia Barbieri pela ajuda na identificação das espécies de alguns acessos coletados;

As amigas da República Maria Bonita, Graziela e Francinaide, pela amizade e pelos momentos inesquecíveis vividos e aos conterrâneos Luciana, Charles, Caio, Marcos e Roberta;

Aos grandes e maravilhosos amigos do LMGV-110 Cláudia, Cíntia, Monique, Sarah, Gil, Kenea, Rebeca, Leandro, Cicero e Cláudio por terem me acolhido carinhosamente. Ao Leandro em especial pela ajuda com os programas estatísticos;

Aos amigos do Laboratório de marcadores Moleculares: Vitória, Fernanda, Ana Paula, Helaine, Elba e Chico pelo apoio durante as análises;

Ao Jader e à equipe da UAP pela ajuda durante a montagem do experimento.

A todos os amigos que fiz durante o curso de pós-graduação;

À Dr. Rita de Cássia e Dr. Daniel Terao que me incentivaram a continuar minha formação acadêmica e pelos inúmeros conselhos;

Aos amigos da Canção Nova, missionários, em especial Elizângela e Patrícia, e a todos do grupo Jovem PHN, inspiração de Deus em minha vida;

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho.

Obrigada!

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	4
2.1 O gênero <i>Cucurbita</i> : sua origem e domesticação	4
2.2 Aspectos botânicos	5
2.3 Aspectos socioeconômicos e nutricionais	7
2.4 O conceito da agrobiodiversidade	8
2.5 Erosão genética, coleta e conservação de <i>Cucurbita</i> spp	9
2.6 Caracterização e avaliação de germoplasma	12
2.7 Marcadores moleculares no estudo da diversidade genética	14
2.8 Quantificação da diversidade genética	17
3. Material e métodos	20
3.1 Coleta dos acessos	20
3.2 Caracterização dos frutos coletados	24
3.3 Análise molecular	25
3.3.1 Marcadores RAPD	27
3.3.2 Marcadores ISSR	28
3.4 Análise estatística	28
3.4.1 Caracterização morfoagronômica	28
3.4.2 Análise dos fragmentos amplificados	29
3.4.3 Divergência genética	29
4. Resultados e Discussão	31

4.1 Coleta em propriedades rurais	31
4.1.1 Primeira Coleta	34
4.1.2 Segunda coleta	40
4.1.3 Terceira coleta	42
4.1.4 Quarta coleta	44
4.1.5 Quinta coleta	45
4.1.6. Sexta coleta	45
4.2 Coleta nos mercados locais	47
4.3 Caracterização morfoagronômica	54
4.3.1 Descritores qualitativos	54
4.3.2 Descritores quantitativos	56
4.4 Análise molecular	61
4.4.1 Marcador molecular RAPD	61
4.4.1.1 Produtos da amplificação	61
4.4.1.2 Diversidade Genética com base nos marcadores RAPD	63
4.4.2 Marcador molecular ISSR	66
4.4.2.1 Produtos da amplificação	66
4.4.2.2 Diversidade genética com base nos marcadores ISSR .	68
4.4.3 Comparação entre os marcadores RAPD e ISSR	72
5. Resumo e conclusões	77
6. Referências bibliográficas	79
Anexos	92

RESUMO

SANTOS, Marilene Hilma dos; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro, 2009. Agrobiodiversidade de *Cucurbita* spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro. Orientadora: Prof^a. Rosana Rodrigues. Conselheiros: Prof^a. Telma Nair Santana Pereira, Prof. Messias Gonzaga Pereira.

As abóboras são de origem americana e faziam parte da base alimentar dos povos indígenas no Brasil antes da colonização. Possuem alta variabilidade para diferentes tipos de formato, tamanho e cor de fruto. Entretanto, essa variabilidade vem sendo perdida por um forte processo de erosão genética provocado, a exemplo, pela introdução de variedades comerciais. Os objetivos deste trabalho foram: coletar frutos e sementes de *Cucurbita* spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro em propriedades rurais e mercados locais; levantar informações quanto à origem dos frutos comercializados nos mercados e quanto ao perfil do produtor nas propriedades rurais; caracterizar os acessos coletados com base em descritores morfoagronômicos e moleculares do tipo RAPD e ISSR e quantificar a divergência genética entre os acessos coletados. A análise dos dados coletados foi efetuada com o uso de diferentes técnicas de estatística multivariada. Para os dados quantitativos, a Distância Euclidiana Média foi utilizada na geração da matriz de dissimilaridade e o método *Unweighted Paired Group Method using Arithmetic averages* – UPGMA para obtenção dos agrupamentos; os dados qualitativos foram analisados com o uso da distância de Cole-Rodgers e o agrupamento foi feito com o método UPGMA. O complemento aritmético de

Jaccard foi aplicado para gerar a matriz de distância dos dados dos marcadores moleculares e o método UPGMA para a formação dos grupos. Nas propriedades rurais foram coletados 14 acessos. Alguns agricultores familiares das localidades visitadas ainda conservam sementes de variedades tradicionais, porém, risco de substituição do gênero *Cucurbita* foi detectado. Coletaram-se 33 frutos de abóbora nos mercados locais. Destes, 45,4% eram procedentes do estado do Rio de Janeiro, com o município de São João da Barra sendo o principal pólo produtor e fornecedor dessa hortaliça para o mercado de Campos dos Goytacazes, uma vez que, 93,70% dos frutos provenientes do estado do Rio de Janeiro eram oriundos desse município. Foram coletados no total 46 acessos: um de *C. pepo*, três de *C. maxima*, 42 de *C. moschata* e um de *Lagenaria siceraria*. Os estudos de diversidade com a utilização de descritores morfoagronômicos indicaram que existia maior variabilidade entre os materiais coletados nas propriedades rurais. As diferentes espécies puderam ser discriminadas por meio de fragmentos específicos gerados por iniciadores do tipo RAPD e ISSR. O marcador RAPD foi mais eficiente em detectar variabilidade, pois permitiu a identificação de distância genética para todos os acessos testados. Já com o uso dos marcadores ISSR houve detecção de distância genética nula entre três pares de acessos.

ABSTRACT

SANTOS, Marilene Hilma dos; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February, 2009; Agrobiodiversity of *Cucurbita* spp. in the north region of Rio de Janeiro state. Adviser: Rosana Rodrigues. Committee members: Telma Nair Santana Pereira and Messias Gonzaga Pereira.

The center of origin of pumpkins is the American continent. This vegetable crop was the food base of Brazilian indigenous people before the colonization. Pumpkins show high variability in format, size and fruit color, although this variability has been decreased due to the intense genetic erosion mainly caused by the introduction of commercial varieties. The objectives of this work were to collect fruits and seeds of *Cucurbita* spp. in the north region of Rio de Janeiro state, including farms and local markets, to generate information about the origin of these fruits that are commercialized and the producer profiles in the farms, to characterize the accessions based on morph-agronomic descriptors and molecular markers (RAPD and ISSR), and to quantify the genetic divergence among these accessions. The data were analyzed using different multivariate statistics. The Euclidean distance was used to generate the dissimilarity matrix of the quantitative data while the qualitative data were analyzed using the Cole-Rodgers distance. Both dendrograms were obtained using UPGMA (*Unweighted Paired Group Method using Arithmetic averages*) method. The data matrices from molecular markers were calculated using Jaccard's arithmetic complement index and the

dendrograms were obtained using the UPGMA method. Fourteen accessions were collected in farms. Some family farmers still preserve seeds of traditional varieties, although some risk of substitution has been detected in the *Cucurbita* genus. Thirty three pumpkin fruits were collected in local markets and 45.4% of them came from Rio de Janeiro state. From this total, 93.7% of these fruits were from São João da Barra, the major production and distribution pole of this vegetable crop to Campos dos Goytacazes. The study of genetic diversity was conducted with one accession of *C. pepo*, three accessions of *C. maxima*, 42 of *C. moschata* and one of *Lagenaria siceraria*, totalizing forty six accessions. The analyses using morph-agronomic descriptors indicated that the variability was higher among materials collected in the farms. The species were distinguished by specific fragments generated by RAPD and ISSR markers. The RAPD marker was more efficient than the ISSR marker to detect genetic variability. It allowed identifying the genetic distance in all accessions, while the ISSR detected null genetic distance between three accession pairs.

1. INTRODUÇÃO

A olericultura é o setor mais dinâmico da agricultura do Rio de Janeiro, sendo uma atividade intensiva que ocupa pequenas áreas, mas que tem alta capacidade de geração de valor agregado. É a atividade que apresenta caráter mais moderno, embora esta modernidade não seja igualmente distribuída pelo estado. A importância dessa atividade pode ser medida pela participação no abastecimento da Ceasa-Rio, que no caso das hortaliças, chega a atingir 70% (Medeiros e Leite, 1999; Casseres et al., 2005).

Entre as hortaliças, as plantas da família Cucurbitaceae compreendem cerca de 118 gêneros e 825 espécies, com uma distribuição predominantemente tropical. Aproximadamente 30 destas espécies são utilizadas com fins econômicos, destacando-se as abóboras, as melancias, os melões e os pepinos (Barbieri et al., 2006), que ocupam uma parcela significativa do agronegócio brasileiro, estimado em R\$ 300 milhões anuais (Ferreira e Diniz, 2007). O cultivo das Cucurbitáceas, além do valor econômico e alimentar, também tem grande importância social, na geração de empregos diretos e indiretos, pois demanda uma grande mão-de-obra desde o cultivo até a comercialização (Lopes, 1991; Cardoso e Silva, 2003).

No Brasil, as abóboras possuem um papel socioeconômico importante, constituindo-se em um alimento básico das populações de diferentes regiões do país, ocupando o 7º lugar em volume de produção entre as hortaliças (Pereira, 1999). Segundo o censo agropecuário de 1996, foram produzidos cerca de

162.442 mil frutos de abóbora, sendo a Região Sudeste responsável por aproximadamente 60% da produção nacional (IBGE, 2007).

Das plantas do gênero *Cucurbita* pode-se consumir como alimento as sementes, os brotos, as flores e a polpa do fruto, todos amplamente utilizados in natura ou industrializados, na elaboração de doces e também em diversos pratos salgados. A abóbora possui alto valor nutritivo, devido aos elevados teores de vitamina A e C, óleo e proteínas, sólidos solúveis e minerais, como o cálcio, o ferro e o fósforo (Esquinas-Alcazar e Gulick, 1983; Caili et al., 2006). As fibras também contêm bioflavonóides, bloqueadores dos receptores de hormônios estimulantes do câncer, e esteróis que são transformados em vitamina D no organismo, estimulando a diferenciação celular (Ferreira, 2007a).

Os agricultores familiares do estado do Rio de Janeiro são os principais responsáveis pela auto-suficiência do estado na produção da maioria das espécies de hortaliças. A competição pela produtividade e qualidade de seus produtos no mercado, induz esses produtores à utilização de materiais genéticos disponíveis no mercado, abandonando assim cultivares tradicionais de grande importância para a agrobiodiversidade e contribuindo para a erosão genética.

Assim como ocorre para outras espécies de importância econômica, somente com a implementação de atividades de coleta, a caracterização e a avaliação desses acessos, será possível a manutenção da variabilidade genética do gênero (*Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* e *Cucurbita pepo*) e a disponibilização dessa variabilidade para programas de melhoramento de abóbora. Um diagnóstico realizado sobre a conservação *ex situ* de *Cucurbita* no Brasil, para propor um resgate e conservação, utilizando um questionário enviado para 173 instituições de ensino e pesquisa do país, priorizou locais para coleta de germoplasma. No Sudeste, foram priorizados Rio de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo. Ao priorizar os locais de coleta, deve-se considerar a presença de comunidades tradicionais e pequenos agricultores que costumam cultivar variedades locais de *Cucurbita* (Ferreira et al., 2007c).

Os objetivos deste trabalho foram: a) coletar frutos e sementes de *Cucurbita* spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro em mercados locais e propriedades rurais; b) levantar informações quanto à origem dos frutos comercializados nos mercados e quanto ao perfil do produtor nas propriedades rurais; c) caracterizar os acessos coletados com base em descritores

morfoagronômicos; d) caracterizar os acessos com base em marcadores moleculares do tipo RAPD e ISSR; e) comparar a eficiência dos marcadores quanto à discriminação entre os acessos, e f) quantificar a divergência genética entre os acessos coletados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O gênero *Cucurbita*: sua origem e domesticação

O gênero *Cucurbita*, que inclui as abóboras (*C. moschata*), as morangas (*C. maxima*) e as abobrinhas (*C. pepo*) é nativo das Américas (Whitaker e Robinson, 1986) e fazia parte da alimentação da civilização Olmeca, depois incorporadas pelas civilizações Asteca, Inca e Maia. Registros arqueológicos associam essas espécies ao homem há cerca de 10.000 anos (Ferreira, 2007) e sugerem que as plantas do gênero *Cucurbita* foram uma das primeiras a serem domesticadas. O valor nutritivo e a palatibilidade das sementes foram, provavelmente, a principal atração para os primeiros coletores e, mais tarde, para a domesticação (Nee, 1990).

Estima-se que os homens pré-colombianos, na procura pelas sementes dos frutos de *Cucurbita*, encontraram mutantes de polpa não amarga e, assim, deram início a um longo processo de seleção que, presumivelmente, resultou nas atuais espécies domesticadas (Whitaker e Bemis, 1976). A seleção contínua praticada pelos agricultores no processo de domesticação foi direcionada também para outras características como formato e aumento do tamanho de frutos e redução do número de sementes, entre outras, permitindo a manutenção da variabilidade genética entre e dentro das espécies cultivadas (Bisognin, 2002).

Uma das primeiras espécies a serem domesticadas no Novo Mundo foi a *Cucurbita pepo*. Estudos indicam que, provavelmente, houve no mínimo duas

domesticações independentes em diferentes partes da América. Registros arqueológicos evidenciam o cultivo dessa espécie no Sul do México pelo menos há 10.000 anos; no Nordeste do México e no leste dos EUA há 4.000 anos (Smith, 1997). A moranga (*Cucurbita maxima*) é de origem Sul-Americana, onde foi cultivada na época Pré-Colombiana (Gonzaga et al., 1999). Foi a única espécie cultivada com uma origem restrita ao Sul da América, nas temperaturas amenas do Uruguai e Paraguai (Nee, 1990).

A *Cucurbita moschata* é uma espécie indígena americana com significativa participação na alimentação de muitos países. Possui ampla distribuição no Sudeste do México, América Central, Colômbia e Peru (Whitaker e Carter, 1946; Whitaker e Cutler, 1965). Porém, o Japão é considerado centro secundário de origem devido à diversidade de variação (Kanno, 1990). Entretanto, Beaver (2000) sugeriu que o centro de diversidade e domesticação dessa espécie tenha sido o Nordeste da América do Sul, possivelmente a costa Norte da Colômbia e propôs que, somente após a domesticação, esta espécie foi levada para a América do Sul e do Norte. Contudo, há evidências de sítios arqueológicos que mostram que há 2.000 anos a.C cultivava-se *C. moschata* nas Américas, mais precisamente no Nordeste do México (Harlan, 1975).

No Brasil, a abóbora esteve associada ao milho e à mandioca, constituindo a base alimentar das populações indígenas antes do período colonial e foi, após o descobrimento e colonização, incorporada à dieta dos escravos africanos (Verger, 1987).

2.2 Aspectos botânicos

As abóboras são classificadas na divisão Magnoliopyta, classe Magnoliopsida (Dicotiledôneas), subclasse Dilleniidae, ordem Violales, família Cucurbitaceae pertencentes ao gênero *Cucurbita* (Whitaker e Robinson, 1986). As espécies mais conhecidas do gênero *Cucurbita* são: *Cucurbita moschata*, que engloba as abóboras conhecidas popularmente como “de pescoço”; *Cucurbita pepo*, formada pelas abóboras arredondadas, abobrinha e mogangos, e *Cucurbita maxima*, as morangas (Pereira, 1999).

As espécies mais cultivadas do gênero *Cucurbita* (*C. maxima*, *C. moschata* e *C. pepo*) são monóicas de fecundação predominantemente cruzada,

todas com 20 pares de cromossomos (Whitaker e Robinson, 1986). O alto número de cromossomos indica que o gênero pode ser de origem poliplóide, havendo evidências para origem alotetraplóide (Weeden, 1984). Apesar da indicação de poliploidia, a espécie comporta-se como diplóide, o que também já está registrado em outras espécies aloploplóides (Singh, 1993).

As aboboreiras são plantas anuais nas quais ocorre desenvolvimento simultâneo da parte vegetativa, da floração e da frutificação. Possuem caules herbáceos, rastejantes, providos de gavinhas e de raízes adventícias, nos pontos de contato com o solo, que auxiliam na fixação da planta. O hábito de crescimento é indeterminado e as ramas são alongadas, podendo atingir até 6m de comprimento. Os entrenós são curtos, as folhas são simples, largas, alternadas, de nervura palmeadas (Whitaker e Robinson, 1986), com pecíolos longos, de coloração verde-escura com manchas branca-prateadas na abóbora (*C. moschata*) e nos híbridos interespecíficos; a moranga (*C. maxima*) não apresenta essas manchas (Filgueira, 2000).

As flores são grandes solitárias, axilares, opostas às gavinhas e com cálice estrelado, corola campanulada, gamopétala, a cor variando de amarelo a amarelo-alaranjado. O ovário é ínfero, os estigmas são grandes com cerca de dois cm, com três lóbulos. As flores masculinas possuem pedicelos delgados e surgem primeiro e em maior número que as pistiladas (Whitaker e Robinson, 1986).

O fruto é uma baga indeiscente, com polpa que pode variar de coloração branca, amarela a laranja-escuro possuindo uma média de 100 a 300 sementes (Whitaker e Robinson, 1986). A existência de variação no formato e no tamanho dos frutos também é uma característica do gênero *Cucurbita*. Uma característica importante que é utilizada para distinguir entre as abóboras (*C. moschata*) e as morangas (*C. maxima*) é o ponto de inserção do fruto, já que o pedúnculo é de seção pentagonal, formando cinco lóbulos na abóbora e na moranga a seção é circular (Filgueira, 2000; Heiden et al., 2007). Nas abobrinhas (*C. pepo*) o pedúnculo é anguloso, frequentemente expandido na porção junto ao fruto (Heiden et al., 2007). Além desse, os caracteres vegetativos que separam as espécies cultivadas de *Cucurbita* têm por base o caule e a pilosidade (Whitaker e Robinson, 1986).

2.3 Aspectos socioeconômicos e nutricionais

O último censo agropecuário divulgado no Brasil registrou, em 1995-1996, que havia 112.398 produtores de abóboras, que cultivaram 104.305 hectares e colheram 215,9 milhões de frutos. A região Sudeste participou com 64%, desta produção, distribuída da seguinte forma: o Estado de São Paulo com 54%, cabendo 10% aos outros Estados (Rio de Janeiro, Espírito Santo e Minas Gerais). No mesmo período, no Brasil, 26.480 produtores produziram 68.834 toneladas de abobrinhas, sendo que a Região Sudeste participou com 72% desse total (Camargo Filho e Mazzei, 2003).

Entretanto, o Brasil importa boa parte das sementes utilizadas no mercado, cerca de 10 toneladas de sementes por ano, a um custo de US\$ 1 milhão, apenas com o híbrido Tetsukabuto (Embrapa Hortaliças, 2007). Sementes de 18 cultivares de abóbora foram importadas entre 1981 e 1985. As abóboras japonesas e as abobrinhas americanas merecem destaque especial. O híbrido Tetsukabuto, resultado do cruzamento entre *Cucurbita maxima* Duch x *C. moschata* Duch, proveniente do Japão representa 83% das importações. Os altos rendimentos e a maior uniformidade dos híbridos aliados a um maior nível de resistência a pragas e doenças têm favorecido a introdução destes materiais no mercado nacional e tornando-os populares (Guedes et al., 1988), além de suas excelentes qualidades do fruto, que possuem tamanho médio de um a dois quilogramas e sem fibras (Silva et al., 1999).

Do ponto de vista socioeconômico, as abóboras são importantes por fazer parte da alimentação básica das populações de várias regiões do país (Ramos et al., 2000). O principal produto olerícola das plantas do gênero *Cucurbita* é o fruto, que pode ser consumido maduro, imaturo, cozido ou frito, junto com as sementes e pode ser armazenado por longos períodos (Nee, 1990). As abóboras verdes são preparadas em pratos salgados e as maduras são utilizadas, geralmente, na elaboração de doces caseiros ou industrializados e também em diversos pratos salgados (Camargo Filho et al., 2003). Representam também uma importante reserva de alimento para animais (Barbieri et al., 2006).

As folhas e flores, quando jovens, podem ser consumidas como hortaliças e constituem uma excelente fonte de vitamina e minerais, utilizadas principalmente no continente africano (Esquinas-Alcazar e Gulick, 1983). As

sementes de abóbora são consideradas suplementos protéicos, contendo entre 30 a 37% de proteína bruta e torradas constituem iguaria muito apreciada em algumas regiões (Casali et al., 1982).

A abóbora contém em 100g cerca de 1,3% de fibras e 96% de água, com a seguinte composição: 40 calorias, 280 mg de vitamina A, 700 mg de vitamina B5, 100mg de vitamina B2, 55 mg de vitamina B, além de sais como cálcio fósforo, potássio, sódio, ferro e enxofre (Luengo et al., 2000) sendo considerada como hortaliça de alto valor nutritivo (Esquinas-Alcazar e Gulick, 1983).

2.4 O conceito da agrobiodiversidade

Entre os países mega diversos, o Brasil é detentor da maior diversidade de plantas nativas e de grande diversidade de plantas cultivadas. Este patrimônio genético constitui a base alimentar e a fonte de matéria-prima para inúmeras atividades de populações locais e se constitui também elemento organizador de contextos culturais específicos. Conservá-los, portanto, é tarefa fundamental para a segurança alimentar destas populações e para a preservação do patrimônio cultural (Oliveira et al., 2006).

Quando o termo biodiversidade foi definido por Banham, em 1993, não tratava das espécies cultivadas, mas referia-se apenas às espécies silvestres (Caballero et al., 2007). Por sua vez, o texto da convenção sobre Diversidade Biológica, assinado durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente (CNUMA ou ECO 92), não traz definição explícita para agrobiodiversidade, mas a Decisão V/5 define agrobiodiversidade como um termo amplo que inclui todos os componentes da biodiversidade que têm relevância para a agricultura e alimentação. A agrobiodiversidade engloba todos os componentes da biodiversidade que constituem os agroecossistemas: as variedades e a variabilidade de animais, plantas e microorganismos, nos níveis genético, de espécies e ecossistemas, os quais são necessários para sustentar funções-chaves dos agroecossistemas, suas estruturas e processos (Oliveira et al., 2006).

O componente da diversidade genética, manejado por populações tradicionais e por agricultores familiares, conservados no campo e pelo agricultor, é fruto de um longo e diversificado processo de seleção, adaptado à realidade

local. Apesar de sua importância, é necessário o reconhecimento e esforços especiais voltados à sua conservação e valorização. Nesta diversidade, expressa em uma infinidade de cultivares tradicionais de hortaliças, plantas frutíferas, medicinais e outras, observam-se múltiplas adaptações às mais diferentes condições ambientais (solo e clima, por exemplo) em associação com as mais diversas representações e práticas culturais. Uma ampla gama de produtos agrícolas é ofertada a partir deste estoque de variedades. Práticas e saberes associados permitiram a contínua adaptação desse patrimônio biológico às modificações dos contextos ecológicos e socioeconômicos locais e nacionais e foram elementos decisivos para a autonomia e a segurança alimentar das comunidades tradicionais e dos pequenos agricultores (Stella et al., 2006).

Apesar da importância da manutenção e conhecimento dessa agrobiodiversidade, um menor interesse em se pesquisar essas culturas levou a um paradoxo: as espécies silvestres são melhores classificadas do que as espécies cultivadas, embora a sobrevivência do homem dependa em grande parte destas últimas. Somente quando se observou que entre as culturas mantidas tradicionalmente pelos produtores também se poderiam encontrar novas fontes de genes úteis é que se despertou o interesse para esse tipo de estudo. Infelizmente, muitas destas culturas foram negligenciadas por vários anos e assim a agrobiodiversidade existente nelas foi perdida, levando à perda genética (Caballero et al., 2007).

2.5 Erosão genética, coleta e conservação de *Cucurbita* spp.

A variabilidade genética está sob constante pressão em direção à sua extinção, por várias causas, entre as quais, o uso de variedades uniformes, que constitui uma exigência de mercado da agricultura conceitualmente tida como moderna. Entretanto, se por um lado, o uso de variedades altamente especializadas responde às necessidades do mercado consumidor, contribuindo para o aumento da produção de alimentos, por outro, resulta em sérios prejuízos com a substituição das cultivares tradicionais (Cerezo-Mesa e Esquinas-Alcázar, 1986). Para evitar essa erosão genética é fundamental realizar a coleta de germoplasma para conservação *ex situ*, em condições apropriadas (Ferreira, 2007). A conservação deste germoplasma é a principal garantia para que haja

disponibilidade de matéria-prima para os trabalhos de melhoramento (Faiad e Bustamante, 1999) já que o sucesso de um programa de melhoramento reside na existência da variabilidade na população de trabalho. (Cruz, 1990).

Uma das famílias botânicas com um grande número de espécies cultivadas, e que se caracterizam por variedades tradicionais é a Cucurbitaceae. Dentre as espécies de Cucurbitaceae com uma riqueza de variedades tradicionais estão as abóboras (*Cucurbita* spp.), as melancias (*Citrulus lanatus* (Thunb) Mansf), os melões (*Cucumis melo* L.), entre outras (Kokopeli, 2005). Apesar das cucurbitáceas não serem nativas do Brasil, são espécies domesticadas e cultivadas há séculos e, em virtude disso, existe uma ampla variabilidade genética representada por essas variedades locais cultivadas nas diferentes regiões brasileiras (Ferreira e Diniz, 2007).

A diversidade genética de *Cucurbita* existente nas Américas é abundante e pode ser caracterizada por se encontrar indivíduos com frutos de variadas cores, texturas, formas, tamanhos e sabores. No Brasil, espécies do gênero *Cucurbita* faziam parte da alimentação dos povos indígenas antes da sua colonização. A diversidade dessas espécies no Brasil é representada pelas inúmeras variedades tradicionais cultivadas pelos indígenas, quilombolas e agricultores de base familiar (Ferreira, 2007). Essas são mantidas e ainda são as mais utilizadas para cultivo, uma vez que são poucas as cultivares desenvolvidas e adaptadas para as regiões produtoras (Bezerra Neto et al., 2006). Tais fatos reforçam a importância dos recursos genéticos do gênero *Cucurbita* para a agricultura e para a segurança alimentar (Ferreira, 2007).

Apesar do predomínio do uso de variedades locais, existe o risco iminente de substituição dessas sementes, que é estimado em torno de 80%, por variedades melhoradas. Isso representa séria ameaça à agrobiodiversidade regional, já que diversas variedades locais deixarão de ser plantadas, implicando em erosão genética, a médio e longo prazo (Ferreira et al., 2006), sendo preciso definir e priorizar novas áreas de coleta e estratégias de conservação e uso (Ferreira et al., 2007a). A erosão genética de *C. maxima* nos Estados Unidos é um exemplo importante do perigo do fator exclusivo de germoplasma. Em 1935, *The Vegetable of New York* citava 200 cultivares no mercado. Cinquenta anos depois, não existiam mais do que 20 cultivares disponíveis no mercado e pode

haver cerca de 100 cultivares disponíveis em bancos de germoplasma (Esquinas-Alcazar e Gulick, 1983).

De acordo com a FAO (1998), existem 17.309 acessos de germoplasma do gênero *Cucurbita* conservados em vários países. Destes, apenas 1.220 acessos estão sendo conservados a longo prazo no *National Seed Storage Laboratory* (NSSL) nos Estados Unidos da América. No entanto, no relatório da FAO não foi incluída a coleção de *Cucurbita* spp. conservada a longo prazo na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que inclusive possui maior número de acessos do que os mantidos no NSSL (Silva et al., 2006).

Nos bancos de germoplasma brasileiros são conservados cerca de 1.198 acessos de *C. maxima* e 2.316 de *C. moschata*. Outras espécies cultivadas estão pouco representadas como *C. pepo* e *C. ficifolia*. É fundamental que outras espécies silvestres de interesse sejam introduzidas e conservadas nesses bancos, pois podem representar fontes de resistência a fatores abióticos (seca, acidez no solo, entre outros) e bióticos (doenças e pragas) (Ferreira, 2007).

No Brasil, existem três expressivos bancos de germoplasma, localizados na Universidade Federal de Viçosa (Viçosa-MG), na Embrapa Semi-Árido (Petrolina-PE) e na Embrapa Hortaliças (Brasília-DF), que conservam cerca de 3.900 acessos de *C. maxima* e *C. moschata* em todas as fases do estudo estabelecidas para os recursos genéticos: coleta, multiplicação, caracterização, avaliação e preservação (Ramos et al., 1999). Atualmente a Embrapa Clima Temperado, que realiza coletas desde 2002, conserva cerca de 280 acessos de variedades tradicionais do gênero *Cucurbita* (*C. moschata*, *C. maxima*, *C. pepo*, *C. ficifolia* e *C. argyrosperma*) (Barbieri et al., 2008).

Um diagnóstico realizado sobre a conservação *ex situ* de *Cucurbita* no Brasil, para propor um resgate e conservação, utilizando um questionário enviado para 173 instituições de ensino e pesquisa do País, priorizou locais para coleta de germoplasma. A região Norte foi considerada área prioritária de coleta, seguida pela região Sul. No Sudeste, devem ser priorizados São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo e na região Centro-Oeste o Mato Grosso do Sul e o Mato Grosso. Na região Nordeste, devem ser priorizadas coletas em Alagoas, Maranhão, Pernambuco, Piauí e Sergipe. Ao priorizar os locais de coleta, deve-se considerar a presença de comunidades tradicionais e pequenos agricultores que costumam cultivar variedades locais de *Cucurbita* (Ferreira et al., 2007b).

Devem ser implementadas ações que intensifiquem não só o resgate da variabilidade local existente, mas que também minimizem os problemas apontados pelos agricultores (Ramos *et al.*, 2007), como o ataque severo de pragas e doenças.

Ressalta-se que uma das maiores dificuldades para a conservação e o manejo racional das espécies vegetais consiste na carência de informações sobre os níveis e a organização da variabilidade genética em populações naturais e bancos de germoplasma. Assim, a caracterização da variabilidade genética é uma das primeiras etapas para que se possa organizar um programa de conservação ou melhoramento de qualquer espécie vegetal (Lima, 2001).

O germoplasma de abóboras e morangas no Brasil é riquíssimo, mas a utilização de sementes importadas de base genética estreita pelos produtores poderia comprometer a variabilidade existente (Doni, 1982). Alguns agricultores cultivam e realizam seleção por várias gerações, resultando em variedades adaptadas às condições de cultivo local (Neitzke *et al.*, 2006).

2.6 Caracterização e avaliação de germoplasma

Os recursos genéticos são definidos como a fração da biodiversidade que tem previsão de uso atual ou potencial. Compreendem as variedades tradicionais (ainda existentes em áreas menos influenciadas pelas variedades exóticas), variedades melhoradas, linhas avançadas e espécies nativas (parentes silvestres de espécies cultivadas) (Giacometti, 1993). São estudados em várias etapas bem definidas: coleta ou introdução, multiplicação, preservação/conservação, avaliação/caracterização e uso (Hawkes, 1982).

A caracterização e a avaliação de genótipos fazem parte do melhoramento genético de plantas, e este processo, faz com que acessos introduzidos em bancos de germoplasma sejam avaliados de tal forma que auxiliem o melhorista a identificar características desejáveis (novos genes) (Chiorato, 2004). Atividades de caracterização morfológica disponibilizarão informações sobre o germoplasma conservado, dispondo-o de uma forma mais efetiva para a utilização. O valor do germoplasma aumenta à medida que este se torna conhecido e documentado (Painting *et al.*, 1995). Uma das maiores dificuldades para a conservação e o manejo racional das espécies vegetais

consiste na carência de informações sobre os níveis e a organização da variabilidade genética em populações naturais e bancos de germoplasma (Lima, 2001). Com isso, evidencia-se a necessidade de atividades de caracterização morfológica, provendo mais informações sobre o germoplasma conservado (Ramos et al., 2000).

Os caracteres estudados na caracterização podem ser morfológicos, fisiológicos, citológicos, bioquímicos ou moleculares. A maioria desses dados pode ser obtido por meio de descritores, os quais constituem um atributo ou caráter observado nos acessos de um banco de germoplasma e que pode ser identificável e mensurável (Howes, 1981).

A caracterização morfoagronômica é a coleta de dados botânicos de alta herdabilidade, de fácil mensuração e com pouca interação genótipo x ambiente. Os aspectos morfológicos e fenológicos também devem ser observados de forma sistemática nos acessos por meio de descritores, características utilizadas para descrever um acesso. A avaliação, por sua vez, se baseia em características de baixa herdabilidade, por isso para maior confiabilidade dos dados torna-se necessário o uso de modelos experimentais, que obedeça aos princípios básicos da experimentação (Valls, 1988).

Aliada à necessidade de introdução de novos tipos nos programas de melhoramento, bem como a real possibilidade de que algumas características comercialmente desejáveis sejam encontradas nos acessos conservados nos bancos de germoplasma, torna-se necessário que haja uma relação mais estreita e contínua entre os trabalhos realizados com melhoramento e recursos genéticos, para que novos tipos, adequados as necessidades do mercado, sejam desenvolvidos (Ramos et al., 2000).

Ramos et al. (1999) caracterizaram 40 acessos de *Cucurbita moschata* coletados na região Nordeste brasileira utilizando-se 16 características morfológicas e agronômicas. Foi utilizado o critério de Scott-Knott, em nível de significância de 5% de probabilidade, para agrupar as médias entre os acessos. As características número de dias para o florescimento da primeira flor feminina, localização do nó da primeira flor masculina, e maior diâmetro do fruto distribuíram os acessos em cinco grupos, e registraram a maior variabilidade entre os acessos. Esse estudo ainda possibilitou a indicação de acessos com

características desejáveis ao melhoramento de *Cucurbita moschata* como a precocidade, maior espessura da polpa, e maior BRIX, dentre outras.

Assim como a caracterização morfológica, a caracterização por meio de marcadores moleculares é útil para a análise de diversidade genética, para ampliar sua base genética, explorar a heterose, identificar cultivares e selecionar parentais para o melhoramento (Ferriol et al., 2003a).

2.7 Marcadores moleculares no estudo da diversidade genética

As informações sobre diversidade genética obtidas a partir de características morfológicas, marcadores bioquímicos, isoenzimáticos para a utilização em estratégias de conservação de germoplasma, têm sido consideradas insuficientes, devido ao pequeno número de marcadores disponíveis e a pequena porção genômica acessada, respectivamente. Por outro lado, os marcadores genéticos baseados na análise direta da molécula de DNA detectam alto nível de polimorfismo e permitem acesso a uma ampla região do genoma (Vieiral e Nodarill, 2007).

No estudo da diversidade genética entre e dentro de espécies vegetais, em especial as hortaliças, a utilização de marcadores moleculares para estudos da diversidade genética tem sido crescente (Sakiyama, 1993).

No início da década de 90, três grupos desenvolveram ao mesmo tempo e independentemente esta metodologia de análise, com algumas diferenças entre eles. Welsh e McClelland (1990) desenvolveram o que chamaram de AP-PCR (*Arbitrarily Primed - PCR*), uma técnica que utiliza *primers* de seqüência arbitrária com cerca de 20 nucleotídeos, corrida eletroforética em géis de poliacrilamida e visualização das bandas por auto-radiografia. Em 1991, Caetano-Anólles *et al.* publicaram uma técnica similar denominada DAF (*DNA Amplification Fingerprinting*), que também utiliza géis de poliacrilamida, mas se baseia no uso de *primers* bem menores (entre cinco e oito nucleotídeos). A técnica que acabou tornando-se a mais popular das três foi descrita por Williams et al., ainda em 1990, e recebeu o nome de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

A técnica de RAPD consiste na amplificação de DNA genômico em PCR utilizando *primers* de seqüência arbitrária com 10 nucleotídeos. Tipicamente utiliza-se apenas um tipo de *primer* em cada reação, sendo este normalmente

formado por diferentes combinações das quatro bases nitrogenadas, com um conteúdo de G+C entre 50 e 70% (Fritsch e Rieseberg, 1996). A eletroforese geralmente é conduzida em gel de agarose e a visualização é feita com brometo de etídio em luz ultravioleta (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Apesar do baixo custo em relação às outras técnicas que detectam polimorfismo no DNA, o RAPD tem como desvantagens a baixa reprodutibilidade dos resultados entre laboratórios, ocasionada por diferentes fatores que afetam o padrão de bandas, como a concentração de $MgCl_2$; a temperatura de anelamento; o tipo de polimerase e de termociclador; a composição e comprimento dos *primers* e também o baixo conteúdo de informação genética por loco, pois somente um alelo é detectado, sendo os outros interpretados como um alelo nulo (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Ferriol *et al.*, (2003b) analisaram a variabilidade genética em acessos de *Cucurbita*, proveniente do COMAV (*Centre for Conservation and Breeding of Agricultural Biodiversity*), usando marcadores moleculares baseados em PCR, RAPD e SBAP (*Sequence-Based Amplified Polymorphism*). Foram estudados 19 acessos de *Cucurbita maxima*, dois de *C. pepo* L., dois de *C. ficifolia* Bouche, dois de *C. moschata* Duch. e *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. Para o marcador RAPD, 21 *primers* foram utilizados, os quais amplificaram 92 fragmentos consistentes e diferentes, entre dois a 10 por *primer*. Destes, 52 fragmentos (57%) foram polimórficos. A medida de dissimilaridade variou entre 0,29 e 0,58 e a média de distância genética dentro das espécies foi de 0,49. Para o SBAP foram utilizadas 24 combinações de *primers*. Destas, seis mostraram-se monomórficas, com uma média de cinco bandas para cada uma totalizando 114 bandas, das quais 38% foram polimórficas. A medida de dissimilaridade variou de 0,21 a 0,47 e a média da distância genética dentro das espécies foi de 0,34 a 0,06. Este estudo demonstrou a utilidade desses dois marcadores para análise de diversidade genética, quantificando a diversidade entre e dentro das espécies, evidenciando que o RAPD foi mais efetivo na detecção e quantificação de diversidade devido ao maior número de bandas polimórficas e à maior distância genética entre os acessos observados para esse marcador.

Em outro estudo conduzido com marcadores moleculares em *Cucurbita*, Gwanama *et al.*, (2000) estimaram a diversidade genética em 31 variedades locais de *C. moschata* do Centro-sul da África (Zambia e Malawi) e selecionaram

genótipos parentais para o melhoramento de características de frutos, com base em marcadores RAPD. Os 16 *primers* selecionados geraram 39 fragmentos amplificados polimórficos e 105 monomórficos. Esses dados foram usados para o cálculo do coeficiente de similaridade de Jaccard para cada par de acessos. Os acessos foram reunidos em quatro grupos, e os autores propuseram que cada grupo representaria um grupo heterótico. Assim, quanto mais divergentes, maior o efeito heterótico expressado. Concluiu-se que para pesquisas com variedades locais de *Cucurbita*, embora um marcador molecular co-dominante pudesse prover dados de divergência mais consistentes, para estudos com variedades locais o RAPD demonstrou-se uma ferramenta eficiente e útil.

O marcador molecular *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) é um método baseado em PCR – reação em cadeia de polimerase, assim como o RAPD, e representa uma das classes mais recentes de marcadores moleculares. Foi desenvolvido a partir da necessidade de explorar repetições microssatélites sem a utilização de sequenciamento do DNA (Zietkiewicz et al., 1994).

O ISSR é uma técnica simples como o RAPD. Entretanto, utiliza *primers* mais longos, e conseqüentemente possui reprodutibilidade mais alta que o método RAPD (Kim et al., 2002). O princípio da técnica é baseado em PCR e envolve amplificações de segmentos de DNA presente em uma região de distância amplificável entre duas regiões repetidas de microssatélites idênticas orientadas em direções opostas. As amplificações não requerem informação da seqüência do genoma e conduz a multilocos e altos padrões polimórficos. O ISSR é uma técnica simples, rápida e eficiente. Os produtos amplificáveis são geralmente de 200-2000 pb de comprimento e possuem alta reprodutibilidade, possivelmente devido ao uso de *primers* longos (16-25 pb), o que permite um subseqüente uso de alta temperatura de anelamento (Bornet e Branchard, 2001). Cerca de 90% dos fragmentos visualizados podem ser repetidos de amostras de DNA de uma mesma cultivar (Fang e Roose, 1997).

A técnica usa microssatélites, geralmente 16-25pb, como *primers* em uma única reação de PCR para amplificar principalmente entre seqüências de SSR de diferentes tamanhos. O microssatélite usado como *primer* pode ser di-nucleotídeo, tri-nucleotídeo, tetranucleotídeo ou penta-nucleotídeo. O *primer* usado pode estar não-ancorado ou ancorado, condição mais frequente, à ponta 3'

ou 5' com uma a quatro bases degeneradas dentro de sequências flanqueadas (Zietkiewicz et al., 1994).

Os marcadores ISSR têm sido utilizados para estimar a extensão da diversidade genética em nível inter e intra-específico, mapeamento de genes, e estudos de filogenia em uma ampla variedade de espécies. Devido à sua abundância e dispersão no genoma, tem sido muito empregado para estudar relações entre duas populações muito relacionadas (Reddy et al., 2002).

2.8 Quantificação da diversidade genética

A divergência genética se caracteriza pelo grau em que uma população se afasta da outra quanto ao conjunto de caracteres que lhe são peculiares (Moreira et al., 1994). Nos programas de melhoramento de plantas, a informação quanto à diversidade e à divergência genética dentro de uma espécie é essencial para o uso racional dos recursos genéticos (Loarce et al., 1996).

Os estudos sobre a diversidade genética nas coleções de germoplasma podem ser realizados a partir de caracteres morfológicos de natureza qualitativa ou quantitativa (Moreira et al., 1994), fisiológicos, bioquímicos, polimorfismos de DNA, dentre outros.

Existem duas maneiras de se inferir sobre a diversidade genética: de forma quantitativa e de forma preditiva. Entre as de natureza quantitativa, citam-se as análises dialélicas, nas quais são necessários os cruzamentos entre os genitores e sua posterior avaliação. As de natureza preditiva têm por base as diferenças morfológicas, de qualidade nutricional, fisiológica ou molecular, quantificadas em alguma medida de dissimilaridade que possa expressar o grau de diversidade genética entre os genitores (Cruz e Carneiro, 2003).

A determinação da divergência genética, com o uso da análise multivariada, em que diversos caracteres avaliados podem ser utilizados simultaneamente, pode ser bastante vantajosa, podendo-se identificar fontes de variabilidade genética, a importância de cada caráter avaliado em relação à divergência genética, além de permitir aos melhoristas conhecer as combinações com maiores chances de sucesso, antes de se realizarem os cruzamentos (Moura et al., 1999). Além disso, os métodos preditivos de diversidade genética têm sido bastante utilizados, sobretudo devido ao fato de que, ao se basearem em

diferenças morfológicas e fisiológicas dos genitores, dispensam a obtenção das combinações híbridas entre eles, o que é vantajoso, especialmente quando o número de genitores cujas diversidades se deseja conhecer é elevado (Carvalho et al., 2003).

Entre as técnicas estatísticas multivariadas, destacam-se a análise de componentes principais e os métodos de agrupamento (Cruz, 1990; Cruz e Regazzi, 1997). A análise de componentes principais consiste em transformar um conjunto original de variáveis em outro conjunto de dimensão equivalente, mas com propriedades importantes, que sejam de interesse em estudos de melhoramento. Além disso, são independentes entre si e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo de informação em termos de variação total contida nos dados originais (Cruz, 1990). A viabilidade de utilização dos componentes principais em estudos de divergência genética depende da possibilidade de resumir o conjunto de variáveis originais em poucos componentes, o que significa ter uma boa aproximação do comportamento dos indivíduos, oriundo de um espaço n-dimensional (n= número de caracteres estudados), em um espaço bi ou tridimensional (Cruz e Regazzi, 1997).

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir acessos, por meio de algum critério, que apresentam similaridade de padrão de comportamento. Os critérios de agrupamento variam de método para método, mas geralmente mantêm o princípio de estabelecer grupos em que a homogeneidade é maior que aquela que existe entre grupos. A similaridade, por sua vez, pode ser avaliada de várias maneiras: por meio de grupos mutuamente exclusivos, em que indivíduos de um grupo são completamente distintos dos indivíduos de outros grupos; por meio de dendrogramas, em que se têm ramificações de tal forma que o número de acessos em um grupo aumenta gradativamente em função do nível ou ponto de referência; e por meio de análise gráfica, em que se avalia a dispersão dos indivíduos em eixos cartesianos (Cruz, 1990). Existem diversos métodos de agrupamento, tais como os hierárquicos (vizinho mais próximo, vizinho mais distante, Ward, UPGMA – *Unweighted Paired Group Method Using Averages*, dentre outros) e os de otimização como o Método Tocher, por exemplo (Cruz e Regazzi, 2001).

Em *Cucurbita* resultados de estimativas de divergência genética baseadas em análise multivariada estão disponíveis na literatura. Moura et al.,

(2004) tiveram por objetivo obter estimativas da divergência genética entre acessos e híbridos comerciais de abóbora com base em marcadores morfoagronômicos e um caráter nutricional, tendo em vista sua utilização em programas de melhoramento. Os acessos foram caracterizados de acordo com a lista de descritores quantitativos sugeridos por Ramos (1996) para *Cucurbita moschata*, com a inclusão do descritor nutricional teor de caroteno total. Utilizou-se a distância de Mahalanobis e os grupos foram formados de acordo com o Método de Tocher. A amplitude da distância de Mahalanobis (D^2_{ii}) apresentou valor máximo de 67.222,52 entre os acessos BGH-5257 e o híbrido Jabras, e o mínimo de 558,87 entre acessos BGH-35 e BGH-1934. Com o método de Tocher houve a formação de quatro grupos. Foi constatado que todos os descritores contribuíram para a determinação da divergência genética.

Ramos et al. (2000) avaliaram por meio de técnicas de análise multivariada, o grau de similaridade genética entre 40 acessos de abóbora, coletados em três áreas distintas da região Nordeste. Para tanto, utilizaram-se 21 descritores quantitativos. Os dados foram submetidos à análise por variáveis canônicas e análise de agrupamento pelo método de Tocher, adotando a distância generalizada de Mahalanobis (D_{2ii}). Verificou-se que 65% dos acessos formaram um único grupo. Os resultados das dispersões com base nas quatro primeiras variáveis canônicas (71% da variabilidade total) não possibilitaram um vínculo entre a divergência genética e a origem ecogeográfica dos acessos, resultado concordante com o obtido pela técnica de agrupamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta dos acessos

Os frutos de abóbora foram coletados em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais localizados na região Norte Fluminense, nos municípios de Campos dos Goytacazes e São João da Barra. Em algumas propriedades rurais quando o produtor não dispunha de frutos, as sementes foram coletadas.

As coletas nas propriedades rurais foram feitas em seis datas: 27 e 29 de maio; 03, 05, 10 e 12 de junho de 2008. Durante as coletas foi aplicado um questionário aos produtores (Quadro 1). A identificação das propriedades rurais amostradas, bem como as atividades de coleta foram realizadas com auxílio da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do estado do Rio de Janeiro (EMATER-RJ), escritório de Campos dos Goytacazes - RJ, com a participação do engenheiro agrônomo José Roberto Pereira da Silva em todas as expedições. Os pontos de coleta foram marcados com auxílio de um GPS (Sistema de Posicionamento Global).

Quadro 1. Formulário para coleta, em propriedades rurais, de *Cucurbita* spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Agrobiodiversidade de <i>Cucurbita</i> spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro Formulário para coleta de <i>Cucurbita</i> spp	
Mestranda: Marilene Hilma dos Santos Orientadora: Rosana Rodrigues	
1. Nome do produtor:	_____
2. Local da coleta:	_____ Data: __ / __ / __
3. Denominação local:	_____
4. Nome científico:	_____
5. Procedência do material cultivado:	
	() Familiar
	() Comercial
6. Destino final do produto:	
	() Venda direta
	() Intermediários
7. Incidência de pragas e doenças:	
	() Sim () Não
Quais?	_____
8. Aplicação de produtos químicos para o controle de pragas e doenças:	
	() Sim () Não
Quais?	_____
9. Tempo que cultiva abóbora:	_____
10. Produtividade e safras anuais:	_____
Observações:	_____

As coletas em mercados locais foram concentradas no município de Campos dos Goytacazes e foram realizadas em quatro datas, a saber, 28 e 30 de janeiro e 01 e 07 de fevereiro de 2008. Doze estabelecimentos comerciais, considerados os mais importantes do ponto de vista de atendimento à população local, localizados em diferentes áreas da cidade e com um tipo de público

consumidor foram amostrados (Tabela 1). As informações foram coletadas por meio da aplicação de um questionário (Quadro 2)

Tabela 1. Lista dos estabelecimentos comerciais onde foram coletados acessos de *Cucurbita* spp. e sua localização. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Nome comercial dos estabelecimentos	Localização
Hortifruti Frutas e Cia	Avenida Alberto Lamego, 1002, Parque Califórnia
Mercado Municipal	
Hortifruti Palmeira	Rua Alcebíades Peçanha, 69, Parque Rosário
Hortifruti João Maria	Rua Viveiro de Vasconcelos, 05, João e Maria
Supermercado ABC Compre Bem	Avenida Felipe Uebe, s/n, Turf Club
Hortifruti Frutas e Cia	Rua Beda, 147, Parque Rosário
Feira da roça da Record	-
Feira da roça da Rodoviária	-
Hortifruti das Palmeiras	Rua Messias Urbana, 2830, Vicente Dias - Guarus
Supermercado Super Romão	Avenida José Carlos Pereira Pinto, 911, Parque Presidente Vargas - Guarus
Hortifruti e Abatedouro Campos III	Travessa Nossa Senhora da Conceição, Custodópolis - Guarus
Hortifruti Top de Linha	Avenida Teresópolis, 239, Parque Guarus - Guarus.

Quadro 2. Formulário para coleta, em estabelecimentos comerciais, de *Cucurbita* spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Agrobiodiversidade de <i>Cucurbita</i> spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro Formulário para coleta de <i>Cucurbita</i> spp	
Mestranda: Marilene Hilma dos Santos Orientadora: Rosana Rodrigues	
1. Tipo de estabelecimento: <input type="checkbox"/> Hortifruti <input type="checkbox"/> Feira livre <input type="checkbox"/> Mercado <input type="checkbox"/> Outros: _____	
2. Nome do estabelecimento: _____	Data: __/__/__
3. Endereço: Rua: _____ N° _____ Bairro: _____	
4. Nome comum: _____	
5. Nome científico: _____	
6. Procedência: <input type="checkbox"/> Rio de Janeiro – Município (s): _____ <input type="checkbox"/> Outros estados – Estado (s): _____ <input type="checkbox"/> Desconhecida	
7. Forma de comercialização do fruto: <input type="checkbox"/> Inteiro <input type="checkbox"/> Em fatias <input type="checkbox"/> Minimamente processado <input type="checkbox"/> Outros: _____	
8. Preço comercializado: _____	
Observações: _____ _____	

3.2 Caracterização dos frutos coletados

Os frutos de abóbora coletados nos mercados e nas propriedades rurais foram caracterizados utilizando-se uma lista de descritores morfoagronômicos propostos por Esquinas e Alcazar (1983), conforme a seguir:

Descritores qualitativos:

- Peso do fruto (kg) – obtido com o uso de uma balança;
- Diâmetro e comprimento do fruto (cm) – mensurou-se no maior diâmetro e comprimento, em um corte longitudinal, com régua milimetrada;
- Espessura da casca (mm) – foi obtida com paquímetro digital;
- Espessura da polpa (cm) – foi determinada com o uso de uma régua milimetrada;
- Número de semente por fruto – foi obtido por meio de contagem direta;
- Tamanho da cavidade interna do fruto (cm) – foi determinado com régua milimetrada; mediu-se o comprimento e o diâmetro maior em um corte longitudinal;
- Teor de Sólidos Solúveis (°Brix) – com auxílio de refratômetro com amostra do suco extraído do fruto;
- Número de sementes – obtido por meio de contagem direta;
- Peso de 100 sementes - pesou-se em balança analítica;
- Tamanho da semente – as medições foram feitas com uso de um paquímetro digital (maiores comprimento e diâmetro).

Descritores quantitativos:

- Formato do fruto – determinado por meio de escalas de notas: 1 – globular; 2 – achatado; 3 – disco; 4 - oblongo; 5 – elíptico (oval); 6 – cordiforme; 7- piriforme; 8 – cinturado; 9 – formas alongadas; 10 – turbinado superior; 11 – coroadado; 12 – turbinado inferior; 13 – curvo; 14 – pescoço torcido;
- Cor predominante da casca - determinada com auxílio de uma escala de notas: 1 – creme; 2 – amarela; 3 – alaranjada; 4 – rosa; 5 – vermelha; 6 – verde; 7 – verde acinzentada e 8 – cinza;
- Cor secundária da casca – fez-se uso de escala de notas onde atribuiu-se: 1 – creme; 2 – amarela; 3 – alaranjada; 4 – rosa; 5 – vermelha; 6 – verde e 7 – cinza;

- Intensidade da cor da casca – foi caracterizada baseando-se em escalas de notas: 3 – clara; 5 – média; 7 – escura;
- Cor da polpa – definida utilizando-se escalas de notas: 1 – creme; 2 – amarela; 3 – alaranjada; 4 – alaranjada avermelhada;
- Superfície da semente – determinada por meio de uma escala de notas: 1 – lisa; 2 – levemente rugosa e 3 – rugosa;
- Cicatriz da semente - atribuiu-se notas: 1 – ausente e 2 – presente;
- Coloração da semente – obteve-se por meio de notas: 1 – esbranquiçada; 2 – amarelada; 3 – amarronzada;
- Coloração da borda – caracterizada com auxílio de uma escala de notas: 1 – esbranquiçada; 2 – amarelada; 3 – amarronzada;
- Formato da semente – determinado por meio de notas: 1- elíptica muito acentuada; 2 – elíptica acentuada e 3 – elíptica.

Após a caracterização dos frutos, as sementes foram extraídas de cada fruto, devidamente lavadas, secas e acondicionadas em pacotes identificados, mantendo-se a identidade de cada material, e acondicionadas em câmara fria.

3.3 Análise molecular

As sementes dos 45 frutos coletados, provenientes tanto das coletas das propriedades rurais quanto dos estabelecimentos comerciais, foram semeadas em bandejas de isopor, com 128 células, contendo substrato para hortaliças, para a produção de mudas e transplantados, 15 dias após o plantio, para vasos na casa de vegetação.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF, conforme as etapas descritas a seguir. Folhas jovens dos diversos acessos foram colhidas em *bulk* (amostras compostas), compostos por no mínimo 12 plantas/acesso. As folhas correspondentes a cada acesso foram imediatamente reunidas, retirando-se as nervuras centrais, enroladas em papel alumínio, identificadas e acondicionadas em caixa isopor resfriada para que não houvesse degradação do DNA. Uma vez no laboratório, este material foi mergulhado em N₂ líquido e acondicionado em ultra freezer a uma temperatura de -86°C. Posteriormente, uma porção dessas folhas foi macerada em nitrogênio

líquido. O tecido macerado foi transferido para tubos de 2 mL, devidamente identificados, e imersos em N₂ líquido para a extração de DNA, que foi realizado de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com modificações, descritas a seguir.

Foram adicionados aos tubos contendo o material macerado, 800µL do tampão de extração preaquecido contendo: 2% CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1% PVP e 0,2% β-mercaptoetanol. Este material foi incubado a 67°C por 40 minutos e agitado suavemente a cada 10 minutos e posteriormente centrifugado a 14000 rpm durante cinco minutos. O sobrenadante (cerca de 700 µL) foi transferido para um novo tubo devidamente identificado e ao qual foi adicionado igual volume de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1). Este material foi continuamente invertido até formar uma emulsão, observada pela turbidez no tubo, e foi novamente centrifugado a 14000 rpm durante cinco minutos e o sobrenadante transferido para um novo tubo. Esta etapa foi repetida e, após nova centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo, ao qual foi adicionado 2/3 do volume de isopropanol gelado, suavemente invertido e incubado por 30 minutos em ultra freezer.

Posteriormente, o material foi centrifugado a 14000 rpm durante 10 minutos, e foi obtido um precipitado branco (*pellet*), que foi lavado duas vezes com 200 µL de etanol a 70% e uma vez com 200 µL de etanol a 95% (entre cada lavagem, o material era centrifugado a 14000 rpm durante cinco minutos). Após o descarte do último sobrenadante, o material foi seco, em seguida foi ressuspenso em 200 µL de solução aquosa de RNase em uma concentração final de 40µg/mL e incubado em banho-maria a 37°C por 40 minutos. Depois, adicionou-se 20 µL de NaCl (5M) e 150 µL de isopropanol gelado e os tubos foram mantidos em ultra freezer por 30 minutos. O material foi novamente centrifugado a 14000 rpm durante 10 minutos, o precipitado lavado com etanol a 70 e 95%, foi seco e ressuspenso em 100 µL de água esterilizada.

As concentrações de DNA nas amostras foram estimadas através da análise em gel de agarose 1,0%, utilizando-se como padrão um material de concentração conhecida (*lambda*). O gel foi corado com *gel red* e a visualização foi feita através de luz ultravioleta (Fotodocumentador MiniBis Pro – Bio-imaging System).

3.3.1 Marcadores RAPD

As reações de amplificação para os marcadores RAPD foram realizadas conforme Williams et al. (1990), modificadas, em um volume final de 20 μL e contendo os reagentes nas seguintes concentrações: 10 mmol L^{-1} Tris HCl, pH 8,3; 50 mmol L^{-1} KCl; 3,5 mmol L^{-1} MgCl_2 ; 100 μM dATP, dCTP, dGTP e dTTP; 0,4 μM de iniciador; 10ng de DNA genômico e 0,6 unidade de Taq DNA polimerase. Foram colocados 2 μL de DNA em microtubos, e paralelamente, preparado um mix contendo todos os demais reagentes nas concentrações mencionadas, cada mix contendo um iniciador diferente. Desta solução, foram retiradas 18 μL e adicionados aos microtubos, totalizando os 20 μL da reação.

A primeira parte do trabalho consistiu na triagem dos iniciadores. Foram escolhidos três frutos, aleatoriamente, um de *Cucurbita moschata*, um de *Cucurbita maxima* e um de *Cucurbita pepo*. Foram utilizados 63 iniciadores, selecionados aleatoriamente, (série *Operon Technologies* – Alameda, Ca, USA): OPA-10, OPB-17, OPC-20, OPAF-09, OPAC-08, OPAC-13, OPAB-12, OPAB-18, APAA-12, OPAB-20, OPAF-07, OPAF-4, OPAF-16, OPC-11, OPAW-15, OPAW-07, OPAW-10, OPAW-20, OPAW-09, OPV-06, OPAD-10, OPV-12, OPG-17, OPAF-08, OPAE-19, OPAE-17, OPAW-02, OPAB-06, OPG-03, OPA-02, OPF-18, OPM-02, OPI-02, OPI-04, OPI-05, OPL-18, OPH-07, OPK-07, OPK-13, OPN-03, OPAC-16, OPH-18, OPD-17, OPN-18, OPH-16, OPH-20, OPM-18, OPL-15, OPN-04, OPJ-06, OPJ-18, OPJ-14, OPAC-07, OPF-10, OPAC-20, OPF-09, OPAC-19, OPK-19, OPK-19, OPG-07, OPK-06, OPG-12 e OPAC-13. Desses, selecionaram-se os 20 melhores, ou seja, aqueles com maior eficiência na detecção de bandas polimórficas para serem utilizados nas reações de PCR.

O equipamento utilizado foi um termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem), programado para 95°C por 1 minuto, seguido de 45 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 36°C e 2 minutos a 72°C, e o passo final para extensão de 7 minutos a 72°C, utilizando o modo de transição de temperatura mais rápida disponível (1°C/seg.). Os produtos de amplificação (bandas) foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% submetidos a uma corrente de 100V por aproximadamente 2h e visualizados, após coloração por *gel red*, sob luz ultravioleta.

3.3.2 Marcadores ISSR

Para a detecção de polimorfismo entre e dentro das espécies analisadas, foram previamente escolhidos 18 *primers* já utilizados para a cultura em questão por Heikal et al. (2008) e Djé et al. (2006): DBD(AC)₇; GAG(CAA)₅; (GA)₈T; (AG)₈T; (AG)₈G; (AG)₈YT; (AC)₈G; DD(CGA)₅; VHV(GT)₇G; (GA)₈YC; (CT)₈TG; (CT)₈AG; (CT)₈GC; (CA)₆AC; (CA)₆GT; (CA)₆AG e (CA)₆GG e mais quatro *primers* escolhidos aleatoriamente: (CT)₈RC; (GA)₉T; (AGC)₅AY e (AGC)₅R. Uma vez testados, os 15 *primers* melhores foram selecionados para serem utilizados na amplificação de locos polimórficos.

As reações de amplificações foram realizadas em um volume final de 20 µL, contendo os seguintes reagentes e suas respectivas concentrações finais: 5 ng de DNA genômico, 0,4 µM de *primer*, 2 mM de MgCl₂, 100 µM de cada dNTP, 0,6 U de Taq DNA polimerase, 5% de DMSO e tampão da enzima 1X. O protocolo de amplificação para os di-nucleotídeos foi conduzido de acordo com Yao et al. (1999) como segue: 2 minutos a 94°C, 40 ciclos de 94°C por 10 segundos, 30 segundos a 36°C, 65 segundos a 72° seguidas de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. O protocolo de amplificação para os tri-nucleotídeos foi executado de acordo com Djé et al. (2006) com as seguintes condições: 95°C por 5 minutos, 30 segundos a 95°C, anelamento a 52°C por 45 segundos, 72°C por 2 minutos seguida de extensão final a 95° por 5 minutos.

Os produtos da amplificação (bandas) foram separados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com *gel red* e submetidos à luz UV para visualização dos resultados. As imagens dos géis foram capturadas para posterior análise.

3.4 Análise estatística

3.4.1 Caracterização morfoagronômica

Os dados quantitativos e qualitativos da caracterização dos frutos foram analisados com auxílio do programa GENES para obtenção da matriz de dissimilaridade (Cruz, 2006), e do programa R (<http://www.r-project.org>) para a obtenção do dendrograma.

Estimou-se a diversidade genética para os acessos de *Cucurbita* spp. com os dados quantitativos. Para tanto se utilizou a Distância Euclidiana Média para gerar a matriz de dissimilaridade e o método *Unweighted Paired Group Method using Arithmetic averages* – UPGMA. Para os dados qualitativos, fez-se uso da distância de Cole Rodgers (1997) e o agrupamento foi realizado com o método UPGMA.

3.4.2 Análise dos fragmentos amplificados

Os dados obtidos pela avaliação visual das bandas mais evidentes e consistentes nos acessos estudados foram utilizados para elaboração de uma matriz de dados binários em que o número 1 correspondeu à presença da banda, o zero, a ausência da banda, e quando não foi possível determinar se a banda estava presente ou não em função da não amplificação de um dado acesso para aquele iniciador, foi computada como número 2.

Todos os dados foram analisados pelo programa GENES (Cruz, 2006), com exceção da confecção dos dendrogramas que foram obtidos pelo método (UPGMA), e gerados com auxílio do programa R (<http://www.r-project.org>) e o número ótimo de grupos, determinado com auxílio do programa SAS.

3.4.3 Divergência genética

Após a exclusão dos marcadores monomórficos, estimou-se a dissimilaridade genética entre os acessos de *Cucurbita* spp. Para a obtenção da matriz de dissimilaridade foi utilizado o complemento aritmético de Jaccard. Esse coeficiente consiste na comparação do número de bandas comuns e o número total de bandas envolvidas, excluindo-se o número de ausências conjuntas, (Meyer, 2002). Este coeficiente é definido pela expressão:

$$D_{ij} = 1 - S_{ij}$$

Onde:

$$S_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

a = é o número de bandas presentes nos acessos i, j;

b = é o número de bandas presentes no acesso i e ausentes no acesso j;

c = é o número de bandas presentes no acesso j e ausentes no acesso i.

As análises de agrupamento foram realizadas a partir dos dados dessa matriz, por meio do método hierárquico UPGMA. Nesse método a distribuição dos indivíduos no dendrograma não segue um critério de formação de grupos, uma vez que o principal aspecto deste método consiste nas ramificações que são obtidas. Os indivíduos são agrupados aos pares, utilizando-se médias aritméticas da dissimilaridade. O dendrograma prioriza os genótipos com maior similaridade, e as distâncias entre um indivíduo e um grupo formado pelos indivíduos i e j são calculados por:

$$d_{(ik)k} = \text{média } \{d_{ik}+d_{jk}\} = \frac{(d_{ik}+d_{jk})}{2}$$

$d_{(ij)k}$ = distância da média entre os grupos ij e o indivíduo k;

d_{ik} = distância entre os indivíduos i e k;

d_{jk} = distância entre os indivíduos j e k.

O número de grupos foi determinado utilizando-se o teste do Pseudo T^2 e Pseudo F proposto por Duda e Hart (1973). Esta proposição está baseada no uso de um teste de hipótese, como se em cada passo do algoritmo de agrupamento estivesse sendo feito um teste para comparar os vetores de médias dos dois grupos que se unem para formar um novo grupo. O maior valor de Pseudo T^2 estaria relacionado com a menor probabilidade de significância do teste e, dessa forma, estaria rejeitando a igualdade de vetores de médias com maior significância. Se a igualdade de vetores de médias é rejeitada, os dois agrupamentos não deveriam se unir para formar um único grupo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Coleta em propriedades rurais

Seis viagens de coleta foram realizadas e 50 propriedades rurais na Região Norte do estado do Rio de Janeiro foram amostradas no período entre 27 de maio a 12 de junho de 2008, abrangendo os municípios de Campos dos Goytacazes e São João da Barra, conforme mostrado no mapa de coleta com os pontos localizados com uso de GPS (Figura 1). Sementes de 19 acessos foram coletadas em várias das propriedades visitadas conforme mostrado no Quadro 4. As observações feitas em cada coleta serão descritas separadamente, por viagem, para facilitar a discussão e caracterizar cada coleta com a respectiva data (época) da viagem. A decisão dos locais a serem visitados em cada data foi feita em conjunto com o engenheiro agrônomo José Roberto Pereira da Silva da Emater – Escritório local de Campos.







Quadro 3. Nome comum, nome científico e procedência dos acessos de abóbora coletados nos municípios de Campos dos Goytacazes e São João da Barra. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Acesso	Nome comum	Nome científico	Local de coleta	Nome do produtor	Fruto
34.2	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Campo de Areia	Joece Inácios da Silva	
35	Abóbora Cascuda	<i>Cucurbita moschata</i>	Bajuru	Celmo Manhães Machado	
36	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Oziel Alves	João Manoel Machado de Abreu	
37	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Oziel Alves	João Manoel Machado de Abreu	
38	Abóbora Baianinha	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Oziel Alves	João Manoel Machado de Abreu	
39	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Canal das Flechas	Mônica Nunes Sales	

Quadro 3, Cont.

40	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Caboios	Dilma Maria da Costa Rodrigues	
41	Abóbora Comum	-	Baixa Grande	Elça Almeida da Silva Mota	
42	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Maria Rita Tomaz	
43	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Dilce Gomes Silva	
44	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	São Luis de Mutuca	Amaro Ribeiro Filho	
45	Abóbora Comum	<i>Cucurbita maxima</i>	São Luis de Mutuca	Amaro Ribeiro Filho	
46	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	São Luís de Mutuca	José Pedro da Silva	

Quadro 3, Cont.

47	Abóbora Caravela	<i>Cucurbita moschata</i>	Serra do Mico	Silvio Paes	
48	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Cazumbá	Waltinho de Souza Ribeiro	
49	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Venda Nova	José Antônio Toledo	
50	Abóbora Sergipana	-	Projeto de Assentamento Zumbi II	Amaro Terra Cruz	
51	Abóbora Sergipana	-	Campo de Areia	Joece Inácios da Silva	
52	Abóbora de Pescoço	-	Campo de Areia	Joece Inácios da Silva	

4.1.1 Primeira Coleta

Cinco localidades foram visitadas no primeiro dia de coleta, a saber: Bajuru; Quixaba; Campo de Areia; Azeitona; Marrecas, restringindo-se neste caso ao Assentamento Che Guevara (Figura 1).

Observou-se que as principais hortaliças cultivadas nessas regiões nesse período de maio e junho de 2008, foram o quiabo, o maxixe e a batata-doce e em escala pouco significativa tomate e pimentão. Os agricultores possuem em seus

quintais algumas aboboreiras que servem para o próprio consumo e o excedente é doado aos vizinhos e vendido em pequenas feiras realizadas pelos próprios agricultores, chamada de Feira da Roça, que acontece nos municípios de Campos e São João da Barra. Alguns produtores ainda conservam sementes de variedades locais de abóbora, a exemplo do Sr. Joece Inácios dos Santos (Campo de Areia) que conserva há 20 anos suas sementes armazenadas em potes plásticos e sacos plásticos. O material genético mantido por esse agricultor vem sendo selecionado em vários ciclos de plantio, sempre sendo cultivado em condições climáticas favoráveis ao plantio. Além disso, os produtores mantêm práticas tradicionais de troca de sementes com produtores vizinhos.



Figura 1. Mapa com os pontos de coleta de *Cucurbita* spp. na Região Norte do estado do Rio de Janeiro obtido por meio de GPS. Campos dos Goytcazes – RJ. 2009.

Na localidade de Azeitona, encontrou-se um tipo de abóbora rústica e nativa (Figura 2), na propriedade do agricultor Sr. Celmo Manhães, que se desenvolvia em áreas de restinga e sem manejo adequado. Na Figura 2, podem-se observar as condições arenosas do terreno, o que certamente não favorece a presença de matéria orgânica e nutrientes, bem como a retenção de água, revelando a rusticidade do material, que a despeito de folhas um tanto amareladas produz frutos nessas condições adversas. Uma característica marcante deste acesso é a rugosidade presente em sua casca, como será posteriormente descrito na etapa de caracterização do material. O agricultor Sr. Celmo, afirmou que a abóbora é uma variedade tradicional de São João da Barra. Esse tipo de abóbora foi encontrado em outras propriedades confirmando que o material era peculiar da região.

Plantas com alto grau de rusticidade são importantes para programas de melhoramento, sobretudo no que diz respeito ao aproveitamento de água e nutrientes, visando minimizar os custos com irrigação e adubação e assim poder diminuir os impactos da produção agrícola no meio ambiente. Considerando-se este aspecto, o acesso em questão pode ser considerado relevante para futuros estudos na tentativa de se identificar genes de interesse para a agricultura. Conforme proposta de Mafra et al. (2007), as chamadas plantas crioulas cultivadas pelos agricultores tradicionais são altamente adaptadas às condições ambientais, edáficas e bióticas do local e também possuem características adequadas para o consumo na propriedade.

Observou-se que nessas localidades visitadas na primeira coleta os agricultores não cultivam grandes áreas com aboboreiras, como já aconteceu em outras épocas. O abandono do cultivo comercial, segundo os próprios produtores, está associado ao baixo custo na comercialização do produto e ao alto custo no manejo da cultura, principalmente em termos de exigência de grande volume de água e o ataque constante de pragas, como a lagarta e a mosca-branca, além de doenças, que vêm impedindo o plantio contínuo em suas propriedades.



Figura 2. Variedade tradicional encontrada no município de São João da Barra, na localidade de Azeitona, crescendo em terreno arenoso e seco. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

No cultivo de hortaliças, o consórcio tem potencial de utilização por pequenos produtores, sendo uma técnica de fácil implementação (Cecílio Filho et al., 2007). Os pequenos agricultores que ainda plantam abóbora nessa região comercialmente, como o Sr. Joece, plantam-na em consórcio com outras culturas, como a cana-de-açúcar e o quiabo. Segundo os produtores, o consórcio ameniza o ataque de insetos, e dentre outros benefícios, permite o aproveitamento da água e da adubação. Essas vantagens podem ser associadas à possibilidade de situar a olericultura dentro de um contexto de agricultura com menor impacto ambiental, uma vez que o cultivo consorciado caracteriza-se pela otimização de insumos e, a olericultura, por uso intensivo de recursos naturais e de insumos agrícolas (Cecílio Filho et al., 2007). O estímulo desta prática pode minimizar o risco de erosão genética em abóboras nesta região.

Além do abandono do cultivo de abóboras, outra preocupação reside na substituição de variedades locais por cultivares e híbridos cujas sementes são comercializadas por grandes empresas de sementes. Durante a realização desta primeira coleta constatou-se o risco de substituição de uma variedade tradicional

por um híbrido na localidade de Marrecas (Assentamento Che Guevara) : um produtor apresentou o híbrido Tetsukabuto a outro produtor e tentou convencê-lo a adotar a “nova variedade”. Nas demais localidades não se observou ainda nenhuma introdução desse híbrido.

Os agricultores familiares e suas associações são responsáveis pela manutenção de um patrimônio importantíssimo para a humanidade, que é a conservação das sementes de variedades tradicionais de várias espécies (Bevilaqua et al., 2007). Em Campo de Areia, o agricultor Sr. Joece guarda suas sementes de abóbora, de cultivo a cultivo, porém nos últimos meses têm trocado suas sementes tradicionais por sementes de outra cultivar, a abóbora Sergipana (Figura 3), que tem boa aceitação no CEASA – Centrais de Abastecimento do estado do Rio de Janeiro.

A maior parte das ações de coleta do gênero *Cucurbita* realizada na região Sudeste, se concentrou no estado de Minas Gerais. Em geral, as regiões visitadas se caracterizaram por praticarem a agricultura tradicional, com uso de variedades locais há muitos anos. Relatos indicam que sementes são conservadas pelas famílias há mais de 40 anos. Em muitas áreas, mesmo em propriedades de médio e grande porte, se mantém o cultivo de variedades tradicionais. A produção é voltada para o consumo da própria família, com o excedente sendo comercializado nas feiras livres e em mercados locais (Ferreira et al., 2006).



Figura 3. Registro de produtor de abóbora da localidade de Campo de Areia, no Norte do estado do Rio de Janeiro que está fazendo substituição da sua variedade local pela abóbora comercial Sergipana, mostrada na fotografia. À esquerda, de camisa rosa, o Sr. Joece e à direita o engenheiro agrônomo da EMATER-Rio, escritório de Campos dos Goytacazes - RJ. 2009.

4.1.2 Segunda coleta

A segunda viagem de coleta abrangeu o Projeto de Assentamento Oziel Alves e as localidades de Caboios; Retiro, São Sebastião, Canal das Flechas e Vila Manhãs.

O abandono de propriedades nas regiões visitadas marcou o segundo dia de coleta. No Assentamento Oziel Alves e na Vila Manhãs constatou-se o quadro de abandono mais marcante. Ressalta-se que esses assentamentos estão

localizados próximos do centro urbano de Campos dos Goytacazes. Muitos dos assentados nestes projetos nunca tiveram qualquer contato com a atividade agrícola, sendo basicamente cidadãos tradicionalmente urbanos.

No Brasil, o declínio da atividade camponesa teve como resultado uma forte redução da população rural que vem declinando, especialmente a partir da década de 80. Em 2000, a população urbana representava mais de 81% da população total do País. No Estado do Rio de Janeiro, talvez o de mais intensa urbanização no Brasil, estes números são ainda mais acentuados: cerca de 95% da população reside em áreas urbanas, sendo que 76% dela concentra-se na região metropolitana do Rio de Janeiro (Teixeira, 1998).

Entretanto, no Assentamento Oziel Alves foi encontrada uma lavoura de abóbora com aproximadamente um hectare (Figura 6). O agricultor Sr. João Manoel e sua esposa cultivavam nessa área três tipos comerciais de abóbora: *Sergipana*, *de Pescoço* e *Baianinha* e a comercialização era feita diretamente com uma rede de supermercados no município de Campos dos Goytacazes, RJ. As sementes foram inicialmente adquiridas em lojas de produtos agropecuários. Entretanto, a partir de então as sementes vêm sendo produzidas pelo agricultor. A esposa do agricultor afirmou que o plantio da abóbora requer “sorte”, devido ao ataque constante de pragas, como a lagarta e mosca-branca e que o uso de produtos químicos também encarece o produto.

As áreas cultiváveis de São Sebastião e São Martinho tornaram-se, na sua maioria, campos verdes de pastagens. De acordo com o engenheiro agrônomo José Roberto Pereira da Silva, há aproximadamente dois anos em visitas feitas a essas localidades, ainda havia agricultores familiares que plantavam hortaliças comercialmente. Além da pecuária, a indústria da cerâmica, que provocou erosão em algumas áreas, o plantio da cana-de-açúcar e do aipim ocuparam os espaços anteriormente plantados com abóbora. As variedades locais cultivadas e mantidas por esses produtores foram perdidas, pois, na época, não houve preocupação e nem a oportunidade de coleta desse material.

O quadro supramencionado assemelha-se ao das demais regiões visitadas na viagem para a segunda coleta. Em Caboios existem grandes áreas de abacaxi, além da cana-de-açúcar e de aipim. As causas para o abandono tanto das propriedades como do cultivo de hortaliças, segundo o agrônomo, deve-se, principalmente ao ataque de pragas e doenças; fatores climáticos (altas

temperaturas, chuvas irregulares); a indústria de cerâmica e da proximidade de centros urbanos. Chuvas intensas, do mês de abril/2008, inundaram propriedades rurais em zonas de risco. Em Retiro e em Caboios as atividades no campo ainda não normalizaram, devido a essas enchentes. A perda de lavouras desestimula os agricultores que precisam recomeçar e provoca, em muitos casos, o êxodo rural.

Contudo, na região de Caboios ainda existem agricultores familiares que cultivam hortaliças como a Sr^a. Dilma Maria da Costa Rodrigues, feirante da Feira da Roça. Em uma área pequena ela cultivava dois tipos de abóbora: abóbora de pescoço e sergipana, que servem para o próprio consumo e para comercialização. As sementes utilizadas para o plantio foram retiradas de frutos adquiridos em feiras e a agricultora as mantém. No Canal das Flechas encontraram-se plantas de abóbora no quintal da Sr^a. Mônica Nunes Sales. As aboboreiras eram provenientes de sementes retiradas de um fruto comprado pela dona de casa e a produção era para subsistência.

Mais de 75% da produção de hortaliças no Brasil é proveniente de agricultura familiar (Camargo Filho e Mazzei, 2001). No estado do Rio de Janeiro existe um alto percentual de estabelecimentos agrícolas ocupando pequenas áreas, com predomínio da “produção familiar”, sendo geridos na sua maioria pelos próprios proprietários (Casseres et al., 2006). A agricultura familiar corresponde por quase 60% da produção de alimentos do Estado do Rio de Janeiro (Manzzato et al., 1999), o que demonstra a importância deste segmento na agricultura do estado.

4.1.3 Terceira coleta

Na terceira expedição de coleta quatro locais foram visitados que corresponderam a diferentes assentamentos: os Projetos de Assentamento (P. A.) Zumbi dos Palmares I, II, III e IV.

Nesses quatro projetos de assentamento observaram-se grandes áreas cultivadas com cana-de-açúcar, aipim, banana e coco. Algumas propriedades eram particulares e outras propriedades arrendadas.

No Assentamento Zumbi IV identificou-se a agricultora Sr^a. Maria Rita Tomaz, aposentada, que cultivava com a ajuda do filho, abóbora e batata-doce, entre outras hortaliças e também fruteiras como laranja, limão, mamão para

consumo próprio. Segundo a agricultora, as dificuldades que surgem com a idade impedem a continuidade das atividades agrícolas e os filhos mais jovens, que poderiam manter as tradições, não pretendem permanecer cultivando a terra. As sementes utilizadas pela agricultora foram retiradas de um fruto comprado em mercado.

O Sr. Amaro Ribeiro Filho, morador de São Luís de Mutuca que cultiva abóbora há cerca de cinco anos, possui algumas aboboreiras em consórcio com abacaxi na margem da lavoura de aipim. As sementes utilizadas são de cultivares comerciais, como a abóbora Sergipana. Os frutos são comercializados por meio de intermediários.

Nesses projetos de assentamento foi encontrado um tipo de “abóbora”, popularmente chamada de abóbora d’água (*Lagenaria siceraria*), que não é comercializada pelos produtores servindo apenas para o próprio consumo (Figura 4).



Figura 4. Frutos de abóbora d’água (*Lagenaria siceraria*) coletados no Projeto de Assentamento Zumbi IV. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

Quanto aos motivos alegados pelos agricultores para a preferência por não cultivar de forma comercial as aboboreiras, foram os mesmos argumentados

pelos demais produtores nas outras localidades já visitadas: baixo valor do produto, ataque severo de pragas e doenças, alto custo no manejo.

4.1.4 Quarta coleta

As seguintes localidades foram visitadas na quarta coleta: Projeto de assentamento. Novo Horizonte; Batatal; Fazenda Aleluia; Cambucá; Rio Negro, e Baianos.

Embora essas localidades apresentassem aparente potencial para o cultivo de hortaliças, dentre outras culturas, existiam poucas áreas cultivadas, e na sua maioria as áreas eram de cana-de-açúcar e banana, por exemplo, prevalecendo mesmo a atividade pecuária. Os agricultores entrevistados estavam desestimulados devido à dificuldade de escoamento, condições edafoclimáticas, pragas e doenças.

Durante a visita, encontrou-se apenas um agricultor, o Sr. Silvio (P.A. Rio Negro), que possuía uma lavoura comercial de abóbora em fase inicial. As sementes utilizadas para o plantio foram adquiridas em uma casa de produtos agropecuários, a venda era feita por meio de intermediários.

De fato existe uma falta de “tradição” dos agricultores assentados no plantio de algumas hortaliças, decorrente da facilidade de aquisição, da ausência do hábito alimentar e, principalmente, das dificuldades para o escoamento do produto, visto que algumas propriedades são de difícil acesso e estão localizadas em pontos distantes dos pontos de venda. É importante frisar que, as áreas muito baixas dessas regiões estão expostas a alagamentos, o que torna inviável o plantio em períodos de chuvas intensas. A Sr^a. Francisca, assentada do Batatal, esperava em parceria com seus 11 filhos fazer plantio ainda no começo do primeiro semestre de 2008, mas além do alagamento provocado por fortes chuvas recentes, faltou o incentivo de órgãos públicos no envio do trator para limpar a área, segundo a agricultora.

Geralmente, as sementes de variedades tradicionais, encontram-se nas mãos de pequenos agricultores, assentados da reforma agrária, quilombolas e comunidades locais, que podem ser considerados os “guardiões das sementes”. Estas variedades vêm passando de geração em geração, submetidas a um processo de seleção local pelos agricultores, através de melhoramento voltado

para as necessidades locais, adaptadas ao clima e solos (Belivaqua et al., 2007).

Apesar dessa ser uma região de remanescentes de quilombolas e assentados onde, de fato, esperavam-se encontrar alguns agricultores familiares tradicionais, produzindo hortaliças. Observou-se que os assentados entrevistados não plantam e não conservam suas sementes, especificamente de abóbora, pela facilidade de encontrar esses produtos no mercado. Aqueles que ainda possuíam algumas hortaliças plantadas no quintal usaram sementes de frutos comprados no mercado. De acordo com Medeiros e Leite (1999), somados todos os assentamentos do Rio de Janeiro, são cerca de 5.980 famílias, distribuídas em 54 núcleos. A maior parte destes núcleos concentra-se na região Metropolitana e Baixada Fluminense e a localização e a crescente urbanização destas áreas exerce grande influência nas características e desempenho dos sistemas de produção destas comunidades, refletindo-se principalmente no elevado percentual de assentados que não se dedicam a atividades agrícolas.

4.1.5 Quinta coleta

Na quinta coleta visitou-se apenas a localidade de Morro do Coco. Nessa localidade encontraram-se as maiores áreas comerciais de plantio de abóbora. Entretanto, os acessos cultivados eram comerciais como a abóbora Sergipana e Caravela. Contudo não eram acessos uniformes. Os agricultores dessa região mantêm o costume de troca de sementes entre eles e realizam seleção dos melhores frutos nas áreas cultivadas para o próximo plantio. Assim como nos demais pontos visitados durante a coleta, os agricultores do Morro do Coco também sofrem com a forte incidência de pragas.

4.1.6. Sexta coleta

No último dia de coleta, retornou-se a São João da Barra, localidade já visitada, com o intuito de encontrar os agricultores da feira da roça. Os agricultores da feira da roça encontrados possuíam plantas de abóbora que serviam para o próprio consumo e as sementes semeadas eram provenientes de frutos comprados em estabelecimentos comerciais. Devido à dificuldade de transporte eles alegaram que optam por cultivar hortaliças com menor peso e que

ocupam menos espaço, tanto no campo quanto na hora do transporte.

Os depoimentos dados por antigos agricultores dessa região, que possuíam grandes lavouras de abóbora, relatam que o plantio comercial desta cultura foi abandonado devido à incidência de pragas, como a mosca-branca e que alguns materiais que eram cultivados foram perdidos. Por outro lado, ainda existem muitos agricultores tradicionais que cultivam hortaliças com sementes próprias.

O resultado destas viagens de coleta em pontos diferentes de dois municípios da região Norte do Rio de Janeiro mostra que muitos produtores tradicionais de hortaliças, especialmente de abóboras, já abandonaram a atividade seja pelo baixo preço que o produto atinge no mercado; pela dificuldade de mão-de-obra; pela migração das novas gerações para as cidades, abandonando assim a propriedade de suas famílias; pela falta de estímulo, de apoio e assistência governamental. Com isso, é bastante provável que muitos acessos importantes em termos de rusticidade e adaptação aos locais de plantio tenham sido perdidos.

A falta de informação sobre novas práticas de manejo da cultura também foi notória durante as visitas realizadas. É provável que haja também falta de informação sobre os aspectos nutricionais da cultura e também sobre diferentes modos de preparar as abóboras já que alguns produtores alegaram que não tem o costume de consumir essa hortaliça. Deve-se registrar também a ausência de órgãos públicos ou mesmo privados de assistência técnica nas localidades visitadas, embora alguns produtores admitissem adquirir sementes em lojas de produtos agropecuários. Apesar da aquisição de sementes em mercados, houve também a identificação de que os produtores adquirem as sementes uma vez e posteriormente passam a selecionar algumas plantas para o próximo plantio. Como se trata de uma planta alógama há possibilidade de que essas seleções resultem, no futuro, em plantas mais adaptadas aos locais de plantio.

Outro fato importante que resultou na diminuição e em alguns casos no abandono do plantio de abóboras foi a presença de doenças (não identificadas) e pragas, especialmente a mosca branca. Isso aponta a necessidade de adoção de práticas de manejo para controlar o inseto e do desenvolvimento de novos acessos com resistência a essa praga.

É importante ainda ressaltar que, o estado do Rio de Janeiro já foi um



grande produtor de café (Marafon, 2006), laranja, arroz, feijão (Melo, 2008) e mesmo abóboras e outras hortaliças. A falta de apoio e investimento governamental e a ocorrência de diversas pragas e doenças, problemas que não foram devidamente tratados, levaram à decadência dessas atividades no Estado.

Como muitos produtores também declararam comprar suas sementes em mercados locais decidiu-se por coletar frutos nesses mercados.

4.2 Coleta nos mercados locais

Trinta e três frutos de abóbora de diferentes formatos, cores e texturas foram encontrados nos mercados locais, podendo-se observar uma ampla variabilidade entre os frutos comercializados (Quadro 5). Os frutos disponíveis nesses mercados e feiras eram provenientes dos estados do Rio de Janeiro, do Espírito Santo e de Pernambuco (Figura 5). Entretanto, alguns frutos eram de origem desconhecida.






Quadro 5. Lista dos acessos coletados nos estabelecimentos comerciais do município de Campos dos Goytacazes, RJ. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Acesso	Nome comum	Nome científico	Local de coleta	Procedência	Fruto
1	Abóbora Japonesa	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti Frutas e Cia	Vitória - ES	
2	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti Frutas e Cia	Vitória - ES	
3	Abóbora Maranhão	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti Frutas e Cia	Vitória - ES	

Quadro 5, Cont.

5	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Mercado Municipal	Espírito Santo	
6	Abóbora Jacaré Cascuda	<i>Cucurbita moschata</i>	Mercado Municipal	Espírito Santo	
7	Abóbora Morango	<i>Cucurbita maxima</i>	Mercado Municipal	Desconhecida	
8	Abóbora Maranhão	<i>Cucurbita moschata</i>	Mercado Municipal	Vitória - ES	
9	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti Palmeira	Vitória - ES	
10	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti João e Maria	Campos dos Goytacazes - RJ	
11	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti João e Maria	Campos dos Goytacazes - RJ	
12	Abóbora Paulista	<i>Cucurbita moschata</i>	Supermercado ABC Compre Bem	Pernambuco	
13	Abóbora Baiana	<i>Cucurbita moschata</i>	Supermercado ABC Compre Bem	Pernambuco	






Quadro 5, Cont.

14	Abóbora Baiana	<i>Cucurbita moschata</i>	Supermercado ABC Compre Bem	Pernambuco	
15	Mini Abóbora Moranga	<i>Cucurbita pepo</i>	Hortifruti Frutas e Cia	Desconhecida	
16	Abóbora	<i>Cucurbita maxima</i>		Casimiro de Abreu - RJ	
17	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra - RJ	
18	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra - RJ	
19	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra - RJ	
20	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra - RJ	
21	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra - RJ	

Quadro 5, Cont.

22	Abóbora Moranga	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra – RJ	
23	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra – RJ	
24	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Record	São João da Barra – RJ	
25	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Rodoviária	São João da Barra – RJ	
26	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Rodoviária	Campos dos Goytacazes – RJ	
27	Abóbora Branca	<i>Cucurbita moschata</i>	Feira da roça da Rodoviária	São João da Barra – RJ	
28	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti das Palmeiras	Espírito Santo	
29	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Supermercado o Super Romão	Desconhecida	

Quadro 5, Cont.

30	Abóbora Maranhão	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti Hortiverde	Espírito Santo	
31	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti e abatedouro Campos III	Desconhecida	
32	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti e abatedouro Campos III	Desconhecida	
33	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Hortifruti Top de Linha	Vitória - ES	
34	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	-	São Francisco do Itabapoana - RJ	

A maior parcela de frutos comercializados nos mercados amostrados era proveniente do Rio de Janeiro, que correspondeu a 45,40% (Figura 6), demonstrando que, apesar do abandono da atividade agrícola e do plantio de abóbora verificada em algumas propriedades visitadas na região, o estado do Rio ainda é um importante pólo de produção de abóboras, pelo menos no que diz respeito ao abastecimento da cidade de Campos dos Goytacazes, município de porte médio com cerca de 426.154 mil habitantes (IBGE, 2007). Este fato deve ser considerado pelas entidades de pesquisa agropecuária do estado bem como por órgãos públicos na tomada de decisões sobre pesquisa e desenvolvimento, sobretudo quando se pensa na agricultura familiar, praticada em pequenas

propriedades, como é o caso do estado do Rio de Janeiro.

Deve-se observar também que dentre os 45,40% dos frutos produzidos no próprio estado, apenas 6,1% eram procedentes de Campos dos Goytacazes, porém, 93,70% eram provenientes de São João da Barra, município vizinho, que dista apenas 39 km de Campos. Isso demonstra a importância deste município na produção e abastecimento dos mercados de Campos dos Goytacazes, em relação às abóboras. Outra observação importante foi a de que todos os frutos oriundos de São de João da Barra eram apenas comercializados em feiras livres, as chamadas *Feiras da Roça*, que são realizadas por agricultores familiares do município. Também se registrou que nesse tipo de feira 6,3% dos frutos comercializados eram produzidos em Campos dos Goytacazes.

A produção de hortaliças, alimentos de alta perecibilidade, em regiões mais próximas aos locais de consumo é importante não apenas do ponto de vista econômico, já que o transporte encarece sobremaneira o preço final ao consumidor e é sempre um problema adicional para o produtor, mas também quando se considera a qualidade final do produto disponível na prateleira para o consumidor. Dessa forma, o consumidor final ganha em relação ao preço e à qualidade do produto a ser adquirido.



Figura 5. Variabilidade dos frutos de *Cucurbita* spp. coletados em mercados locais no município de Campos dos Goytacazes-RJ procedentes de diferentes localidades: (A) Campos dos Goytacazes - RJ; (B) Espírito Santo; (C) origem desconhecida; (D) São João da Barra - RJ e (E) Pernambuco. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

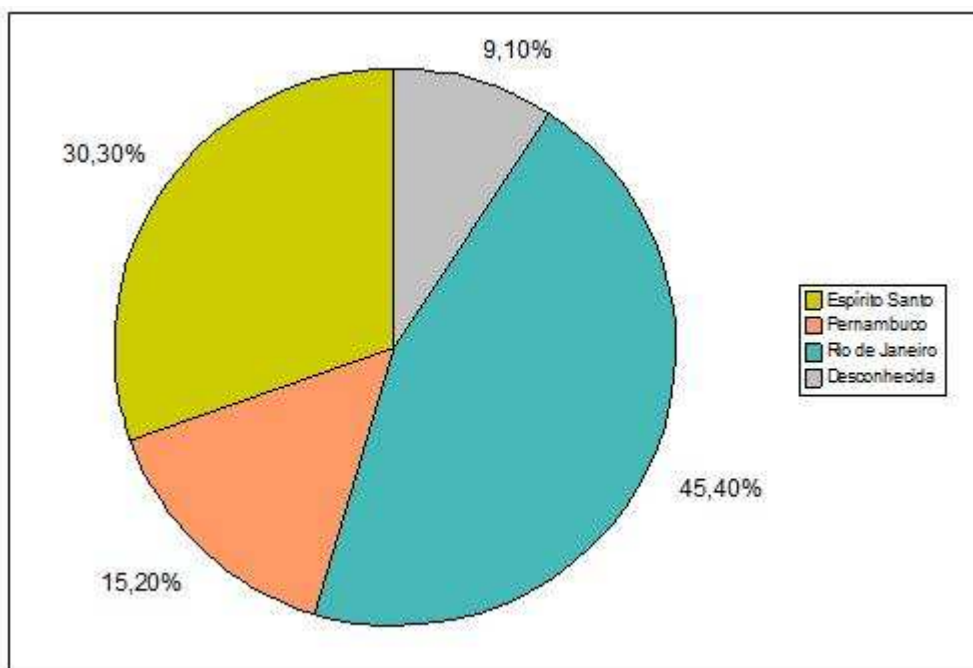


Figura 6. Procedência dos frutos de *Cucurbita* spp. coletados em mercados locais no município de Campos dos Goytacazes comercializados no período de janeiro a fevereiro de 2009. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

Nos estabelecimentos de maior porte visitados, como supermercados e hortifrutis, os frutos de abóbora eram provenientes do Espírito Santo, na sua maioria do município de Vitória. Às exceções constituíram-se do hortifruti *João e Maria*, cujos frutos eram oriundos de Campos dos Goytacazes, e do Supermercado *ABC Compre Bem*, que comercializava também frutos vindos de Pernambuco. O fato de que as maiores redes de estabelecimentos comerciais visitados distribuíram maior quantidade de produto vindo de outra região provavelmente implica em maior preço para o consumidor, além de deixar claro a dependência parcial desses mercados em relação aos produtores de outras regiões, como o caso do Nordeste, que podem estar mais bem organizados que aqueles das regiões próximas (Campos e São João da Barra).

No Espírito Santo, o segundo maior fornecedor para o município de Campos, os frutos de abóboras possuem diferentes denominações e são comumente chamados, por exemplo, de abóbora jacaré, maranhão, morango, de pescoço, paulista, japonesa, sergipana, comum, e jacaré cascuda.

Observou-se que os consumidores têm preferência pela compra do fruto inteiro. Dos estabelecimentos visitados 72,7% comercializavam o fruto apenas

inteiro e 27,3% comercializavam inteiro e em fatias. O preço de comercialização nesse período estava em torno de R\$ 0,99 a 12,90 por quilo. Verificou-se que o tipo de estabelecimento e sua localização influenciaram substancialmente na variação dos preços de comercialização. Frutos com algumas características externas atrativas, como coloração da casca e tamanho, podem ter valor diferenciado na comercialização assim como, a procedência contribui na elevação dos preços.

4.3 Caracterização morfoagronômica

4.3.1 Descritores qualitativos

Os 46 acessos (13 coletados nas propriedades rurais e 33 coletados nos mercados) formaram cinco grupos quando estudados com o uso dos descritores qualitativos pelo método UPGMA e por meio da matriz gerada pela distância de Cole-Rodgers obteve-se o agrupamento apresentado no dendrograma da Figura 7.

Apenas um acesso compôs o grupo I. Esse se diferenciou dos demais por possuir uma característica divergente, o formato da cicatriz circular, característica peculiar de frutos de *Cucurbita maxima*. Além disso, o acesso possuía cor da casca alaranjada escura, formato do fruto achatado com polpa amarela clara. A identificação das espécies de abóbora utilizando-se frutos é realizada com ênfase nas características do pedúnculo (Heiden et al., 2006). No ponto de inserção do fruto, o pedúnculo é de seção pentagonal, formando cinco lóbulos, em *Cucurbita moschata*; e em *Cucurbita maxima* a seção é circular (Filgueira, 2000).

O grupo II foi formado por dois acessos, que possuíam cor externa do fruto predominantemente verde, sem cor secundária, com formato achatado e de semente de cor esbranquiçada. O terceiro grupo, formado por 13 frutos coletados nas propriedades rurais, possuíam casca de textura lisa, polpa amarelo intenso e semente com borda de cor creme. Neste grupo foram alocados, ainda, dois acessos que possuíam casca de cor amarela, cor secundária da casca amarela intenso com textura levemente rugosa, sementes creme de bordadura amarronzada e formato elíptico.

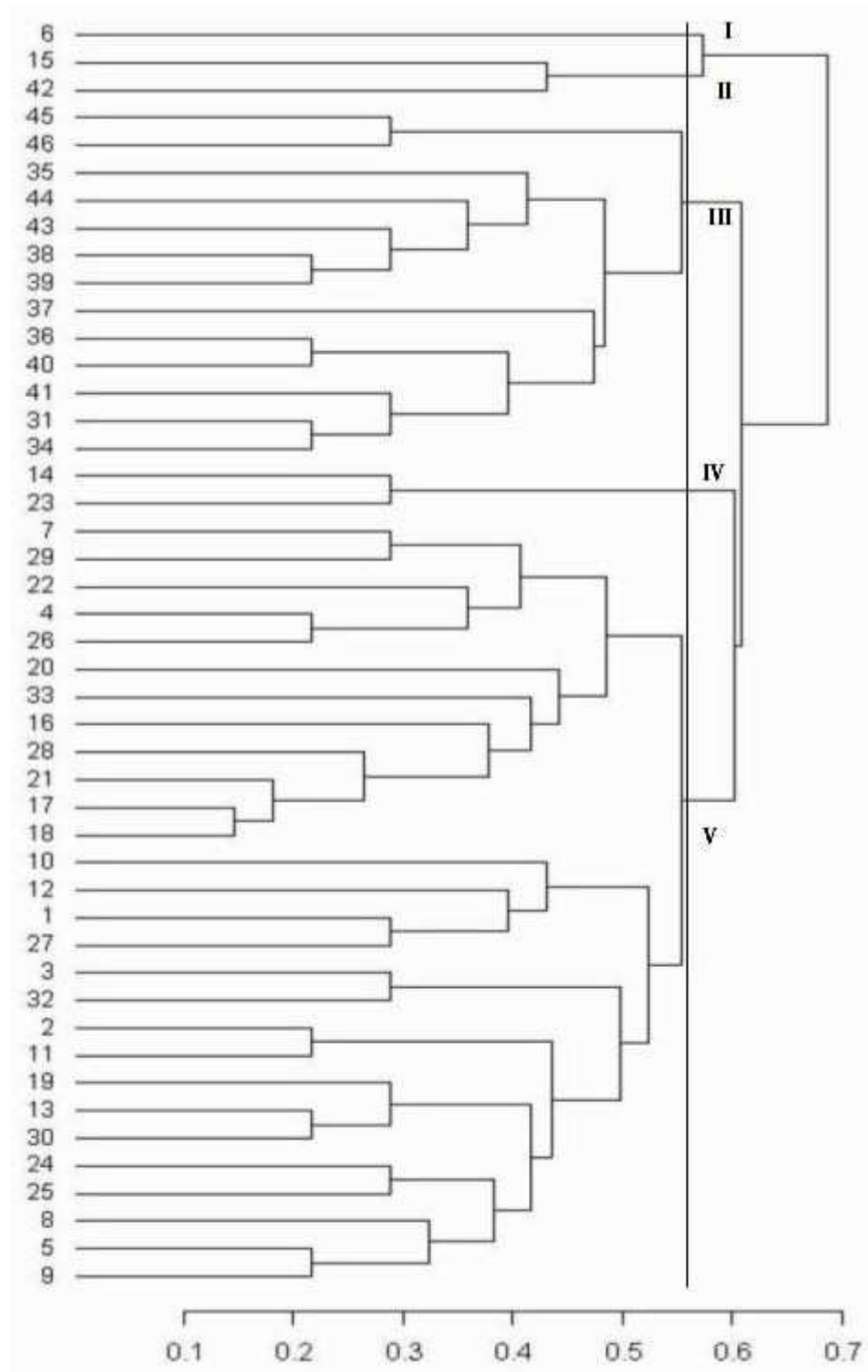


Figura 7. Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método hierárquico de médias ponderadas, com base em descritores qualitativos, entre 46 frutos de abóbora adquiridos em mercados locais e propriedades rurais na região Norte do estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

O dois frutos que compuseram o grupo IV possuíam cor da casca predominante amarela com cor secundária amarela intenso. O grupo V reuniu cerca de 60% dos acessos, todos procedentes dos mercados locais, dessa maneira optou-se pela subdivisão desse grupo. Doze acessos compuseram o grupo V.A, no qual 83,4% possuíam cor externa predominantemente creme, e sem cor secundária (75%). Neste grupo, a maioria dos acessos possuía formato piriforme e suas sementes tinham cor creme com bordas de cor amarronzada e superfície levemente rugosa. No grupo V.B, formado por 15 acessos, os frutos possuíam cor de casca variando entre verde a verde acinzentada com cor secundária creme, polpa alaranjada avermelhada e as sementes possuíam cor creme e formato elíptico.

Os caracteres que mais contribuíram para a diferenciação dos grupos foram a cor predominante e secundária da casca, a cor da polpa (Figura 7) e o formato da cicatriz, enquanto que, os caracteres que menos contribuíram foram o formato do fruto e a textura da casca.



Figura 8. Cor da polpa em frutos de abóbora coletados nos mercados locais no município de Campos dos Goytacazes: (A) amarela, (B) Alaranjada e (C) Alaranjado intenso. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

4.3.2 Descritores quantitativos

Observou-se pelo método Singh (1981) que o caráter mais importante para discriminação dos acessos foi o número de sementes (99,4%). Para confirmar a importância desse caráter, foi realizada uma nova análise desta feita com a retirada desse descritor. Uma vez retirado, os caracteres que mais contribuíram para a divergência foram hierarquicamente: o comprimento do fruto

(38,5%); a espessura da polpa peduncular (21,9%); o diâmetro do fruto (9,4%); o comprimento da cavidade interna do fruto (8,6%); o peso de 100 sementes (8,2%), e o diâmetro da cavidade interna do fruto (5,8%).

Ramos et al. (2000) analisando germoplasma de abóbora procedentes de diferentes regiões do Nordeste, observaram que os caracteres mais importantes à variabilidade foram: comprimento médio da semente, diâmetro maior do fruto, comprimento médio do fruto, nó de surgimento da primeira flor masculina, diâmetro médio do caule, número médio de dias pra antese da primeira flor feminina, comprimento médio do internódio, peso médio do fruto, sólidos solúveis totais e número de sementes/grama.

A correlação cofenética foi de 0,81 para a associação entre a matriz de distância e o dendrograma das variáveis quantitativas. Assim, estima-se que houve um bom ajuste entre as matrizes originais de distâncias e as derivadas das distâncias gráficas, de acordo com Sokal e Rohlf (1962), que propuseram que esse ajuste adequado é avaliado pelos valores de correlação cofenética superiores a 0,80. Para a determinação dos grupos do dendrograma, foi realizado um corte a distância de 1,2, proporcionando a formação de cinco grupos (Figura 9).

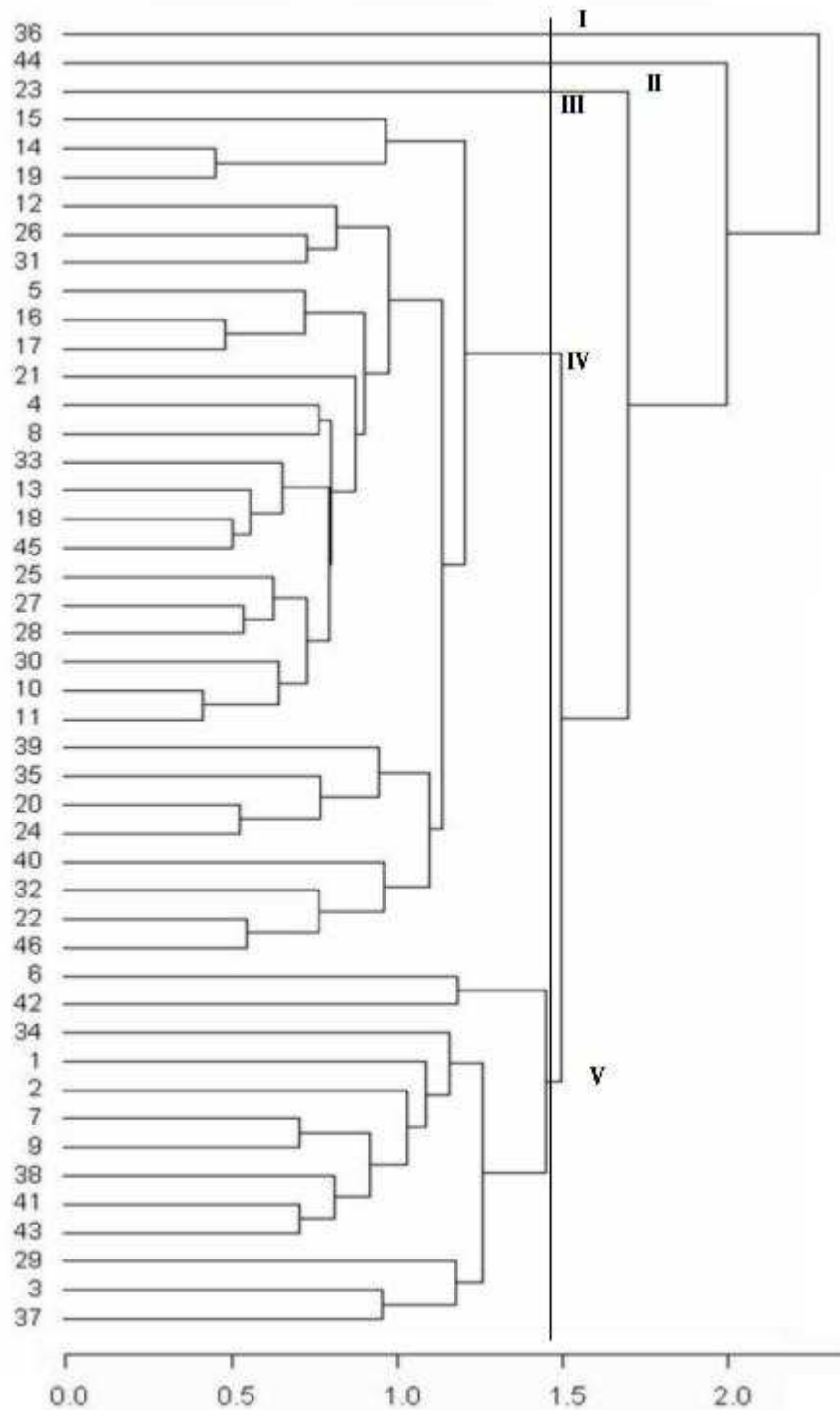


Figura 9. Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método hierárquico de médias ponderadas, com base em descritores quantitativos, entre 46 frutos de abóbora adquiridos em mercados locais e propriedades rurais na região Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

No grupo I observou-se apenas um acesso, o que teve maior comprimento de fruto (63,75 cm) e espessura de polpa peduncular (41,3 cm). Esta abóbora é comumente conhecida como *abóbora de pescoço* e foi coletada no Projeto de Assentamento Oziel Alves, propriedade rural (Figura 10).



Figura 10. Fruto de abóbora (*Cucurbita moschata*) coletado no Projeto de Assentamento Oziel Alves agrupado isoladamente através de 17 descritores quantitativos. Campos dos Goytacazes - RJ. 2009.

O grupo II também foi constituído por apenas um fruto, procedente de uma propriedade rural localizada em São Luis de Mutuca, que teve o maior peso de fruto (9,15 kg), maior diâmetro da cavidade (20 cm) e a maior espessura de casca comparada com os demais (5,1 cm). O fruto possuía características desejáveis ao melhoramento da cultura como a rusticidade conferida pela casca espessa, entretanto o maior diâmetro da cavidade em detrimento da espessura da polpa apresenta-se como um aspecto negativo. Enquanto que, no grupo III foi agrupado um fruto coletado na feira da roça pesando 3,99 kg, com 20 cm de diâmetro e 18,5 de comprimento de fruto. Esse acesso possuía somente uma característica divergente aos demais frutos, menor diâmetro da cavidade interna do fruto (3,5 cm).

O quarto grupo reuniu o maior número de genótipos, totalizando 65,2%, ou seja, 30 acessos. Este grupo caracterizou-se por uma alta variabilidade intra grupo para as características avaliadas. Nesses casos, a subdivisão deste grupo

é recomendada. A técnica de agrupamento minimiza a variabilidade dentro do grupo. Entretanto, se a estimativa de distância entre pares de indivíduos dentro do grupo é de elevada magnitude, justifica-se o subagrupamento (Abreu et al., 2004).

O subgrupo IV.A foi constituído por três acessos (15,14 e 19) que possuíam menor peso de fruto, variando de 0,21 a 0,47g. Já o subgrupo III.B, onde agrupou-se 19 acessos, teve um peso médio de 1,82kg, com uma amplitude de 0,85 a 2,64 para esse caráter, e uma média de 8,26° Brix.

No subgrupo IV.A e IV.B ficaram alocados frutos provenientes dos mercados locais e das propriedades rurais. Nota-se que existe uma tendência comercial para frutos de peso variando de 1,0 a 2,0 kg (Ramos et al., 1997). Os frutos nesta faixa de peso facilitam o acondicionamento e o transporte, podendo ser armazenados em condições naturais pelo consumidor, e ainda ser preparado em uma única refeição (Peixoto, 1987). Por outro lado, há preferência por frutos maiores que são comercializados em fatias ou microprocessados em supermercados. Esses frutos são também utilizados por fábricas de doces e para a alimentação de animais domésticos (Ramos et al., 1997).

No subgrupo IV.C, formado por oito acessos, verificou-se que seis dos frutos agrupados tinham espessura de polpa que variavam de 12,7 a 22,7, e comprimento do fruto entre 22,4 e 34,2cm, constituindo-se em outro grupo de *abóboras de pescoço*. Para o teor de sólidos solúveis totais, neste subgrupo foram reunidos acessos com teores elevados, variando de 11,0 a 15,4° Brix. Assim como nos subgrupos IV.A e IV.B, no subgrupo IV.C acessos coletados nos mercados e nas propriedades rurais foram distribuídos conjuntamente.

No grupo V, constituído por 13 acessos, observou-se a reunião de frutos com maior amplitude para diâmetro (variando de 19,0 a 27,85 cm) e da cavidade interna do fruto (12,0 a 19,5 cm). Frutos com cavidade menor são desejáveis para produtores e consumidores uma vez que irão conferir maior rendimento em polpa, característica desejável pela sua importância na comercialização e industrialização dos frutos (Pedrosa, 1981).

Os acessos analisados foram bastante divergentes para as características estudadas, demonstrando ampla variabilidade fenotípica. Os estudos de diversidade associados a características morfoagronômicas indicam frutos com características promissoras para futuras seleções de genótipos em programas de melhoramento, possibilitando a escolha de genitores complementares e/ou

divergentes. Estes acessos podem ser trabalhados para atender as estratégias do melhoramento de plantas: médio teor de sólidos solúveis, baixo peso do fruto (inferior a 3 kg), dentro de uma tendência moderna de redução do tamanho das hortaliças, pela diminuição do número de pessoas na família, evitando-se o desperdício, além de menor cavidade interna e maior espessura de polpa.

4.4 Análise molecular

4.4.1 Marcador molecular RAPD

4.4.1.1 Produtos da amplificação

Da triagem inicial, foram utilizados 20 iniciadores (Tabela 6) que amplificaram 141 bandas no total, sendo 137 marcas polimórficas (97%) e apenas quatro marcas monomórficas (3%). Dessa forma, cada iniciador gerou, em média, 6,85 marcas polimórficas.

Gwanama et al. (2000) utilizaram 16 iniciadores de RAPD no estudo da diversidade genética entre 31 genótipos de *Cucurbita moschata*. Foram gerados, entre cinco e 13 fragmentos por iniciador, uma média de nove fragmentos por iniciador. No total, 144 fragmentos foram gerados dos quais 39 (23%) foram polimórficos.

Ferriol et al. (2003b) analisaram 19 acessos de *Cucurbita maxima*, dois de *Cucurbita ficifolia*, dois de *Cucurbita pepo*, dois de *Cucurbita moschata* e dois de *Lagenaria siceraria*. Dos 21 iniciadores utilizados os autores obtiveram 92 fragmentos, dentre estes 52, que correspondem a 57% foram polimórficos. Os iniciadores geraram de dois a 10 fragmentos por iniciador, uma média de 4,4 bandas.

Tabela 2. Iniciadores RAPD utilizados, número de marcas monomórficas e polimórficas geradas no estudo da diversidade genética entre 44 acessos de *Cucurbita* spp e um de *Lagenaria siceraria*. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Iniciadores	Marcas		Totais
	Monomórficas	Polimórficas	
OPA 10	0	11	11
OPB 17	1	6	7
OPH 20	1	6	7
OPL 18	0	7	7
OPK 07	0	9	9
OPG 17	0	12	12
OPN 04	0	4	4
OPAA 10	0	9	9
OPAA 12	0	8	8
OPAB 03	0	3	3
OPAB 10	0	6	6
OPAC 07	1	12	13
OPAD 10	0	5	5
OPAE 17	0	12	12
OPAE 19	0	5	5
OPAF 07	0	3	3
OPAF 16	1	4	5
OPAW 07	0	4	4
OPAW 09	0	6	6
OPAW 10	0	5	5
Total de bandas observadas	4	137	141

Os acessos de diferentes espécies, *C. moschata*, *C. maxima* e *C. pepo*, puderam ser discriminados pela presença ou ausência de determinados fragmentos amplificados pelo iniciador RAPD identificado por OPK 07 (Figura 11). Heikal et al. (2008) identificaram um iniciador RAPD, OPA 02, que separou espécies do gênero *Cucurbita* (*C. maxima*, *C. pepo* e *C. moschata*). Os resultados indicam que o marcador RAPD pode ser utilizado para detectar variação intra-específica e interespecífica entre espécies aparentadas (Ferriol et al., 2003b) e constata que a técnica RAPD pode fornecer variação suficiente e necessária para estudos de filogenia e melhoramento de plantas.

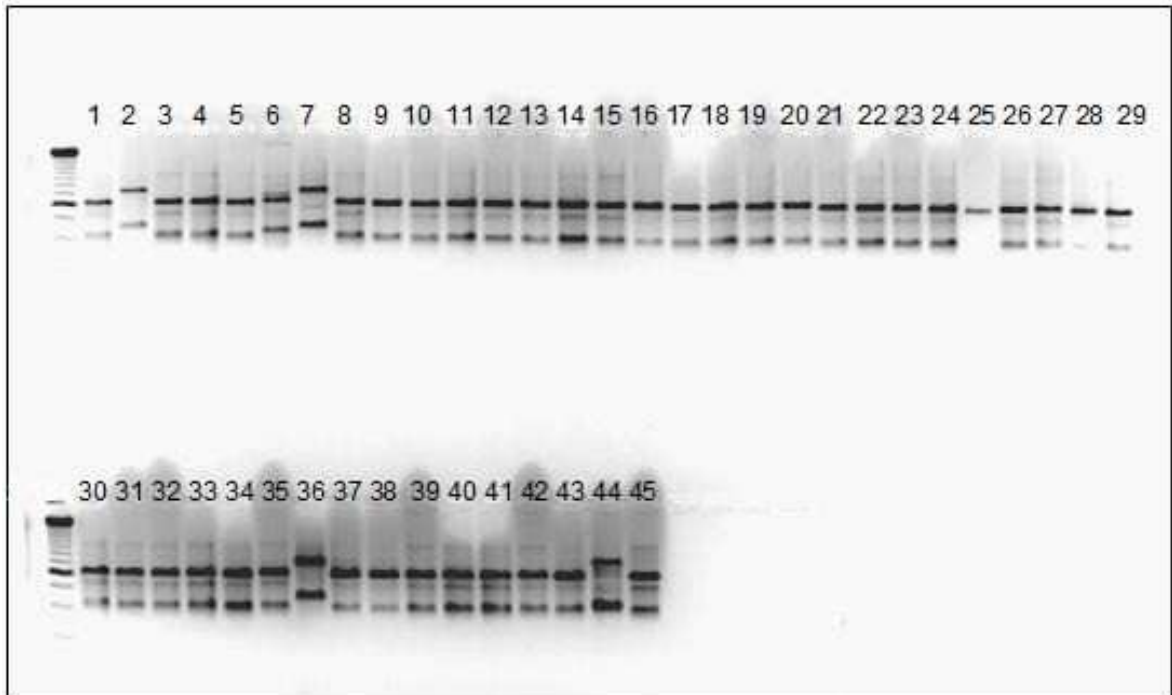


Figura 11. Fragmentos específicos para acessos de diferentes espécies de *Cucurbita* spp e *Lagenaria siceraria* gerados pelo *primer* OPK07: (01; 03 a 05; 08 a 35; 37 a 43 e 45) *C. moschata*; (06) *C. pepo*, (02;07 e 36) *C. máxima*, (44) *Lagenaria siceraria*. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

4.4.1.2 Diversidade Genética com base nos marcadores RAPD

A análise da matriz de dissimilaridade gerada pelo índice de Jaccard indicou que os acessos mais distantes foram o UENF 1852 e o UENF 1859, ambos procedentes dos mercados locais, cuja distância foi de 0,8795, enquanto os acessos UENF 1866 e UENF 1853, provenientes dos mercados locais, foram os mais similares, com uma distância de 0,4667. A distância média obtida entre os acessos foi de 0,7061 ($\pm 0,0658$).

O número ótimo de grupos, indicado pelo teste Pseudo T^2 , resultou na formação de oito agrupamentos, que correspondeu ao valor máximo de 2,6. Com base nesta estatística, o valor correspondente ao ponto máximo ou àquele imediatamente anterior é escolhido para determinar o número de grupos. Por isso, optou-se pelo valor anterior que preconizava a formação de nove grupos (Figura 12).

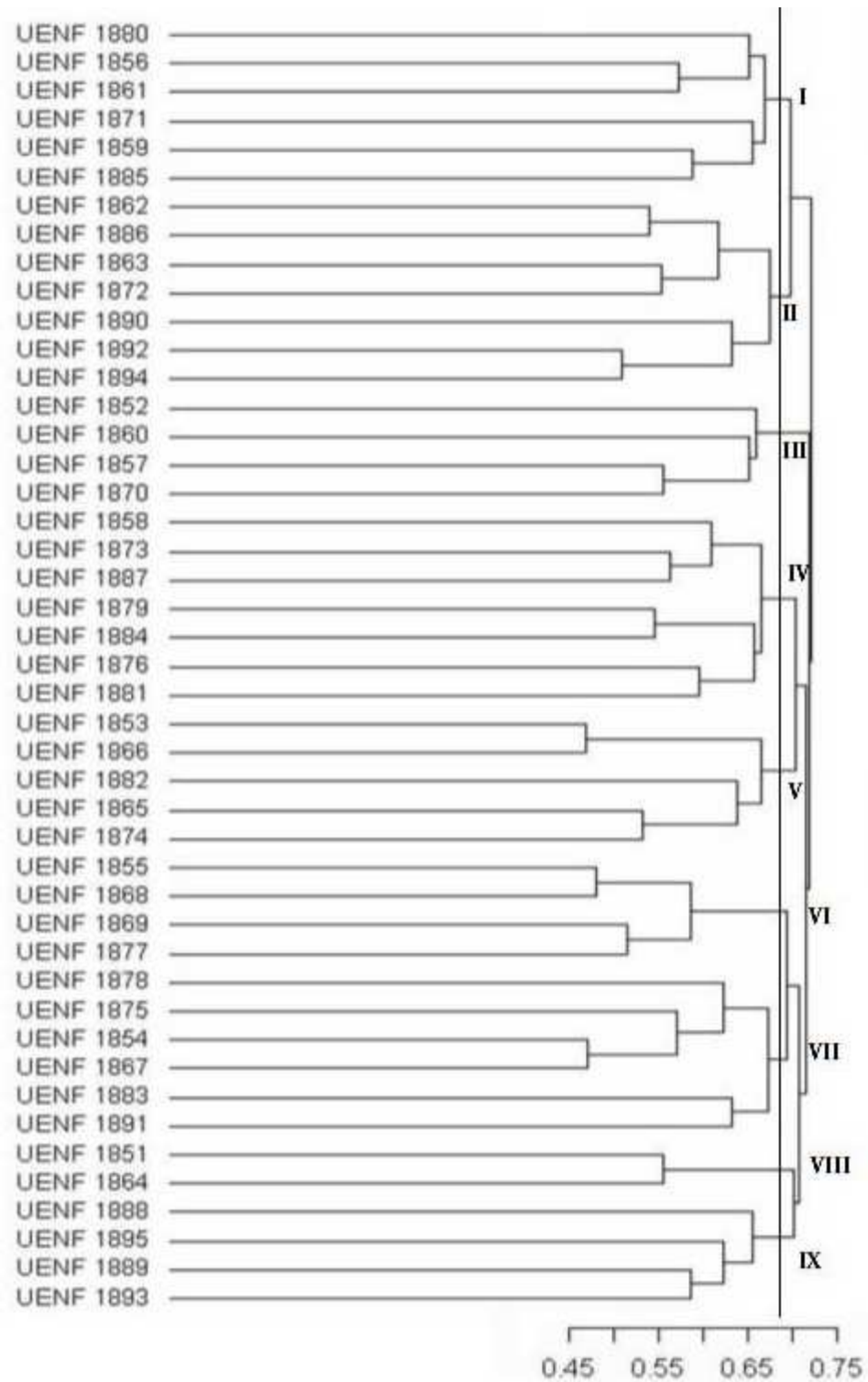


Figura 12. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético de Jaccard entre 45 acessos de *Cucurbita* spp., com base em 137 fragmentos polimórficos e 4 monomórficos amplificados pelo marcador RAPD. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

O grupo I, formado por seis acessos UENF 1880, UENF 1856, UENF 1861, UENF 1871, UENF 1859 e UENF 1885, registrou 59 bandas polimórficas (67,8% do total) e 28 fragmentos monomórficos. O único representante da espécie *C. pepo* desse estudo, o acesso 1856, foi agrupado junto com cinco acessos de *C. moschata* nesse grupo. Observou-se que os acessos UENF 1880 e UENF 1885, coletados nas propriedades rurais, são materiais comerciais, abóbora Sergipana, e foram alocados juntamente com acessos adquiridos nos mercados locais.

O grupo II foi constituído pelos acessos UENF 1862, UENF 1886, UENF 1863, UENF 1872, UENF 1890, UENF 1892 e UENF 1894. Com exceção do acesso UENF 1875, proveniente do município de São Francisco do Itabapoana, todos os demais acessos eram procedentes do município de São João da Barra. Registrou-se nesse grupo o polimorfismo mais elevado, com 110 bandas polimórficas, o que perfaz 95,6% do total de bandas e apenas cinco monomórficas (4,45%). Ressalta-se que nesse grupo ficaram reunidos acessos de diferentes espécies como *C. moschata* e *C. maxima* (UENF 1856).

No grupo III, 74,1% das bandas polimórficas (63 fragmentos), foram agrupados quatro frutos, dois acessos de *C. moschata* (UENF 1860 e UENF 1870) e dois de *C. maxima* (UENF 1852 e UENF 1857). Os quatro frutos foram coletados nos mercados locais, entre esses, dois eram de origem desconhecida (UENF 1852 e UENF 1870).

O quarto grupo reuniu os acessos UENF 1858, UENF 1873, UENF 1887, UENF 1879, UENF 1884, UENF 1876 e UENF 1881, possuía 68,75% bandas monomórficas (44 bandas). Dentre esses, apenas o acesso UENF 1858 era proveniente dos mercados locais (Feira da roça) enquanto os demais acessos foram coletados nas propriedades rurais.

Os acessos UENF 1853, UENF 1866, UENF 1882, UENF 1865 e UENF 1874 constituíram o quinto grupo. Dois acessos do grupo V, UENF 1882 e UENF 1874, eram procedentes das propriedades rurais enquanto que, os demais foram coletados nos mercados, porém foram produzidos no município de Campos dos Goytacazes. Registrou-se nesse grupo, 46 bandas monomórficas (67,60% fragmentos) e 22 bandas polimórficas.

O grupo seis, formado pelos acessos UENF 1855, UENF 1868, UENF 1869 e UENF 1877, possuía 67,80% fragmentos monomórficos (40 bandas) e 19

fragmentos polimórficos. Três acessos desse grupo, UENF 1855, UENF 1868 e UENF 1869, eram acessos provenientes dos mercados locais, enquanto que o acesso UENF 1877 foi coletado nas propriedades rurais.

O grupo VII reuniu os acessos UENF 1878, UENF 1875, UENF 1854, UENF 1867, UENF 1883 e UENF 1891 provenientes dos mercados locais (UENF 1854 e UENF 1867) e das propriedades rurais (UENF 1875, UENF 1878 e UENF 1883 e UENF 1891). Foram contabilizados 43 fragmentos monomórficos (82% bandas) e 21 polimórficos.

O acesso UENF 1851, procedente no Rio Grande do Sul, foi alocado no grupo VIII com o acesso UENF 1864, oriundo do município de São João da Barra, coletado nos mercados locais. O oitavo grupo registrou 82% de bandas monomórficas (50 fragmentos) e 11 bandas polimórficas. A cultivar Abóbora Baianinha (UENF 1895) foi incluída no grupo IX onde também ficaram os acessos UENF 1888, UENF 1889 e UENF 1893, coletados nas propriedades rurais. Um total de 47 bandas monomórficas foi computado e 15 bandas monomórficas.

Em uma análise mais geral, pode-se observar que os grupos I, III, VIII e IX reuniram acessos que produziram cerca de 70% de bandas polimórficas. Os demais grupos (IV, V, VI e VI) possuíam cerca de 30% de bandas polimórficas, em torno de 45 bandas monomórficas e 20 polimórficas, e foram os grupos com menor variabilidade genética intra grupo em relação aos demais grupos formados.

4.4.2 Marcador molecular ISSR

4.4.2.1 Produtos da amplificação

Utilizando-se os 15 iniciadores do tipo ISSR previamente selecionados (Tabela 3), foram contabilizados 137 produtos de amplificação. Obtiveram-se 126 bandas polimórficas (92%) e 11 monomórficas (8%). Em média, foram observadas 8,4 bandas polimórficas por iniciador (Figura 13). O número de fragmentos amplificados por iniciador variou de 3 a 13 (Tabela 3).

Heikal et al. (2008) utilizaram sete iniciadores do tipo ISSR para estudos de diversidade entre 14 genótipos de espécies do gênero *Cucurbita* (*C. moschata*, *C. pepo* e *C. maxima*) e obtiveram 263 fragmentos, dos quais 243 eram polimórficos (92,4%). Sendo assim, em média, foram 34,7 fragmentos

polimórficos por iniciador. Os mesmo autores identificaram fragmentos específicos para a espécie *Cucurbita pepo* amplificados pelos dinucleotídeos (CT)₈TG e (CA)₆AG. Nesse trabalho foram utilizados os mesmos iniciadores mencionados e não se verificou a presença ou ausência de fragmentos específicos para essa espécie. Entretanto, observaram-se fragmentos peculiares a espécie *C. pepo* assim como, para a *C. moschata* e *C. maxima*, a exemplo, com o iniciador (GA)₈T.

Tabela 3. Iniciadores de ISSR utilizados e o número de marcas monomórficas e polimórficas geradas no estudo da diversidade genética entre 44 acessos de *Cucurbita* spp. e um de *Lagenaria siceraria* coletados no norte do estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Iniciadores	Marcas		
	Monomórficas	Polimórficas	Totais
(AC) ₈ G	1	9	10
(AG) ₈ T	1	12	13
(AG) ₈ YT	2	8	10
(CA) ₆ GT	0	7	7
(CA) ₆ GG	0	6	6
(CA) ₆ AG	0	12	12
(CT) ₈ TG	0	3	3
(CT) ₈ AG	0	11	11
(CT) ₈ GC	1	5	6
DBD(AC) ₇	0	8	8
(GA) ₈ T	2	9	11
(GA) ₈ YC	2	10	12
VHV(GT) ₇ G	2	10	12
DD(CGA) ₅	0	10	10
GAG(CAA) ₅	0	6	6
Total de bandas observadas	4	137	141

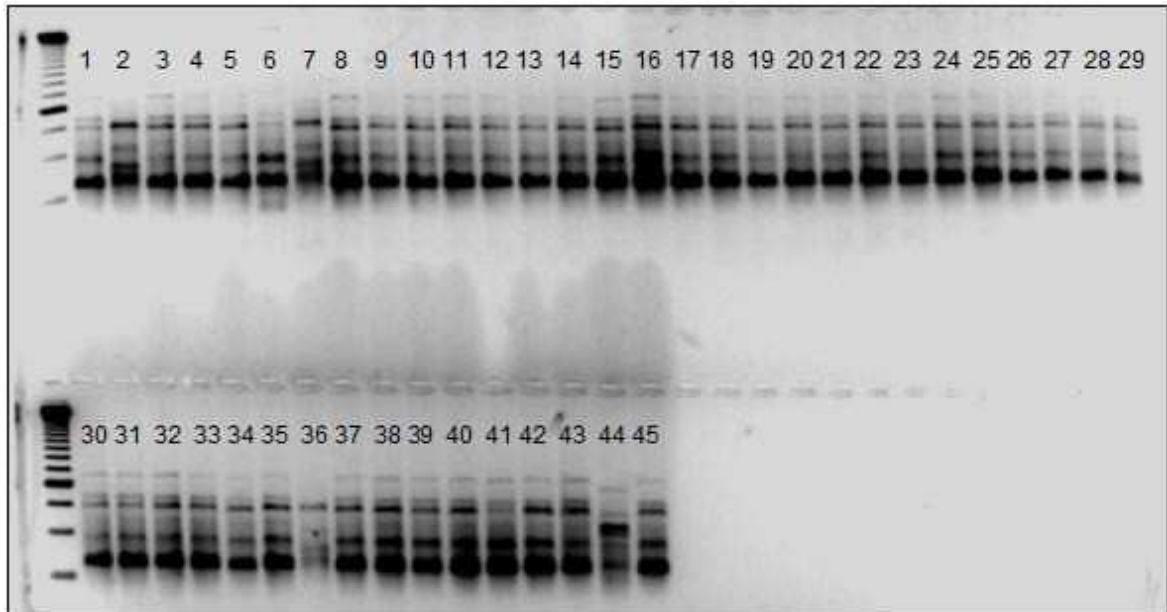


Figura 13. Polimorfismo dos 45 acessos de *Cucurbita* spp. e *Lagenaria siceraria* (44) coletados na região Norte do estado do Rio de Janeiro, obtido com o iniciador de ISSR (AG)₈G. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

4.4.2.2 Diversidade genética com base nos marcadores ISSR

Com base nos marcadores ISSR, os acessos foram distribuídos em 15 grupos (Figura 14). O índice de Dissimilaridade de Jaccard indicou que os acessos UENF 1876 e UENF 1878 eram os mais distantes, com valor de distância de 0,8211. A distância média entre os acessos foi de 0,5871 (\pm 0,0963). Os acessos UENF1885 e UENF 1890, UENF 1876 e UENF1881, assim como UENF 1887 e UENF 1892, tiveram distâncias mínimas entre si e foram considerados idênticos, fazendo-se supor a existência de possíveis duplicatas. Entretanto, este fato não foi observado nem pela caracterização morfológica, nem pelos marcadores RAPD que, ao contrário, evidenciaram diferenças marcantes no fenótipo e polimorfismo em termos de tamanhos de bandas.

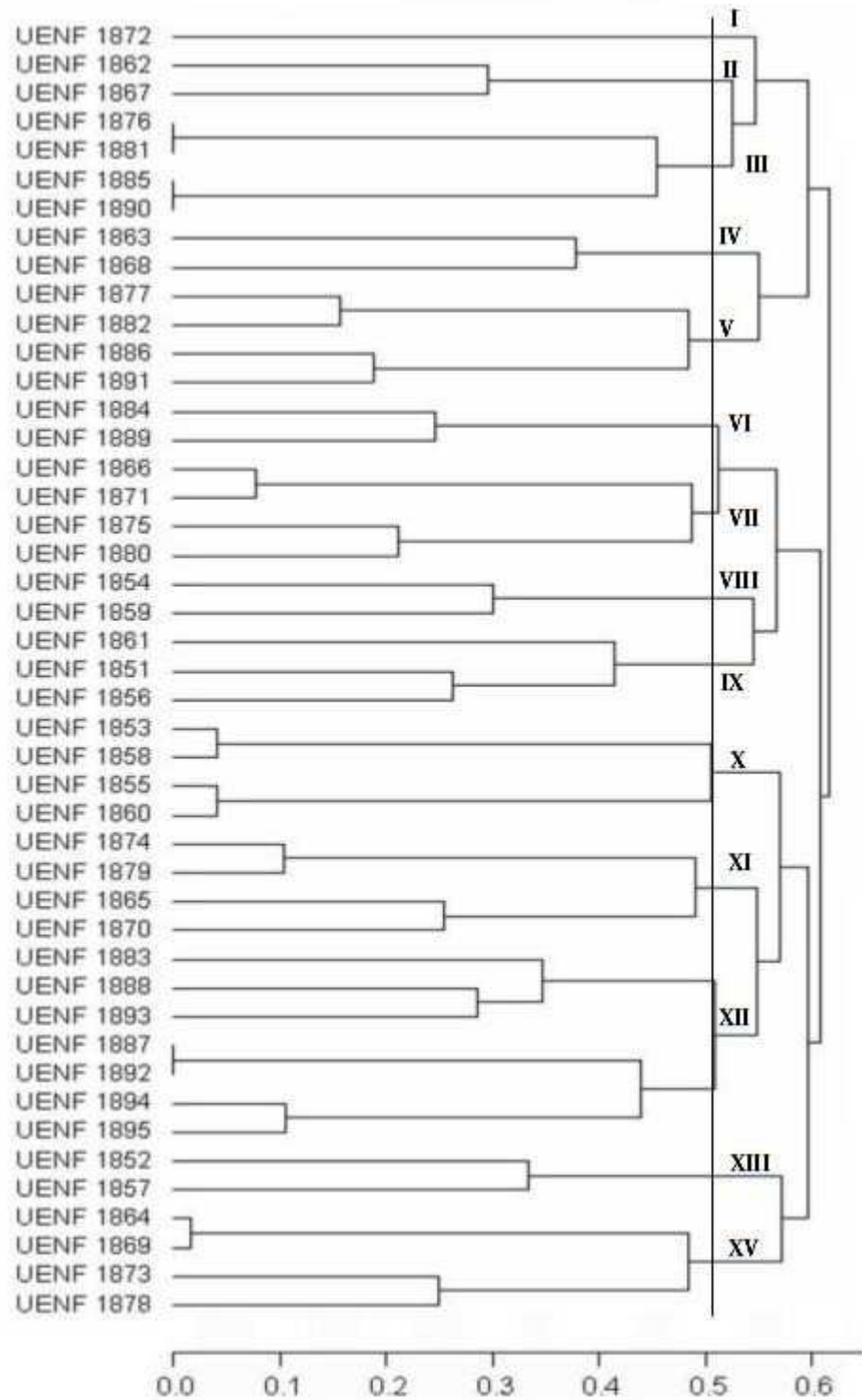


Figura 14. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético de Jaccard entre 45 acessos de *Cucurbita* spp., com base em 126 fragmentos polimórficos e 11 monomórficos amplificados pelo marcador ISSR. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

O grupo I foi constituído por um acesso, o UENF 1872, que possuía uma banda polimórfica em relação ao grupo II. Esse acesso era proveniente de uma propriedade localizada em São Francisco do Itabapoana. No grupo II foram agrupados os acessos UENF 1862 e UENF 1867, ambos coletados nos mercados locais e provenientes de São João da Barra. Os grupos I e II possuíam 98,3% fragmentos monomórficos.

No grupo III ficaram agrupados quatro acessos da espécie *Cucurbita moschata* identificados como duplicatas, UENF 1876 = UENF 1881 e UENF 1885 = UENF 1890. Registrou-se 98,3% de bandas monomórficas (58 fragmentos). O acesso UENF 1876, coletado em uma propriedade rural localizada no Projeto de Assentamento Oziel Alves – Campos dos Goytacazes - RJ, trata-se de uma abóbora *de pescoço* com peso de 4,93kg, 79,3cm de comprimento de fruto e 19,5cm de diâmetro. Entretanto, para o acesso UENF 1881 coletou-se apenas a semente, Baixa Grande – Campos, RJ. Os acessos UENF 1885 e UENF 1890 também identificados nesse estudo como duplicatas, apresentam alguns caracteres fenotípicos distintos (Figura 15) e, além disso, identificou-se a presença de um fragmento polimórfico entre estes.

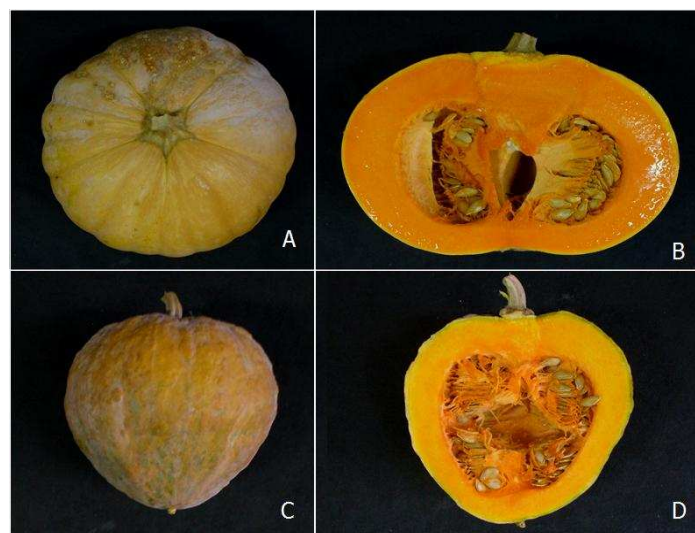


Figura 15. Acessos de abóbora identificados como duplicatas por meio do marcador molecular ISSR: (A e B) UENF 1890 e (C e D) UENF 1885. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009.

O grupo IV continha 3,4% de bandas polimórficas (2 fragmentos) e 57 fragmentos monomórficos. Os acessos UENF 1863 e UENF 1868, agrupados no

quarto grupo, eram procedentes dos mercados locais e eram materiais oriundos dos municípios de São João da Barra e Campos dos Goytacazes, respectivamente.

O acesso UENF 1886, da espécie *C. maxima* ficou agrupado no grupo V com três acessos de *C. moschata* (UENF 1877, UENF 1882 e UENF 1891). Esse grupo apresentou elevada variabilidade intra grupo devido ao alto número de bandas polimórficas geradas, 77% fragmentos polimórficos (70 bandas), decorrente do agrupamento de frutos de espécies diferentes, Todos os acessos distribuídos no grupo cinco foram coletados nas propriedades rurais.

Os acessos UENF 1884 e UENF 1889, ambos coletados em propriedades rurais do município de São João da Barra, constituíram o sexto grupo que possuía 58 fragmentos monomórficos (96,7%). Enquanto que, os agrupamentos VII e VIII continham 58 bandas monomórficas (98,3%). No grupo VII os frutos UENF 1866 e UENF 1871 adquiridos nos mercados locais foram agrupados em conjunto com os acessos UENF 1875 e UENF 1880, provenientes das propriedades rurais. No grupo oito foram alocados dois frutos: UENF 1854 e UENF 1859, ambos coletados em feiras livres.

Verificou-se que o acesso de *C. pepo* (UENF 1856) ficou alocado no grupo IX entre dois acessos de *C. moschata* (UENF 1861 e UENF 1851). Para tanto, nesse grupo observou-se a presença de 41,8% bandas monomórficas.

O décimo grupo reuniu os acessos UENF 1853, UENF 1858, UENF 1855 e UENF 1860. Todos os acessos desse grupo eram provenientes dos mercados locais, com exceção do UENF 1855, cuja origem era do estado de Pernambuco, e sua procedência dos municípios de São João da Barra (UENF 1858 e UENF 1860) e Campos dos Goytacazes (UENF 1853). Esse grupo tinha 56 bandas monomórficas (95%) e três polimórficas.

Nos grupos XI (UENF 1874, UENF 1879, UENF 1865 e UENF 1870) e XII (UENF 1883, UENF 1888 e UENF 1893) foram contabilizados 58 fragmentos monomórficos (98,30%) e um polimórfico. Os frutos agrupados nos dois grupos foram coletados em propriedades rurais.

Os acessos UENF 1887 e UENF 1892, indicados como materiais duplicados, foram agrupados no grupo XIII com os acessos UENF 1894 (*Lagenaria siceraria*) e UENF 1895 (cultivar Abóbora Baianinha). Esses frutos foram coletados nas propriedades rurais, exceto a cultivar Abóbora Baianinha.

Verificou-se que 69,5% das bandas eram polimórficas. Entre as duplicatas observou-se apenas uma banda polimórfica amplificada pelo iniciador dinucleotideo (GA)₈T.

No décimo quarto grupo ficaram agrupados dois acessos de *C. maxima*, UENF 1852 e UENF 1857. Esse grupo apresentou 47 bandas monomórficas (84% dos fragmentos). O grupo XV, formado pelos acessos UENF 1864, UENF 1869, UENF 1873 e UENF 1878, possuía 90% de bandas monomórficas (54 bandas). Os frutos UENF 1864 e UENF 1869 foram adquiridos em feiras livres enquanto que, os acessos UENF 1873 e UENF 1878 foram coletados nas propriedades rurais, mas, possuíam origem em comum, município de São João da Barra.

4.4.3 Comparação entre os marcadores RAPD e ISSR

Uma correlação de 0,047 foi encontrada entre as matrizes geradas pelos marcadores RAPD e ISSR (Tabela 7). O mesmo se observou para a correlação entre a matriz obtida para o RAPD e a matriz obtida para a combinação dos dados (RAPD + ISSR), que resultou em um valor de 0,048. Estes valores, próximos de zero, indicam que as matrizes geradas com os dados RAPD não se correlacionaram com aqueles gerados pelos marcadores ISSR. Uma provável explicação para este fato pode ser que os dois marcadores amostraram regiões diferentes do genoma e assim não houve concordância entre os dados. Em estudo com outra espécie de Cucurbitaceae, o melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.) a comparação de dados obtidos por RAPD e ISSR teve alta correlação ($r = 0,70$) (Behera et al., 2008). Neste trabalho, o número de acessos foi de 38 e estes foram coletados em várias regiões da Índia. Entretanto, antes da análise, os acessos foram autofecundados por três gerações antes da avaliação, ao contrário do que foi realizado no presente estudo, que se utilizou dos acessos coletados sem nenhuma etapa de autofecundação.

Baixos valores de correlação ($r = 0,20$) foram também observados por Ferriol et al. (2003b) quando compararam as matrizes obtidas por dados oriundos dos marcadores do tipo RAPD com SBAP (*Sequence-Based Amplified Polymorphism*).

Além dos acessos coletados oriundos do Rio de Janeiro, para a caracterização molecular foram inseridos nesse estudo, um acesso do Rio

Grande do Sul (UENF 1851), um do Espírito Santo e um de Pernambuco (UENF 1855) com o intuito de se observar, no agrupamento, um maior valor de distância em relação aos acessos do Rio de Janeiro, o que não ocorreu. O valor de distância entre os acessos de Pernambuco e Campos foi de 0,48, entre o do Rio Grande do Sul e campos foi de 0,55 assim como, entre o acesso do Espírito Santo e o de Casimiro de Abreu. Talvez isso se deva ao fato conhecido de que os produtores de abóbora mantêm a prática de troca e, como também foi constatado neste estudo, de compra de sementes em mercados, o que pode favorecer a menor diversidade genética entre os acessos plantados. Por exemplo, a abóbora conhecida pelos produtores como *sergipana* e cultivada pelos agricultores fluminenses, devido à sua boa aceitação no mercado, é proveniente do estado de Sergipe.

Tabela 4. Dados obtidos para dois tipos de marcadores de DNA na análise da diversidade genética entre 45 acessos de *Cucurbita* spp. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Características	Marcadores	
	RAPD	ISSR
Nº de iniciadores	20	15
Nº total de bandas	141	137
Bandas polimórficas	137	126
Bandas monomórficas	04	11
Média de bandas polimórficas por iniciador	6,85	8,40
Maior distância	0,88 (UENF 1859 e UENF 1852)	0,82 (UENF 1878 e UENF 1876)
Menor distância	0,47 (UENF 1866 e UENF 1853)	UENF 1885=UENF 1890 UENF 1876=UENF 1881 UENF 1887=UENF 1892
Distância média	0,71 ($\pm 0,06$)	0,60 ($\pm 0,09$)
Correlação de Pearson entre as duas matrizes	0,047	

Tanto com o uso do RAPD quanto do ISSR não foi possível fazer a separação em espécies dos acessos utilizados neste trabalho: um acesso de *C. pepo*, três de *C. maxima*, 40 de *C. moschata* e um de *Lagenaria siceraria*. Embora para alguns iniciadores do tipo RAPD algumas bandas diferentes fossem identificadas para *L. siceraria* estas não foram suficientes para manter esta espécie em um grupo separado. Talvez, com a utilização de um número maior de iniciadores esta diferença pudesse ser melhor visualizada. Entretanto, neste caso, para a separação deste acesso dos demais a simples observação fenotípica do fruto foi suficiente para garantir a diferenciação do material, indicando a importância de se fazer também uma caracterização morfológica dos acessos, conforme comprovado por Sudré et al. (2006) para o gênero *Capsicum*.

Gwanama et al. (2000) estudando a diversidade genética entre acessos de *C. moschata* provenientes de Zambia e Malawi, observaram que os acessos foram agrupados de acordo com a origem geográfica e o grau de melhoramento. Entretanto, Ferriol et al. (2003b) no estudo da diversidade genética entre acessos de *C. maxima*, *C. moschata*, *C. pepo*, *C. ficifolia* e *Lagenaria siceraria* não separaram os acessos de acordo com a origem ou com caracteres morfológicos quando utilizaram marcadores RAPD e SBAP. Para os marcadores SABP, que amplificam preferencialmente regiões codantes do genoma, os acessos foram separados de acordo com a forma de uso: ornamental, consumo humano e consumo animal.

O tipo de estudo biológico que o pesquisador pretende desenvolver tem impacto direto na escolha do marcador molecular apropriado. Se a análise de diversidade genética é voltada para a compreensão da relação genética no âmbito interespecífico, então regiões mais conservadas do genoma devem ser amostradas. Se, no entanto, a análise da diversidade genética é realizada entre indivíduos de uma mesma espécie, então, geralmente, regiões mais variáveis do genoma são amostradas (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Para os marcadores ISSR, observou-se a separação no grupo X de dois acessos da espécie *C. maxima*. Assim como, no RAPD estes dois acessos ficaram alocados em um mesmo grupo (Grupo III) entre dois acessos da espécie *C. moschata* (UENF 1860 e UENF 1870). O acesso UENF 1886 que possuía características botânicas da espécie *C. maxima* bem como, produtos de amplificação semelhantes aos dois acessos de *C. maxima*, para as duas análises,

ficou agrupado entre os acessos de *Cucurbita moschata*.

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), o RAPD amplifica sequências aleatórias no DNA, de maneira que quando duas espécies (ou variedades) são muito próximas, com genótipos muito semelhantes, as pequenas diferenças existentes neste genoma podem não ser marcadas em quantidades suficientes que permitam a individualização.

O acesso UENF 1856, da espécie *Cucurbita pepo* foi agrupado com acessos da espécie *Cucurbita moschata* na análise de RAPD. Com a utilização de marcadores RAPD. Ferriol et al. (2003b) também reuniram *C. pepo* e *C. moschata* no mesmo grupo. Já quando esses autores utilizaram marcadores SBAP os acessos de *C. pepo* ficaram no mesmo grupo que representantes de *Lagenaria siceraria*. Quando se considera outro marcador, os SSRs (*Simple Sequence Repeat*) foi observado que seqüências desenvolvidas para *C. pepo* e *C. moschata* mostraram um alta transferibilidade interespecífica ($\pm 90\%$). As sequências de SSR flanqueiam regiões altamente conservadas no genoma, representando possíveis locos ortólogos nestas duas espécies, o que possibilita uma estreita relação filogenética entre essas espécies (Gong et al., 2008).

A detecção de locos heterozigotos por meio de técnicas de marcadores co-dominantes poderia conferir grau de diversidade genética mais segura. Entretanto, considerando o tempo e o custo, a técnica RAPD tem se mostrado adequada para ser utilizada com variedades locais em vista do melhoramento de plantas (Gwnama et al., 2000).

5. RESUMO E CONCLUSÕES

As atividades de coleta e caracterização de germoplasma permitem resgatar e conhecer o potencial de variedades tradicionais, componentes da agrobiodiversidade, que sofrem pressão de substituição e conservá-las para posterior uso em programas de melhoramento. Este trabalho teve como objetivo coletar frutos e sementes de *Cucurbita* spp. na região Norte do estado do Rio de Janeiro em mercados locais, propriedades rurais; levantar informações quanto à origem dos frutos comercializados nos mercados e quanto ao perfil do produtor nas propriedades rurais; caracterizar os frutos coletados com base em descritores morfoagronômicos; caracterizar os acessos com base em marcadores moleculares do tipo RAPD e ISSR e quantificar a divergência genética entre os acessos

Por meio das atividades de coletas, observou-se que as variedades tradicionais do gênero *Cucurbita*, cultivadas na região Norte do estado do Rio de Janeiro, estão sofrendo risco de substituição e, portanto, de erosão genética. Aliada à substituição das variedades locais, está ocorrendo a perda dos saberes associados (erosão cultural), o conhecimento tradicional. Apesar disso, ainda pode-se detectar variabilidade genética entre os acessos coletados na região Norte Fluminense para as características morfoagronômicas avaliadas nos frutos e também quando se utilizaram marcadores moleculares dos tipos RAPD e ISSR.

Os marcadores do tipo RAPD foram mais eficientes em discriminar os acessos coletados, pois permitiu a identificação de distância genética para todos

os acessos testados. Já com o uso dos marcadores ISSR houve detecção de distância genética nula entre três pares de acessos, sugerindo a hipótese de duplicidade de material, o que foi descartado com base nas características fenotípicas e nos marcadores RAPD.

Acessos com características desejáveis ao melhoramento de plantas foram identificados e deverão ser incluídos em testes para uso futuro em programas de melhoramento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, F.B., Leal, N.R., Rodrigues, R., Amaral Junior, A.T; Silva, D.J.H. (2004) Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem de crescimento indeterminado. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 22(3): 547–552.
- Barbieri, R.L., Neitzke, R.S., Romano, C.M., Stumpf, E.R.T., Rodrigues, W.F., Correa, I.V., Heiden, G. (2008) Banco ativo de germoplasma de Cucurbitáceas do Sul do Brasil. In: Anais do II Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. p. 305.
- Barbieri, R.L., Heiden, G., Neitzke, R.S., Garrastazú, M.C., Schwengber, J.E. (2006) Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas da Embrapa Clima Temperado - período de 2002 a 2006. 1.ed. Pelotas, RS – Embrapa Clima Temperado, 30 p. (Embrapa Clima Temperado, Documentos, 176).
- Bevilaqua, G.A.P., Silva, S.D. dos A. e, Antunes, I.F., Barbieri, R.L., Galho, A.M., Bammam, I. (2007) Banco de sementes de variedades crioulas e tradicionais da agricultura familiar de clima temperado. *Rev. Bras. Agroecologia*, 2(1)
- Beaver, L.W. (2000) Evidence for the centre of diversity of *Cucurbita moschata* in Colombia. *Cucurbits Genetic Cooperative Report*, Madison, WI, 23:54-55.

- Behera, T.K., Singh, A.K., Staub, J.E. (2008) Comparative analysis of genetic diversity in Indian bitter melon (*Momordica charantia* L.) using RAPD and ISSR markers for developing crop improvement strategies. *Scientia Horticulturae*, 115: 209-217.
- Bezerra Neto, F.V., Leal, N.R., Costa, F.R., Gonçalves, G.M., Amaral Júnior, A. T., Vasconcellos, H.O., Miguel Mello, M. (2006) Análise biométrica de linhagens de abóbora. *Horticultura Brasileira*, 24: 378-380.
- Bisognin, D.A. (2002) Origin and evolution of cultivated cucurbits. *Ciência Rural*, Santa Maria, 32(5):715-723.
- Bornet, B., Branchard, M. (2001) Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol Biol Rep*, 19: 209–215.
- Caballero, L., Martin, L. M., Alvarez, J. B. (2007) Agrobiodiversity of hulled wheats in Asturias (North of Spain). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:267-277.
- Caetano-Anollés, G., Bassam, B.J., Gresshoff, P.M. (1991) DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Biotechnology*, 9: 553-556.
- Caili, F., Huan, S., Quanhong, L. (2006) A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant foods human nutrition*, 61:73-80.
- Camargo Filho W.P. e Mazzei A.R. (2001) Mercado de verduras: planejamento e estratégia na comercialização. *Informações Econômicas*, 31: 45-54.
- Camargo Filho, W.P., Mazzei, A.R., Alves, H.S. (2003) Mercado de abóboras nas cidades de São Paulo e Buenos Aires: oportunidades de expansão. *Informações Econômicas*, 33: 61-65.

- Cardoso, A.I.I., Silva, N. (2003) Avaliação de híbridos de pepino tipo japonês sob ambiente protegido em duas épocas de cultivo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 21(2): 170-175.
- Carvalho, L.P. de, Lanza, M.A., Fallieri, J., Santos, J.W. dos (2003) Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 38:1149-1155.
- Casali, V.W.D., Saturnino, H.M., Pedrosa, J.F. (1982) Botânica e origem das Cucurbitaceas *Informe Agropecuário*, 8: 22-23.
- Casseres, M.B., Lapido-Loureiro, F.E., Moraes, L.A.F. de (2006) A estrutura fundiária do estado do Rio de Janeiro: Uma abordagem sócio-econômica. XIV Jornada de Iniciação Científica – CETEM
- Cecilio Filho, A.B., Rezende, B.L.A., Canato, G.H.D. (2007) Produtividade de alface e rabanete em cultivo consorciado estabelecido em diferentes épocas e espaçamentos entre linhas. *Horticultura Brasileira.*, 25(1):15-19.
- Cerezo-Mesa, M., Esquinas-Alcázar, J.T. El germoplasma vegetal en los países del Cono Sur de América Latina (1986) *Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos*, Roma, 183 p.
- Chiorato, A.F. (2004) Divergência genética em acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo-IAC. Tese (Mestrado em Agronomia) – Campinas – SP, Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, 98p.
- Cole-Rodgers, P.; Smith, D.W., Bosland, P.W. (1997) A novel statistical approach to analyze genetic resource evaluations using Capsicum as an example. *Crop Science*. 37(3): 1000(3).
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J. (1997) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1997. 390 p.

- Cruz, C.D. (1990) *Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas*. Tese (Doutorado) – Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 188 p.
- Cruz, C. D. (2006) *Programa Genes: análise multivariada e simulação*. Viçosa: UFV. 175p.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v.2. 585p.
- Djé, Y., Tahi GC, Zoro Bi IA, Malice, M., Baudoin, J.P., Bertin, P. Optimization of ISSR for African edible-seeded Cucurbitaceae species' genetic diversity analysis. *African Journal of Biotechnology*, 5(2):83-87.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990) *Isolation of plant DNA from fresh tissue*. *Focus*, 2:13-15.
- Doni, M.E. Aspectos culturais do gênero *Cucurbita* relacionado com a produção de sementes. In: Muller, J.J.V., Casali, V.W.D. (1982) *Seminários de olericultura*, Viçosa: UFV, v.1, p.181-205.
- Embrapa Hortaliças (2007) <http://www.abhorticultura.com.br/News/Default.asp?id=798> em 12/10/07.
- Esquinas-Alcazar, J.T., Gulick, P.J. (1983) *Genetics resources de Curcubitaceaes*. Rome: IBPGR, 101 p.
- Faiad, M.G.R., Bustamante, P.G. (1999) Coleção de base: Conservação de germoplasma de cucurbitáceas a longo prazo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 17:32-33 (Suplemento).
- Fang, D.Q., Roose, M.L. (1997) Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theor. Appl. Genet.* 95: 408-417.

- FAO (1998). The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, 510p.
- Ferreira, M. E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3. ed. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 220 p.
- Ferreira, M.A.J.F. (2007) Abóboras, morangas e abobrinhas: estratégias para coleta, conservação e uso; http://www.infobibos.com/Artigos/2007_2/aboboras/Index.htm em 11/04/2007.
- Ferreira, M.A., Diniz, F. (2007) Rede de pesquisa vai incrementar a produção de cucurbitáceas em áreas de agricultura familiar e assentamentos; http://www.infobibos.com/Artigos/2007_3/cucurbitaceas/index.htm em 12/10/2007.
- Ferreira, M.A.J. da F., Melo, A.M.T. de, Carmo, C.A.S. do, Silva, D.J.H. da, Lopes, J.F., Assis, J.G. de A., Silveira, L.M. da, Queiróz, M.A. de, Moura, M. da C.C.L., Dias, R. de C.S., Romão, R.L., Barbieri, R.L., Ramos, S.R.R., Noronha, S.E. de (2007a) Diagnóstico sobre as condições de conservação on farm e distribuição de *Cucurbita* spp. no Brasil. *Horticultura Brasileira*, 25(1) (Suplemento).
- Ferreira, M.A.J. da F., Melo, A.M.T. de, Carmo, C.A.S. do, Silva, D.J.H. da, Lopes, J.F., Assis, J.G. de A., Queiróz, M.A. de, Moura, M. da C.C.L., Dias, R. de C.S., Romão, R.L., Barbieri, R.L.; Ramos, S.R.R., Noronha, S.E. de (2007b) Diagnóstico sobre as condições de conservação de ex situ de *Cucurbita* spp. no Brasil. *Horticultura Brasileira*, 25(1) (Suplemento).
- Ferreira, M. A. J da F., Melo, A. M. T. de, Carmo, C. A. S. do, Silva, D. J. H. da, Lopes, J. F., Assis, J. G. de A., Queiróz, M. A. de, Moura, M. da C. C. L., Dias, R. de C. S., Barbieri, R. L., Barroso, L. V., Gonçalves, E. N., Negrini, A. C. A. (2006) Mapeamento da distribuição geográfica e conservação dos parentes silvestres e variedades crioulas de *Cucurbita*. Parentes silvestres das espécies de plantas cultivadas. 44p. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Brasília: MMA, 2006.

- Fritsch, P., Rieseberg, L. H. (1992) High outcrossing rates maintain male and hermaphrodite individuals in populations of the flowering plant *Datisca glomerata*. *Nature*, 359: 633-636.
- Ferriol, M., Picó, B., Nuez, F. (2003a) Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theoretical Applied Genetics*, 107:271-282.
- Ferriol, M., Picó, B., Nuez, F. (2003b) Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SBAP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 227–238.
- Filgueira, F.A.R. (2000) *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, 402p.
- Giacometti, D.C. (1993) Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. *Anais Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de fruteiras nativas*. Cruz das Almas, BA: EMBRAPA CNPMF, p. 93-99.
- Gong, L., Stift, G., Kofler, R., Pachner, M., Lelley, T. (2008) Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. *Theoretical Applied Genetics*, 117:37-48
- Gonzaga, V., Fonseca, J.N.L., Bustamante, P.G., Tenente, R.C.V. (1999) Intercâmbio de germoplasma de cucurbitáceas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 17:06-09 (Suplemento).
- Guedes, A.C., Moreira, H.M., Menezes, J.E. (1988) Produção e importação de sementes de hortaliças no Brasil 1981-1985. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 141p. (Embrapa Hortaliças, Documento, 2).
- Gwanama, C., Labuschagne, M.T., Botha, A.M. (2000) Analysis of genetic variation in *Cucurbita moschata* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, 113: 19–24.

- Harlan, J.R. (1975) *Crop & man. Wisconsin*, American Society of Agronomy, 284 p.
- Heiden, G., Barbieri, R.L., Neitzke, R.S. (2007) Chave para a identificação das espécies de abóbora (*Cucurbita*, Cucurbitaceae) cultivadas no Brasil. Pelotas, Embrapa Clima Temperado. 31p. (Embrapa Clima Temperado. Documento, 197).
- Heikal, A.H., Abdel-Razzak, H.S., Hafez, E.E. (2008) Assessment of genetic relationships among and within *Cucurbita* species using RAPD e ISSR markers. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(5):515-525.
- Howes, C. (1981) Guidelines for developing descriptors lists. *Plant Genetic Resources Newsletter*, n. 45. p. 26-32.
- Hawkes, J. G. Germplasm collection, preservation, and use. In: FREY, K. J., ed. *Plant Breeding II*. Ludhiana: Kaliany Publishers, 57-83p.
- IBGE (2007) Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=1&i=P&e=1&c=495> em 05/09/07
- Kanno, T. (1990) *Breeding of Cucurbits*. s.n.t., s.ed., 30p.
- Kim, D.H., Zur, G., Danin-Poleg, Y., Lee, S.W., Shim, K.B., Kang, C.W., Kashi, Y. (2002) Genetic relationships of sesame germplasm collection as revealed by inter-simple sequence repeats. *Plant Breeding*. 121:259 – 262.
- KOKOPELI SEED FOUNDATION. Manual de sementes em português <http://www.kokopelli-seed-oundation.com/actu/new_news.cgi?idnews133> em 25/09/08.
- Lima, P.S.G. (2001) Divergência genética e efeito do nitrogênio total no crescimento *in vitro* de ipeca [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes]. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento de Plantas) – Lavras-MG,

Universidade Federal de Lavras, 83p.

- Loarce, Y., Gallego, R., Ferrer, E. (1996) A comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. *Euphytica*, Wageningen, 88:107-115.
- Lopes, J.A. (1991) Palestra de abertura. In: Simpósio brasileiro sobre Cucurbitáceas, 1990, Campo Grande. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 9:98-99.
- Luengo, R. de F.A., Parmagnani, R.M., Parente, M.R., Lima, M.F.B.F. (2000) Tabela de composição nutricional das hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças. 4 p. (Embrapa Hortaliças, Documento, 26).
- Manzzato, H.R.R. (1999) Desenvolvimento agrícola sustentável para a produção familiar rural e comunidades das microbacias hidrográficas do estado do Rio de Janeiro. Niterói, RJ: Pesagro - Ministério da Agricultura e Abastecimento (Relatório final de projeto). 44p
- Mafra, M.S.H., Floriani, G.S., Comunello, F.J., Amorim, C.C., Gúttler, G. (2007) Desenvolvimento de coleção de cultivares crioulas de hortaliças no planalto catarinense. *Rev. Bras. Agroecologia*, 2(1):103-119.
- Marafon, G.J. (2006) Agricultura familiar, pluriatividade e turismo rural: reflexões a partir do território fluminense. *Revista de Geografia Agrária*, Uberlândia, 1(1): 17-60.
- Melo, H.P. (2008) A Zona Rio Cafeeira: uma expansão pioneira. *Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional*, Taubaté, SP. 4(3): 49-82.
- Medeiros, L.S. de, LEITE, S. (1999) A formação dos assentamentos rurais no Brasil: processos sociais e políticas públicas. Porto Alegre: Editora Universidade UFRGS, 287p. Rio de Janeiro: CPDA-UFRGS, 1999. 2187p
- Meyer, A.S. (2002) Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes. Tese – Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 106p.

- Mingoti, S.A. (2005) *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: Uma abordagem aplicada*. Belo Horizonte – MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 297p.
- Moreira, J.A.N., Santos, J. W. dos, Oliveira, S.R.M. (1994) *Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma*. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 115 p.
- Moura, M.C.C.L., Silva, D.J.H., Queiróz, M.A., Puiatti, M., Caliman, F.R.B., Lopes, J.F. (2004) Divergência genética entre acessos e híbridos comerciais de abóbora com base em marcadores morfoagronômicos e nutricional. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, Campo Grande-MS, Campo Grande: Sociedade Brasileira de Olericultura, v. 22. p. 343-343.
- Moura, W.M., Casali, V.W.D., Cruz, C.D., Lima, P.C. (1999) Divergência genética em linhagens de pimentão em relação à eficiência nutricional de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 34:217-224.
- Neitzke, R. S., Barbieri, R. L., Heiden, G., Brahm, R. U., Büttow, M. V. (2006) Variabilidade genética dos acessos de *Cucurbita* do banco ativo de germoplasma de cucurbitáceas da Embrapa Clima Temperado. Pelotas – RS: Embrapa Clima Temperado, 174p. (Embrapa Clima Temperado, Documento, 168).
- Nee, M. (1990) The domestication of *Cucurbita* (*Cucurbitaceae*). *Econ Bot*, 44(3):56-68 (Suplemento).
- Oliveira, A.G. de, Cleaver, A.J.T., Emperaire, L., Kageyama, P.Y., Stella, A. (2006) Encontro nacional sobre agrobiodiversidade e diversidade cultural. In: Agrobiodiversidade e diversidade cultural. Brasília, Ministério do Meio Ambiente. 82p.
- Painting, K.A., Perry M.C., Denning, R.A., Ayad, W.G. (1995) *Guidebook for genetic resources documentation*. Rome: IPGRI, 317 p.

- Pedrosa, J.F. (1981) Caracterização agrônômica e qualitativa de plantas e frutos de introdução e híbridos de *C. maxima* e *C. moschata*. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV - 164p.
- Peixoto, N. (1987) Melhoramento genético de abóbora (*Cucurbita moschata* Duchesne) do grupo baianinha. I - Obtenção, seleção de linhagens e avaliação de híbridos F1 braquíticos. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Viçosa - MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV - 110p.
- Pereira, W. (1999) Recomendações para a frutificação de abóbora híbrida tipo Tetsukabuto: uso de reguladores e polinizadores de crescimento de plantas. *Comunicado técnico* n. 12, Embrapa Hortaliças, 8 p.
- Ramos, S.R.R., Silva, M.A.S. da, Queiróz, M.A.de, Oliveira, C.A. de V., Souza, F.F. (1997) Perfil do consumo de *Cucurbita* sp. no pólo Petrolina e Juazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 1997, Manaus. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.15 .Suplemento. (n. do resumo 229)
- Ramos, S.R. R., Queiróz, M.A. de, Casali, V.W.D., Cruz, C.D. (1999) Recursos genéticos de *Cucurbita moschata*: Caracterização morfológica de populações locais coletadas no Nordeste brasileiro. In: Queiróz, M.A., Goedert, C.O., Ramos, S.R.R. (eds.) *Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro (on line)*. Versão 1.0. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido/Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov 1999. Disponível via Word Wide Web <http://www.cpatsa.embrapa.br>. ISBN 85-7405-001-6.
- Ramos, S.R.R., Queiróz, M.A. de, Casali, V.W.D., Cruz, C.D. (2000) Divergência genética em germoplasma de abóbora procedente de diferentes áreas do Nordeste. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 18(3):195-199.
- Ramos, S.R.R., Queiróz, M.A. de, Meireles, A.C. de S., Ferreira, M.A.J. da F. (2007) Levantamento in situ do estado de conservação e das áreas de ocorrência de variedades locais de *Cucurbita* no Ceará. *Horticultura Brasileira*,

25(1) (Suplemento).

Reddy, M.P.; Sarla, N.; Siddiq, E.A. (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9 –17.

Sakiyama, N.S. (1993) Marcadores moleculares e as hortaliças. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 11(2):204-206.

SAS Institute Inc (1999) SAS OnlineDoc1, Version 8. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Silva, N.F. da, Fontes, P.C.R., Ferreira, F.A., Cardoso, A.C. (1999) Produção da abóbora híbrida em função de doses de fertilizante fórmula. *Ciênc. e Agrotec.*, Lavras, 23(2):454-461.

Silva, D.B., Wetzel, M.V., Ferreira, M.A.J.F., Lopes, J.F., Bustamante P.G. (2006) Conservação de germoplasma de *Cucurbita* spp. a longo prazo no Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 12p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 135).

Singh, R.J. (1993) Plant Cytogenetics. 1 ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 391 p.

Smith, B.D. (1997) The initial domestication of *C. pepo* in the Anerucas 10.000 years ago. *Science*. 276:932-934.

Sokal R.R., Rohlf F.J. (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon* 11: 33-40.

Stella, A., Kageyama, P.Y., Nodaril, R. (2006) Políticas Públicas para a agrobiodiversidade. In: Agrobiodiversidade e diversidade cultural. Brasília, Ministério do Meio Ambiente. 82p.

- Sudré C.P., Cruz C.D., Rodrigues R, Riva E.M., Amaral Júnior A.T., Silva D.J.H., Pereira, T.N.S. (2006) Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. *Horticultura Brasileira*, 24: 88-93.
- Teixeira, V.L. (1998) *Pluriatividade e agricultura familiar na região serrana do Estado do Rio de Janeiro*. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRJ, 182p.
- Valls, J.M.F. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. Anais do encontro sobre Recursos Genéticos, Jaboticabal: FCAV, 106-120p. 1988.
- Verger, P. Fluxo e refluxo de tráfico entre o golfo de Benin e Bahia de todos os Santos: dos séculos XVII a XIX. São Paulo, Corrupio, 718p.
- Vieiral, R.L., Nodarill, R.O. (2007) Diversidade genética de cultivares de alhos avaliada por marcadores RAPD. *Ciência Rural*, Santa Maria, 37(1):51-57.
- Weeden, N. F. (1984) Isozyme studies indicate that the genus *Cucurbita* is an ancient tetraploid. *Cucurbits Genetics Cooperative Report*, 7:84-87.
- Welsh, J., McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18: 7213-7218.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S. V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
- Whitaker, T.W., Carter, G.F. (1946) Critical notes on the origin and domestication of the cultivated species of *Cucurbita*. *Journal of Botany*, 33(1):10-15.
- Whitaker, T.W., Cutler, H.C. (1965) *Cucurbits and cultures in the Americas*.

Economic Botany, 19:344-349.

- Whitaker, T.W., Robinson, R.W. (1986) Squash breeding. *In*: Basset, M. J. Breeding vegetable crops. Wetsport: Avi. Rome, Italy, p. 209-246.
- Whitaker, T.W., Bemis, W.P. (1976) Cucurbits – Cucumis, Citrullus, Cucurbita, Lagenaria (Cucurbitaceae). *In*: Simmonds, N.W. (ed) Evolution of crops plants. London: Longman, p.64-69.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 20: 176–183.
- Yao, Y., Ban, M., Brandle, J. (1999) A genetic linkage map for *Stevia rebaudiana*. *Genome*, 42:657-661.

ANEXOS

Tabela 1 . Valores de latitude e longitude dos pontos de coleta de abóbora.
Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Localidades	Latitude	Longitude
Baixa Grande	S21°57'	W41°08'
Bajuru	S21°54'	W41°02'
Caboios	S21°58'	W41°12'
Campo de Areia	S21°54'	W41°05'
Canal das Flechas	S22°02'	W41°12'
Cazumbá	S21°54'	W41°06'
P.A. Oziel Alves	S21°45'	W41°17'
P.A. Zumbi II	S21°39'	W41°14'
P.A. Zumbi IV	S21°37'	W41°13'
P.A. Zumbi IV	S21°37'	W41°16'
São Luis de Mutuca	S21°19'	W41°16'
São Luis de Mutuca	S21°20'	W41°17'
Serra do Mico	S21°21'	W41°15'
Venda Nova	S21°46'	W41°14'

Tabela 2. Identificação dos acessos de abóbora utilizados para análise molecular com marcadores de DNA do tipo RAPD e ISSR visando o estudo de diversidade genética. Campos dos Goytacazes – RJ. 2009

Acesso	Nº do acesso na coleta	Nome comum	Espécie	Procedência
UENF 1851	4	-	<i>Cucurbita moschata</i>	Rio Grande do Sul
UENF 1852	7	Abóbora Morango	<i>Cucurbita maxima</i>	Desconhecida
UENF 1853	10	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	Campos dos Goytacazes – RJ
UENF 1854	11	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Campos dos Goytacazes - RJ
UENF 1855	12	Abóbora Paulista	<i>Cucurbita moschata</i>	Pernambuco
UENF 1856	15	Mini Abóbora Moranga	<i>Cucurbita pepo</i>	Desconhecida
UENF 1857	16	Abóbora	<i>Cucurbita maxima</i>	Casimiro de Abreu - RJ
UENF 1858	17	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra - RJ
UENF 1859	18	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1860	19	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1861	20	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1862	21	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1863	22	Abóbora Moranga	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1864	23	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1865	24	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1866	25	Abóbora Jacaré	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1867	26	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Campos dos Goytacazes – RJ
UENF 1868	27	Abóbora Branca	<i>Cucurbita moschata</i>	São João da Barra – RJ
UENF 1869	28	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Espírito Santo
UENF 1870	29	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	Desconhecida
UENF 1871	31	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Desconhecida
UENF 1872	32	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Desconhecida
UENF 1873	34.1	Abóbora	<i>Cucurbita moschata</i>	São Francisco do Itabapoana - RJ

Tabela 2, Cont.;

UENF 1874	34.2	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Campo de Areia
UENF 1875	35	Abóbora Cascuda	<i>Cucurbita moschata</i>	Bajuru
UENF 1876	35	Abóbora Cascuda	<i>Cucurbita moschata</i>	Bajuru
UENF 1877	36	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Oziel Alves
UENF 1878	37	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Oziel Alves
UENF 1879	38	Abóbora Baianinha	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Oziel Alves
UENF 1880	40	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Caboios
UENF 1881	41	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Baixa Grande
UENF 1882	42	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Zumbi IV
UENF 1883	43	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Zumbi IV
UENF 1884	44	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	São Luis de Mutuca
UENF 1885	44	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	São Luis de Mutuca
UENF 1886	45	Abóbora Comum	<i>Cucurbita maxima</i>	São Luis de Mutuca
UENF 1887	46	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	São Luís de Mutuca
UENF 1888	46	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	São Luís de Mutuca
UENF 1889	47	Abóbora Caravela	<i>Cucurbita moschata</i>	Serra do Mico
UENF 1890	48	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Cazumbá
UENF 1891	49	Abóbora Comum	<i>Cucurbita moschata</i>	Venda Nova
UENF 1892	50	Abóbora Sergipana	<i>Cucurbita moschata</i>	Projeto de Assentamento Zumbi II
UENF 1893	51	Abóbora de Pescoço	<i>Cucurbita moschata</i>	Campo de Areia
UENF 1894	52	Abóbora d'água	<i>Lagenaria siceraria</i>	Projeto de Assentamento Zumbi IV
UENF 1895	-	Abóbora baianinha	<i>Cucurbita moschata</i>	-