

COLETA, CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE VARIEDADES
LOCAIS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas* L. Lam) DO NORTE
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

MONIQUE MOREIRA MOULIN

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JANEIRO - 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

COLETA, CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE VARIEDADES
LOCAIS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas* L. Lam) DO NORTE
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

MONIQUE MOREIRA MOULIN

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

Orientadora: Prof.^a Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
JANEIRO – 2010

COLETA, CARACTERIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE VARIEDADES
LOCAIS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas* L. Lam) DO NORTE
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

MONIQUE MOREIRA MOULIN

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

Aprovada em 15 de janeiro de 2010.

Comissão Examinadora:

Prof^a. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas) – UENF

Prof^a. Virginia Silva Carvalho (D.Sc., Fitotecnia) – UENF

Dr^a. Elaine Manelli Riva Souza (D.Sc., Produção Vegetal) – INCAPER

Prof^a. Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Orientadora)

Dedico este trabalho

Aos meus pais, Fernando e Cacilda, pelos esforços em prol das minhas realizações profissionais e pessoais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela oportunidade de qualificação;

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pela concessão da bolsa de mestrado;

À professora Rosana Rodrigues, pela orientação, amizade, confiança, incentivo e disponibilidade, que possibilitaram a realização deste trabalho;

À professora Virginia Silva Carvalho, pelos ensinamentos, colaboração e compreensão;

À professora Telma Nair Santana Pereira pelos ensinamentos e valiosas sugestões;

Ao professor Messias Gonzaga Pereira, pela confiança e valiosas sugestões;

Aos demais professores do curso, pela oportunidade de aprendizagem, confiança e incentivo, fundamentais para minha formação acadêmica;

À pesquisadora Elaine Manelli Riva Souza pelas sugestões e disponibilidade de participação na banca;

Ao pesquisador João Bosco Carvalho da Silva da Embrapa Hortaliças pela doação das ramas de cultivares de batata-doce;

À técnica Vitória pelos incansáveis auxílios, paciência e disponibilidade;

Aos funcionários da UENF sempre dispostos a colaborar, em especial ao Daniel, pela paciência e informações quanto aos prazos e datas. E aos motoristas André,

Luiz Cláudio e Luiz Carlos pelo apoio nas idas a campo e conhecimento das áreas visitadas;

À EMATER pelo auxílio nas atividades de coleta;

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

Aos proprietários rurais entrevistados do município de Campos dos Goytacazes e São João da Barra pela doação das raízes, ensinamentos para vida e pela disponibilidade de fornecer informações para a pesquisa;

À Cláudia pela amizade incondicional, estímulo e contribuição direta na realização deste trabalho;

Ao Leandro pelos inúmeros auxílios com os programas estatísticos, amizade, paciência e momentos extrovertidos;

Aos amigos do Laboratório: Cíntia, Marilene, Sarah, Rebeca, Roberto, Larissa, Charles, Ozias, Marcio e Carlos que partilharam esta conquista;

Aos amigos de UENF: Roberta, Monique, Juliana, Nathália, Thiago, Keila, Kellen, Beta, Érica e Poliane;

Às atuais e antigas amigas de república: Cris, Talita, Juliana, Gisele, Ivy e Pâmela, pelo companheirismo, amizade e momentos inesquecíveis;

À minha família, especialmente aos meus pais, Fernando e Cacilda, por todo amor, carinho e incentivo;

Ao meu amado Marcio, pelo amor, compreensão e incontáveis auxílios;

Aos amigos de sempre, pelos bons momentos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Origem e dispersão da batata-doce	4
2.2 Aspectos botânicos	5
2.3 Importância econômica e formas de utilização	6
2.4 A importância da coleta de variedades locais e da conservação do germoplasma	8
2.5 Caracterização do germoplasma e o estudo da diversidade genética	11
2.6 Diversidade genética	14
2.7 Conservação <i>in vitro</i> de germoplasma	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Coleta dos acessos	20
3.2 Caracterização morfológica das raízes coletadas	25
3.3 Condições de cultivo	27
3.4 Caracterização Molecular	27
3.4.1 Preparo das amostras	27
3.4.2 Extração do DNA	28
3.4.3 Quantificação do DNA	29
3.5 Marcadores RAPD	29
3.5.1 Condições de Amplificação	29

3.5.2 Seleção de iniciadores	30
3.6 Marcadores ISSR	30
3.6.1 Condições de Amplificação	30
3.6.2 Seleção de iniciadores	31
3.7 Análise estatística de dados	31
3.7.1 Caracterização morfoagronômica	31
3.7.2 Análise dos fragmentos amplificados	31
3.7.3 Divergência Genética	32
3.8 Cultivo e estabelecimento de coleção <i>in vitro</i>	33
3.8.1 Obtenção dos explantes	33
3.8.2 Ensaio 1	34
3.8.3 Ensaio 2	35
3.8.4 Avaliação do experimento	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Coleta em propriedades rurais	36
4.1.1 Primeira coleta (19.03.09)	47
4.1.2 Segunda Coleta (23.03.09)	49
4.1.3 Terceira Coleta (26.03.09)	51
4.1.4 Quarta Coleta (06.04.09)	53
4.1.5 Quinta Coleta (18.05.09)	55
4.1.6 Sexta Coleta (20.05.09)	56
4.2 Coleta nos estabelecimentos comerciais	57
4.3 Caracterização morfoagronômica	64
4.3.1 Descritores qualitativos para raiz	65
4.3.2 Descritores quantitativos para raiz	70
4.3.3 Descritores qualitativos da parte aérea	73
4.4 Análise Molecular	79
4.4.1 RAPD e divergência genética	79
4.4.2 ISSR e divergência genética	85
4.4.3 Comparação entre os marcadores RAPD E ISSR	91
4.5 Conservação do germoplasma	96
5. CONCLUSÕES	98
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
7. APENDICE	116

RESUMO

MOULIN, Monique Moreira; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Janeiro, 2010. Coleta, caracterização e conservação de variedades locais de batata-doce (*Ipomoea batatas* L. Lam) do Norte do Estado do Rio de Janeiro. Orientadora: Prof^a. Rosana Rodrigues. Conselheiras: Prof^a. Telma Nair Santana Pereira, Prof^a. Virginia Silva Carvalho.

A modernização da agricultura associada ao abandono de atividades agrícolas têm provocado a perda de diversidade genética de culturas como a batata-doce. O presente trabalho objetivou coletar raízes e ramas de batata-doce em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais da região Norte do Estado do Rio de Janeiro; levantar informações quanto ao perfil dos produtores rurais entrevistados e quanto à procedência das raízes comercializadas nos estabelecimentos comerciais; caracterizar os acessos coletados com base em marcadores morfoagronômicos e moleculares do tipo RAPD e ISSR, comparando a eficiência de discriminação entre os acessos por estes dois tipos de marcadores moleculares utilizados; estimar a divergência genética da população estudada e implantar uma coleção de germoplasma de batata-doce na UENF. Dez viagens de coletas foram realizadas e 53 propriedades rurais e 19 estabelecimentos comerciais foram amostrados, resultando em 82 acessos coletados. A análise dos dados obtidos foi efetuada com o uso de diferentes técnicas de estatística multivariada. Os dados qualitativos para raiz e parte aérea foram analisados com o uso da distância de Cole-Rodgers e o agrupamento foi gerado com o método UPGMA. Para os dados quantitativos de raiz foi utilizada a Distância Euclidiana

Média, obtendo-se a matriz de dissimilaridade, e o agrupamento foi realizado com auxílio do método UPGMA. Foi elaborada uma matriz de dados binários para análise dos dados moleculares, sendo utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard para estimar a dissimilaridade genética entre os acessos, e os grupos obtidos pelo método UPGMA. Observou-se variação para os 14 caracteres qualitativos de raiz e parte aérea avaliados, com diferentes frequências para cada classe fenotípica. Para os cinco caracteres quantitativos de raiz avaliados foi também constatada uma significativa variação de valores, confirmando a alta variabilidade fenotípica dos genótipos de batata-doce estudados. As técnicas moleculares foram eficientes para detectar a variabilidade genética entre os acessos, com correlação cofenética de 0,80 para o RAPD e 0,89 para o ISSR. Os resultados obtidos com os marcadores RAPD e ISSR demonstraram uma boa correspondência, discriminando uma correlação cofenética de 0,88. Com base na análise conjunta dos dados moleculares, todos os acessos obtidos foram considerados distintos. Não foi detectada correlação entre as distâncias geográficas e as distâncias genéticas mensuradas pelo índice de dissimilaridade de Jaccard, configurando uma ausência de estruturação entre a variabilidade genética e o local de coleta, o que pode ser explicado pelo método de propagação assexuado e à prática de constantes trocas entre os produtores rurais da região. Os agricultores tradicionais do município de Campos dos Goytacazes e São João da Barra detêm genótipos de batata-doce com expressiva diversidade genética em suas propriedades. Para o cultivo *in vitro*, os acessos foram inicialmente estabelecidos em meio água-ágar, e posteriormente transferidos para meio MS, obtendo-se o pleno desenvolvimento destes. Todo o material coletado está sendo mantido em coleção de germoplasma *in vivo* na UENF.

ABSTRACT

MOULIN, Monique Moreira; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. January, 2010. Collecting, characterizing and conserving sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* L. Lam.) from North of Rio de Janeiro State. Advisor: Prof^a. Rosana Rodrigues. Committee Member: Prof^a. Telma Nair Santana Pereira, Prof^a. Virginia Silva Carvalho.

The agricultural modernization associated with abandoned agricultural activities has been the cause of genetic diversity losses in crops like sweet potato. The present work aimed to collect sweet potato roots and stems from farms and markets located in North of Rio de Janeiro State; to obtain information about farmers' profile by using a specific query and also about the source of roots found in local markets; to characterize the collected accessions using morphological, agronomic and molecular markers, specifically RAPD and ISSR; to compare the discrimination efficiency among accessions when using RAPD, ISSR or both markers; to estimate the genetic divergence of studied population and to initiate a sweet potato germplasm collection at UENF. Ten expeditions to collect accessions were done and 53 farms along with 19 local markets were sampled, which resulted in 82 collected accessions. The data analysis was done using different multivariate statistics techniques. The qualitative data for roots and stem were analyzed using Cole-Rodgers distance and UPGMA was used to cluster the accessions. For roots quantitative data, Mean Euclidian Distance was used to obtain the dissimilarity matrix and also UPGMA was used to cluster the accessions. A binary data matrix was designed from molecular data and to estimate genetic dissimilarity Jaccard

Index was used and the accessions were clustered using UPGMA. Variation among 14 roots and stems qualitative traits was observed with different frequencies for each phenotypic class. Also, for the five roots quantitative descriptors studied a significant variation was observed, confirming the large phenotypic variability of sweet potato in this study. The molecular techniques applied were efficient to detect genetic variability among accessions, with high value of cophenetic correlation coefficient (CCC) for RAPD (0.80) and ISSR (0.89). The joint analysis of RAPD and ISSR showed an efficient adjustment with CCC value of 0.88 and allowed to distinguish all accessions, meaning that possibly there is no duplicate in the collection formed. Moreover, no correlation between geographic and genetic distances was detected, based on Jaccard Index, demonstrating that there was no relationship between genetic variability and the exact location where each accession was collected. This can be explained by the usual vegetative propagation of sweet potato and also by the germplasm exchange among farmers, a common practice in the sampled region. The traditional farmers of Campos dos Goytacazes and São João da Barra have been maintaining sweet potato genotypes with expressive genetic diversity in their properties. *In vitro* cultivation of the accessions was established initially in water-agar medium with transference of the explants for MS medium after six months, observing a complete development of the plants. All collected accessions is being maintained in conditions of *in vivo* collection at UENF.

1. INTRODUÇÃO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é a quarta hortaliça mais consumida no Brasil, muito popular e apreciada em todo o país (Melo et al., 2009). Seu cultivo se destina às mais diversas formas de utilização, desde a dieta humana e componente de ração animal, até a recente importância que tem adquirido para a indústria do álcool e derivados (Oliveira et al., 2006).

No Brasil, a batata-doce é cultivada principalmente pelos pequenos agricultores, sendo considerada uma cultura bastante antiga e utilizada como alimento base pelas populações de baixa renda. O cultivo utiliza pouca tecnologia e, em geral, os produtores não têm a devida orientação profissional, resultando em baixos índices de produtividade no país (Zero e Lima, 2005). A produtividade média brasileira é baixa, e está em torno de 8,7 t/ha. Entretanto, produtividade superior a 25 t/ha pode ser facilmente alcançada, desde que a cultura seja conduzida com tecnologia adequada (Silva et al., 2004).

A despeito do baixo uso de tecnologia, a batata-doce é considerada uma das hortaliças de menor risco de produção, devido a sua rusticidade, com boa produção em solos mais pobres em nutrientes, baixa incidência de pragas ou de doenças limitantes, alta tolerância à seca e de baixo custo (Roesler et al., 2008). Além disso, outros fatores que revelam a importância da cultura se referem ao fato de que a batata-doce contém nutrientes com potencial terapêutico. As variedades roxas, por exemplo, possuem elevado teor de betacaroteno, que é convertido pelo organismo em vitamina A, antioxidante que ajuda a prevenir o

câncer. Além disso, a batata-doce tem alto teor de vitamina E, essencial para a saúde da pele. As fibras desse vegetal, concentradas especialmente na casca, ajudam a baixar o colesterol e melhorar a digestão (Guedes, 2004). Possui um alto valor nutritivo, é um alimento energético, devido ao elevado teor de amido, e também fornece quantidades consideráveis de sais minerais, principalmente cálcio, ferro, vitaminas do complexo B e C. Algumas cultivares são ricas em carotenóides (Fonseca et al., 2008; Picha, 1985).

Esta hortaliça vem demonstrando outra grande potencialidade, que é a produção de biomassa voltada para a produção de biocombustível, o que pode levar a um fortalecimento da agricultura familiar (Silva, 2002).

Normalmente, essa cultura se adapta bem a regiões de clima tropical e subtropical, com grande luminosidade e chuvas bem distribuídas (Miranda, 1982; Cavalcante et al., 2009). O cultivo é realizado em quase todos os municípios brasileiros. Entretanto, há poucos estudos e os dados referentes à produção são imprecisos (Souza, 2000).

Muito do que se conhece da cultura advém do conhecimento popular. É comum a ocorrência de cultivares iguais com nomes diferentes e vice-versa, e estima-se que grande parte dessas cultivares sejam duplicatas (Daros et al., 2002). Além disso, a forma de multiplicação da cultura de batata-doce, através de propagação vegetativa, pode contribuir para que vários genótipos sejam cultivados e mantidos pelos produtores com nomes diferentes.

Uma das características relevantes é a elevada variabilidade fenotípica e genotípica da espécie (Vilas Boas et al., 1999; Oliveira et al., 2000; Daros et al., 2002), o que lhe confere adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas. Neste contexto, torna-se fundamental realizar a conservação adequada das coleções, a sua caracterização, visando estimar a variabilidade real mantida, de forma a disponibilizar o material conservado para utilização efetiva pelos agricultores.

A agricultura familiar tem assegurado o uso de práticas de conservação de diversas variedades locais, como as de batata-doce. Comunidades rurais podem contribuir para o uso e conservação de germoplasma adaptado aos agroecossistemas das comunidades agrícolas (Almekinders e Elings, 2001). A prática de cultivo de variedades locais está intrinsecamente ligada ao contexto

cultural relacionado ao modo de vida das famílias, e ao conhecimento tradicional associado a este (Albagli e Maciel, 2003).

O presente trabalho objetivou coletar raízes ou ramas de batata-doce em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais da região Norte do Estado do Rio de Janeiro; levantar informações quanto ao perfil dos produtores rurais entrevistados e quanto à procedência das raízes comercializadas nos estabelecimentos comerciais; caracterizar os acessos coletados com base em marcadores morfoagronômicos e moleculares do tipo RAPD e ISSR, comparando a eficiência de discriminação entre os acessos por estes dois tipos de marcadores utilizados; estimar a divergência genética da população estudada e implantar uma coleção de germoplasma de batata-doce na UENF.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem e dispersão da batata-doce

A origem exata da batata-doce ainda não foi definitivamente confirmada. Porém, existem evidências que suportam a hipótese de que a batata-doce seja de origem americana. Baseado em análises de características morfológicas de batata-doce cultivada e espécies silvestres de *Ipomoea*, o centro de origem mais provável está entre a faixa da Península de Yucatan no México e a foz do rio Irinoco na Venezuela (Austin, 1988; Srisuwan et al., 2006).

Relatos do uso desta hortaliça remontam de mais de dez mil anos, com base em análises de batatas secas encontradas em cavernas localizadas no vale de Chilca Canyon, no Peru, e em evidências contidas em escritos arqueológicos encontrados na região ocupada pelos Maias, na América Central (Zhang et al., 2000).

Diversas hipóteses têm sido propostas para explicar a origem da batata-doce. Uma destas sugere que houve uma hibridação interespecífica, entre a espécie diplóide *I. leucantha* ($2n=30$) e outra tetraplóide *I. litorallis* ($2n=60$), originando uma espécie estéril triplóide *I. trifida* ($2n=45$), a qual sofreu uma duplicação cromossômica, originando um organismo hexaplóide ($2n=90$), que corresponde à atual batata-doce (Nishiyama, 1971).

Segundo Shiotani (1987) a origem está associada à autopoliploidia de *I. trifida*, e particularmente à ocorrência de gametas diplóides nas séries poliplóides, sendo possível a recombinação entre espécies de diferentes níveis de ploidia. Há

evidências que comprovam a existência de pólen diplóide em *I. trifida* e espécies tetraplóides de *I. batatas*, sendo este mecanismo de fertilização por gametas não reduzidos um importante mecanismo para transferência de genes entre as espécies de *Ipomoea* de diferentes níveis de ploidia (Freyre et al, 1991).

Outra hipótese da origem de batata-doce sugere que a hibridação entre *I. trifida* e *I. triloba* resultou na geração de um ancestral silvestre de *I. batatas*. Entretanto, há poucos relatos na literatura que corroboram esta hipótese (Austin, 1988).

A batata-doce foi introduzida na Europa Ocidental depois da primeira viagem de Colombo às Índias Ocidentais em 1492. As primeiras referências sobre a cultura datam do período posterior à descoberta da América, o que reforça as evidências da origem americana da batata-doce. No século XVI, os portugueses disseminaram a batata-doce para a África, Índia e leste-sul da Ásia (Rossel et al., 2000).

A América Central é considerada o centro primário de diversidade, evidenciado pela grande diversidade de batatas nativas e de espécies silvestres de *Ipomoea* revelado pelo uso de marcadores moleculares (Haung et al., 2000). O Brasil é considerado um centro secundário de diversidade da espécie (Austin, 1988; Veasey et., 2007; Borges et al., 2009).

2.2 Aspectos botânicos

A batata-doce pertence à família Convolvulaceae, que agrupa mais de 1000 espécies, sendo ela a única espécie de valor comercial, com $2n=6x=90$ (Jones, 1967). A variabilidade dentro da espécie é muito alta, provavelmente devido ao alto nível de ploidia. Foram identificadas outras 12 espécies do gênero *Ipomoea* além da batata-doce. A maioria das espécies é diplóide $2n=2x=30$, porém, duas são tetraplóides $2n=4x=60$ (*I. tiliacea* e *I. tabascanana*), e *I. batatas* tem raças tetraplóides e hexaplóides. A batata-doce cultivada parece ser a única hexaplóide do gênero (Rajapakse et al., 2004).

A batata-doce é uma espécie herbácea, com hábito de crescimento rasteiro, na maioria das vezes, podendo ainda ser ereto ou intermediário. As ramas podem ser de cor verde, roxa ou ainda ter seções verdes juntamente com seções roxas. O formato das folhas pode variar de inteiro até totalmente recortado

e as cores também podem variar entre verde e roxa, podendo ainda possuir um tom de verde amarelado. Seu sistema radicular possui raízes de dois tipos, as fibrosas, que cumprem as funções normais de absorção de água e nutrientes, e as tuberosas, que acumulam reservas e constituem a parte comercial da planta. As raízes tuberosas podem apresentar vários tipos de formatos, cores de película externa e cores de polpa (Huamán, 1992).

Com relação ao sistema reprodutivo, a batata-doce é uma espécie alógama que é propagada vegetativamente, sendo que cada cultivar é um clone. A espécie possui auto-incompatibilidade, o que reforça a alogamia e aumenta a heterozigosidade genética (Thompson et al., 1997; Daros et al., 2002). Esta incompatibilidade aparentemente está relacionada a falhas de germinação e penetração do grão de pólen no estigma, e também a um certo grau de esterilidade, provavelmente provocado pelo alto nível de ploidia (Martin, 1970). A polinização é, normalmente, feita por insetos e a autofecundação raramente ocorre (Oliveira et al., 2002).

A produção de sementes botânicas por polinização cruzada é possível, mas não apresenta interesse comercial devido ao alto nível de segregação de tipos na progênie. Pode, no entanto, ser bastante importante do ponto de vista da conservação de germoplasma em longo prazo, e para o melhoramento genético. As flores são hermafroditas, com cinco sépalas e cinco pétalas, normalmente de coloração lilás ou roxa, podendo ter manchas arroxeadas (Martin, 1970).

O caule ou rama pode ser segmentado e utilizado para a formação da lavoura. As ramas mais novas são pouco lignificadas, enquanto as mais velhas têm um tecido mais rígido, com paredes celulares lignificadas e menor número de células meristemáticas, não sendo indicadas para o enraizamento (Huáman, 1992).

2.3 Importância econômica e formas de utilização

A batata-doce é cultivada em 111 países, sendo que aproximadamente 90 % da produção é obtida na Ásia, apenas 5 % na África e 5 % no restante do mundo (Silva et al., 2004). No quadro mundial, os grandes produtores são a China, Indonésia, Índia e o Japão. A China é o país que mais produz batata-doce, representando 88,9 % da produção mundial (CIP, 2009). A batata-doce é considerada a sétima cultura de maior produção mundial (FAO, 2007).

No Brasil, a batata-doce é a quarta hortaliça mais consumida (Silva et al., 2004). No continente Latino-Americano, o Brasil surge como o principal produtor contribuindo com três milhões de toneladas anuais. Os Estados de maior produção são Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Bahia e Paraná (Soares, 2002; Cavalcante et al., 2009).

Segundo Silva et al. (2004), a produção brasileira de batata-doce teve um forte declínio nas últimas décadas, de 1970 a 2000, em função da diminuição da área cultivada. Com o êxodo rural, grande parte do consumo de batata-doce foi substituída por hortaliças de mais fácil preparo e de maior atratividade. Apesar da grande decadência, verifica-se pelos dados estatísticos que a batata-doce ainda detém o sexto lugar entre as hortaliças mais plantadas no Brasil, correspondendo à produção anual de cerca de 533.000 toneladas, obtidas em uma área estimada de 46.000 hectares (IBGE, 2008).

Montes et al. (2008) ao estudarem o custo e rentabilidade da batata-doce na região oeste do estado de São Paulo, observaram que a cultura é muito importante para a geração de emprego e renda no campo devido à expressiva demanda de mão-de-obra em operações manuais, tendo as práticas mecanizadas como principal item de custo do processo.

Devido ao seu elevado valor nutritivo e sabor agradável, constitui-se em fonte de vitaminas A, B e C e também é de grande importância como alimento energético rico em amido (em geral, compreende 20 % da raiz) e açúcares solúveis (compreende aproximadamente 5 % da raiz). A batata-doce tem utilização culinária doméstica ou serve como matéria-prima para processos industriais, na obtenção de doces, farinhas, flocos e fécula (Roesler et al., 2008).

A raiz pode ser consumida assada, cozida ou frita, sem a adição de qualquer condimento (Murilo, 1990). As folhas e brotações de batata-doce também possuem alto valor nutritivo, são saborosas e nutritivas, e podem ser preparadas como qualquer outra hortaliça de folha. Além disso, possui um grande valor como recurso forrageiro, devendo ser consumida "*in natura*" para melhor aproveitamento das vitaminas (Miranda et al., 1989).

A batata-doce contém nutrientes com potencial terapêutico. As variedades roxas, por exemplo, possuem elevado teor de betacaroteno, que é convertido pelo organismo em vitamina A, antioxidante que ajuda a combater o câncer. Além disso, a batata-doce tem alto teor de vitamina E, essencial para a saúde da pele.

As fibras desse vegetal, concentradas especialmente na casca, ajudam a baixar o colesterol e melhorar a digestão (Guedes, 2004).

Esta hortaliça vem demonstrando outra grande potencialidade, que é a produção de biomassa voltada para a produção de biocombustível, o que pode levar a um fortalecimento da agricultura familiar. Comparada com outras culturas como o arroz, banana, milho e sorgo, a batata-doce é mais eficiente em quantidade de energia líquida produzida por unidade de área e por unidade de tempo. Isso ocorre porque produz grande volume de raízes em um ciclo relativamente curto, a um custo baixo, durante o ano inteiro (Silva, 2002).

Apesar do grande potencial de uso na alimentação humana, animal e industrial, a batata-doce tem sido pouco estudada (Souza, 2000). O cultivo da batata-doce tem inúmeras vantagens como o baixo custo de produção, a facilidade de cultivo, a colheita prolongada, o ciclo curto e a proteção do solo contra a erosão, além de desempenhar uma função social, contribuindo para manter o homem no campo.

2.4 A importância da coleta de variedades locais e da conservação do germoplasma

As mudanças de hábitos de consumo e o surgimento de novas opções de consumo têm provocado a perda de genótipos de batata-doce que tradicionalmente eram mantidos por agricultores (Horton *et al.*, 1989), tornando necessária a coleta e, conseqüentemente, a manutenção adequada dos genótipos (Austin, 1988; Huamán e De la Puente, 1988). Esforços neste sentido estão sendo realizados por instituições internacionais e por alguns programas nacionais (Huamán e De la Puente, 1988).

Outros fatores como a modernização da agricultura e o conseqüente êxodo rural têm também provocado a perda de diversidade genética de culturas, como a batata-doce, por exemplo. Neste sentido, o estudo da variabilidade genética em populações naturais é importante para viabilizar a conservação da espécie, sendo, portanto, essencial a realização de expedições de coletas (Austin, 1988; Ritschel *et al.*, 2000).

Os agricultores tradicionais têm um papel fundamental na conservação e geração da variabilidade genética da espécie cultivada, uma vez que os cortes

das ramas resultam em mutações espontâneas, e este germoplasma conservado tem sido estudado em muitas partes do mundo há mais de um século. A batata-doce é uma das principais culturas cultivadas por agricultores tradicionais no Brasil em quintais das casas e pequenas áreas, resultando em um amplo conhecimento e conservação das variedades locais (Veasey et al, 2008).

Para o manejo e conservação dos recursos genéticos é necessário que haja conhecimento sobre a biodiversidade e distribuição dos genes dentro de espécies e suas populações locais (Mariot et al., 2006). O germoplasma conservado serve como um reservatório de genes, os quais os melhoristas podem acessar quando precisam melhorar características específicas, tal como a resistência a uma doença. Entretanto, enquanto os bancos de germoplasma tentam preservar o máximo da variabilidade fenotípica para ser usada pelos melhoristas, os programas de melhoramento não exploram eficientemente a diversidade, usando quase que exclusivamente suas coleções de trabalho (Nass e Paterniani, 2000). Em relação à batata-doce, o melhoramento genético da cultura tem sido limitado por sua natureza hexaplóide e incompatibilidade (Jones et al., 1986).

Os recursos fitogenéticos podem ser entendidos como a variabilidade de plantas, integrantes da biodiversidade, de interesse sócioeconômico atual e potencial para utilização em programas de melhoramento genético, biotecnologia e outras ciências afins (Valois et al., 2001). Estes podem ser conservados dentro (*in situ*) ou fora (*ex situ*) de seu habitat natural. Existem diversos métodos de conservação *ex situ*, tais como bancos de sementes, preservação *in vivo*, cultura de tecidos e criopreservação de pólen, meristemas e embriões (Ramalho et al., 2008). Especificamente a conservação *in vitro* é indicada para espécies com sementes recalcitrantes que perdem a viabilidade rapidamente e para espécies de propagação vegetativa, nas quais o processo de clonagem é interessante para a indústria. A batata-doce pertence a esta última categoria.

Estratégias como a manutenção de bancos de germoplasma, reunidos mediante coletas do recurso genético, principalmente em regiões onde a espécie em questão apresenta maior variabilidade, ou seja, em seus centros de origem e de diversidade secundária, devem ser utilizadas e são muito importantes para evitar a perda da variabilidade genética, de forma a contribuir para possíveis programas de melhoramento genético e conservação *in situ* da espécie (Guarino

et al., 1995). Os locais de coleta devem considerar a presença de comunidades tradicionais e pequenos agricultores que costumam cultivar variedades locais (Ferreira et al, 2007).

A variação fenotípica dentro da espécie *Ipomoea batatas* é muito alta, destacando-se os inúmeros formatos e colorações de folhas e raízes, além de outras características de grande interesse agrônomo, como por exemplo, resistência a pragas e doenças, aspectos nutricionais e adaptação às condições climáticas, que variam de acordo com o genótipo.

A Índia mantém o maior banco de germoplasma de batata-doce no CTCRI (*Central Tuber Crops Research Institute*), com 3073 acessos, sendo 70 % destes variedades locais, mantidos em condições de campo. A Indonésia, detém a segunda maior coleção, com 1155 acessos, mantida por diferentes instituições, destes cerca de 200 acessos são mantidos *in vitro*, e os demais em campo. A China possui um banco com 700 acessos mantidos em campo, e o Sri Lanka mantém um banco de germoplasma com 135 acessos de batata-doce também mantidos em campo (Fuglie et al., 1999).

No Brasil, com o objetivo de evitar a perda da variabilidade da cultura de batata-doce, até então conservada de forma empírica pelos próprios agricultores, foram realizadas expedições visando a coleta do germoplasma na década de 1980. O material foi coletado em feiras livres, mercados, campos de produtores e em algumas reservas indígenas (Austin, 1988; Ritschel et al., 2002). Esse trabalho resultou na reunião de várias coleções de germoplasma de batata-doce, mantidas atualmente por instituições nacionais de pesquisa, tais como a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), a Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) e a Embrapa Hortaliças.

A Embrapa Hortaliças mantém o maior banco ativo de germoplasma, com cerca de 350 acessos de batata-doce, a grande maioria coletada na região Nordeste. Entretanto, uma parcela destes acessos não têm informações de passaporte (16 %), e cerca de 11 % dos acessos podem representar duplicatas (Ritschel et al., 2000). A ocorrência de duplicatas não identificadas em bancos de germoplasma encarece e dificulta a manutenção adequada do material, gerando problemas relacionados à organização e ao acesso de usuários potenciais ao

recurso genético (Beuselinck e Steiner, 1992; Daros et al., 2002). Assim, a caracterização de coleções de germoplasma vem sendo bastante enfatizada.

As principais atividades de um banco de germoplasma são a prospecção, a coleta, a introdução, o intercâmbio, a quarentena, a caracterização, a avaliação, a conservação, a inspeção, a multiplicação e a regeneração do germoplasma (Hawkes, 1982; Ramalho et al., 2008).

Segundo Valois et al., (2001), a caracterização pode ser morfológica, fenotípica, reprodutiva, bioquímica, citogenética ou molecular. A caracterização envolve normalmente poucos genes, de caráter altamente herdável, estável e qualitativo. O processo de avaliação dos acessos de um banco de germoplasma é normalmente mais complexo, envolvendo características quantitativas, instáveis e com forte influência do ambiente.

2.5 Caracterização do germoplasma e o estudo da diversidade genética

A caracterização morfológica de um banco de germoplasma é normalmente a forma mais acessível de quantificar sua diversidade genética e é bastante utilizada (Rabbani et al., 1998; Ritschel et al., 2002). Atividades de caracterização morfológica disponibilizarão informações sobre o germoplasma conservado, dispondo-o de uma forma mais efetiva para utilização. O valor do germoplasma aumenta à medida que este se torna conhecido e documentado (Painting et al., 1995).

Para batata-doce alguns estudos utilizando marcadores morfológicos estão disponíveis na literatura, tais como, o de Veasey et al., (2007) que caracterizaram 74 acessos de *Ipomoea batatas*, coletados na região do Vale do Ribeira utilizando 14 características morfológicas e agrônômicas; Chávez et al., (2006) que avaliaram 52 variedades locais da Colômbia utilizando 18 descritores da parte aérea e raiz; e Daros et al (2002) que avaliaram 14 acessos de batata-doce com base em um total de 20 descritores.

Os estudos com marcadores moleculares fazem contribuições significativas para compreensão da diversidade genética (Spooner et al., 2005). Com o uso de marcadores moleculares, pode-se gerar uma grande quantidade de informações que, associada às características fenotípicas, permitem o agrupamento de genótipos e o planejamento de cruzamentos de forma rápida e muito eficiente (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Na avaliação da diversidade genética, destacam-se os marcadores moleculares, pois, quando comparados com outros tipos de marcadores, apresentam maior número de locos polimórficos, o que permite a distinção entre acessos, mesmo com morfologia similar. Algumas complicações, como o efeito ambiental, tempo necessário para avaliações, herança poligênica, entre outras, podem ser evitadas pelo uso da análise direta do genótipo por meio de marcadores moleculares de DNA (Carvalho et al., 2008).

Até meados da década de 1960, os marcadores utilizados em estudos de genética e melhoramento eram controlados por genes associados a caracteres morfológicos, em geral fenótipos de fácil identificação visual, como nanismo, deficiência de clorofila, cor de pétala ou morfologia foliar. Entretanto, a disponibilidade de marcadores morfológicos é restrita a poucas espécies de plantas. Na década de 1980, estudos sobre estrutura genética de populações passaram a ser conduzidos utilizando-se também marcadores isoenzimáticos. A partir da década de 90 passaram a ser utilizados em genética preferencialmente os marcadores de DNA, e os utilizados com maior frequência em estudos genéticos de plantas são: *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) e microssatélites (SSR) (Sefc et al., 1998; Veasey et al. 2008).

Os marcadores RAPD foram desenvolvidos por Willians et al (1990). As grandes vantagens da técnica RAPD são: a simplicidade, pois é fácil de ser executada; a rapidez na obtenção de dados; o custo relativamente reduzido, em relação a outras técnicas moleculares, e a aplicabilidade imediata a qualquer tipo de organismo. Além disso, não requer o desenvolvimento prévio de bibliotecas de sondas específicas para o organismo de interesse, e é exigida uma quantidade mínima de DNA na análise genômica de um indivíduo, possibilitando resultados de grande validade prática (Caixeta et al. 2006). A técnica de RAPD é eficiente nos estudos de divergência genética em que os indivíduos analisados são geneticamente próximos, ou seja, pertencem a uma mesma espécie (Haley et al. 1994). Um número expressivo de culturas olerícolas vem sendo estudado do ponto de vista de caracterização de germoplasma com o uso dos marcadores RAPD (Tardin et al., 2003; Costa et al., 2006; Gonçalves et al., 2008).

A principal desvantagem dos marcadores RAPD é sua herança dominante, ou seja, não se pode determinar se uma banda de um gel de RAPD é

produto da amplificação de um ou dois fragmentos de DNA e, assim, indivíduos homozigotos dominantes não podem ser diferenciados dos heterozigotos (Williams et al., 1990; Welsh e McClelland, 1990). Além disso, esses marcadores têm baixa reprodutibilidade dos resultados, sendo considerados, sob ponto de vista genético, menos eficientes que as técnicas de RFLP e SSR (Alzate-Marin et al., 2005).

Gichuki et al. (2003) analisaram a variabilidade genética em 74 acessos de batata-doce provenientes de seis regiões geográficas (América do Sul, América Central, Estados Unidos, Leste da África, Ásia e Oceania) usando marcadores moleculares RAPD. Foram selecionados dez iniciadores, os quais amplificaram 71 fragmentos polimórficos. O estudo demonstrou que a diferença entre as variedades tradicionais de cada região era significativa, evidenciando um alto nível de variação dos acessos entre regiões, e uma natureza genética complexa.

Em outro estudo conduzido com marcadores moleculares em batata-doce, Sagredo et al. (1998) estimaram a diversidade genética entre 28 variedades locais do Chile e Peru, com base em marcadores RAPD. Foram utilizados 18 iniciadores, os quais geraram 124 bandas polimórficas, com média de 6,9 bandas polimórficas por iniciador. Estes resultados confirmam uma alta variabilidade genética, embora tenha sido detectada uma grande uniformidade de 14 acessos coletados na região Central do Chile, mostrando que para esta área a variabilidade genética é muito pequena e os acessos encontrados podem ser derivados de um único genótipo.

Outra metodologia bastante utilizada é o marcador ISSR (*Inter Single Sequence Repeats*), desenvolvida a partir dos microssatélites (SSR). Análises de ISSR envolvem amplificações do DNA genômico por PCR utilizando sequências repetidas de di-nucleotídeo, tri-nucleotídeo, tetra-nucleotídeos ou penta-nucleotídeos (Wolfe et al., 1998). O iniciador usado pode estar não ancorado ou ancorado, esta última corresponde à condição mais frequente, com uma a quatro bases ancoradas na posição 5' e 3' do iniciador, dentro de sequências flanqueadas (Reddy et al., 2002).

O ISSR utiliza iniciadores mais longos que o RAPD, geralmente de 16-25 pb, para amplificar principalmente entre sequências de SSR de diferentes tamanhos. Este marcador é composto por regiões entre dois microssatélites, e,

como os marcadores RAPD, não requer a informação da sequência do iniciador, e a sua segregação consiste com a herança mendeliana dominante, podendo esta ser considerada uma característica desvantajosa da técnica. Entretanto, este método possui alta reprodutibilidade, grande flexibilidade, uso de pequenas quantidades de DNA, e alto nível de polimorfismo (Joshi et al. 2000).

O ISSR possibilita a determinação da diversidade inter e intra-específica, confecção de mapas genéticos, estudos filogenéticos, além de caracterização e avaliação do germoplasma (Zietkiewicz et al., 1994; Ratnaparkhe, 1998; Huang e Sun, 2000).

Um dos poucos estudos com marcadores ISSR relatados até o momento com *Ipomoea batatas* foi desenvolvido por Hu et al., (2003). No estudo, oito iniciadores polimórficos foram selecionados para estimar a diversidade genética entre 34 acessos de *Ipomoea* (28 acessos de batata-doce e seis acessos de espécies silvestres), gerando 81 marcas polimórficas. Os acessos foram agrupados em três grupos maiores, com o objetivo de determinar a relação filogenética entre as espécies. Constatou-se que marcadores ISSR são eficientes para a obtenção de polimorfismo e posterior obtenção de mapas de ligação relacionando a batata-doce cultivada a espécies silvestres.

É importante ressaltar que para o sucesso da técnica utilizando marcadores moleculares em culturas tuberosas, como é o caso da batata-doce, o processo de extração deve ser bastante apurado. Segundo Sharma et al., (2008) a extração de DNA de plantas tuberosas é dificultado pela presença de compostos fenólicos, que oxidam e se ligam irreversivelmente ao DNA, e pela alta concentração de polissacarídeos nas folhas, que precipitam com os ácidos nucleicos impedindo uma extração eficiente. As análises moleculares em batata-doce são limitadas devido à presença de amido, fenóis e pigmentos que interferem severamente na purificação do DNA (Porebski et al., 1997; Kim e Hamada, 2005). Borges et al., (2009) relatam que métodos práticos de extração de DNA para *Ipomoea batatas* precisam ser previamente estudados para assegurar uma boa qualidade e quantidade de DNA extraído.

2.6 Diversidade genética

A diversidade genética expressa a diferença entre as frequências alélicas das populações (Falconer, 1987). O sucesso de um programa de melhoramento reside na existência de variabilidade na população de trabalho. A divergência genética pode ser avaliada a partir de características agronômicas, morfológicas, moleculares, bioquímicas, fisiológicas, dentre outras (Cruz e Carneiro, 2003).

O estudo da diversidade genética entre acessos de uma cultura, além de possibilitar a identificação de materiais genéticos muito próximos ou duplicados, indica aqueles genótipos mais distantes geneticamente, os quais poderão ser recomendados para futuros programas de policruzamentos no desenvolvimento de cultivares melhoradas (Scapim et al., 1999).

A estatística multivariada tem sido amplamente utilizada para quantificar a divergência genética, por se tratar de uma análise que permite integrar as múltiplas informações, de um conjunto de caracteres, extraídas das unidades experimentais (Fonseca et al., 2006). Diferentes técnicas de análise multivariada têm sido usadas para se estimar a divergência genética, destacando-se os métodos aglomerativos e os componentes principais (Cruz e Regazzi, 2004).

A escolha da técnica estatística mais adequada deve ser realizada em razão de princípios como: nível de precisão desejada; facilidade de análise; e forma com que os dados foram obtidos (Cavalcante et al., 2009). O uso de técnicas de agrupamento pode classificar os genótipos em vários grupos de forma que exista homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre os grupos, seguindo o critério de similaridade ou de dissimilaridade (Cruz e Carneiro, 2003). 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, 2004).

As informações múltiplas de cada cultivar são expressas em medidas de dissimilaridade, que representam a diversidade existente no conjunto de acessos estudados, auxiliando na quantificação das distâncias entre os genótipos. Estudos de diversidade genética têm sido realizados por medidas de dissimilaridade obtidas de variáveis quantitativas, binárias e multicategóricas (Cruz e Carneiro, 2003). A literatura atual não dispõe de muitas informações precisas sobre a dissimilaridade e divergência genética no germoplasma nacional de batata-doce (Cavalcante et al., 2009).

Entretanto, alguns trabalhos têm sido relatados para quantificar a diversidade genética em batata-doce. Veasey et al., (2007) visando verificar a diversidade fenotípica de batata-doce em propriedades do Vale do Ribeira-São Paulo, avaliaram um total de 74 acessos. Nove descritores fenológicos e florais, nove descritores morfológicos da parte aérea e cinco da raiz foram estudados. Foi realizada uma análise de agrupamento, empregando-se o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método aglomerativo UPGMA. Observou-se grande variação fenotípica na região estudada, indicando que os agricultores tradicionais do Vale do Ribeira cultivam em suas áreas grande diversidade morfológica de batata-doce, cuja origem pode ter sido gerada pelo amplo sistema de trocas entre agricultores em âmbito local e regional, e por eventuais mutações somáticas.

Ritschel e Huamán (2002) utilizaram marcadores morfológicos para descrever a variabilidade da coleção de germoplasma mantida pela Embrapa-CNPH. Foram avaliados 324 acessos de batata-doce, utilizando-se 25 características morfológicas. Foi possível identificar 256 tipos morfológicos, sendo 223 acessos com morfologia única e 33 grupos de acessos morfológicamente duplicados. Os dados foram analisados por meio do algoritmo UPGMA e a análise de coordenadas principais. Foi possível identificar um alto polimorfismo na coleção e uma percentagem de 20 % de duplicatas com base na morfologia dos acessos.

Oliveira et al (2000) avaliaram a divergência genética entre clones de batata-doce, provenientes de várias regiões brasileiras, utilizando duas técnicas de análise multivariada: distância generalizada de Mahalanobis e os métodos de agrupamento de Tocher e hierárquico do vizinho mais próximo, com base em 25 características morfológicas. Detectou-se ampla variabilidade genética entre os clones, sendo estes reunidos em sete grupos em ambos os métodos. Na formação de grupos pelos dois métodos houve boa concordância. Foram constatadas pequenas distâncias genéticas entre alguns clones, o que sugere a possibilidade de ocorrência de duplicidades entre o conjunto de genótipos avaliados.

2.7 Conservação *in vitro* de germoplasma

O processo de cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante (célula, tecido ou órgão) é isolado sob condições assépticas, em meio nutritivo artificial (Pasqual et al., 2008). A cultura de tecidos baseia-se no princípio da totipotencialidade das células, ou seja, qualquer célula do organismo vegetal tem todas as informações genéticas necessárias à regeneração de uma planta completa. Esta capacidade de totipotência é manifestada pelas células vegetais em momentos diferentes e sob estímulos apropriados, uma vez que os explantes são uma mistura de células em variados estados fisiológicos, bioquímicos e de desenvolvimento (Torres et al. 2000).

Diante da possibilidade de se obter plantas completas a partir do cultivo de células, tecidos ou órgãos, se pleiteou, na década de 70, que as técnicas *in vitro* poderiam ser úteis na conservação dos recursos fitogenéticos, alternativas valiosas para a manutenção de coleções a serem empregadas de imediato em programas de melhoramento vegetal (Souza et al., 2007).

A cultura de ápices meristemáticos é a primeira etapa na produção de material propagativo de alta qualidade. A combinação adequada do meio de cultura, luz e temperatura são a base da tecnologia da cultura de tecidos (Kerbaui, 1997). Com relação ao meio de cultura, os componentes mais críticos são os fitorreguladores vegetais adicionados, porque são eles que direcionam o processo morfogênético (George, 1993).

A cultura de tecidos tem diferentes modalidades conforme os objetivos da aplicação, como por exemplo, cultura de protoplastos, por meio da qual se pode hibridizar variedades diferentes; cultura de anteras; e cultura de células em suspensão. Com a cultura de embriões e ápices meristemáticos, pode-se fazer trabalhos de conservação dos acessos em bancos de germoplasmas, com economia de espaço e recursos financeiros, especialmente em espécies de reprodução assexuada (Cid, 2001).

Durante as fases da cultura *in vitro* as plantas crescem sob condições especiais de redução das trocas gasosas, alta umidade do ar, baixa intensidade luminosa e uso de sacarose como fonte de energia (Tavares et al, 2008). São vantagens da propagação *in vitro* em relação aos métodos convencionais: multiplicação de clones em qualquer época do ano; produção de espécies que dificilmente seriam propagadas pelos métodos convencionais; rápida multiplicação clonal de espécies raras e eliminação de vírus, proporcionando a

produção de mudas com alta sanidade (Gallo e Crocomo, 1995; Souza et al. 2007). Também permitem a propagação contínua independente dos fatores ambientais e auxiliam a troca de germoplasma para avaliação em diversos ambientes (Grattapaglia e Machado, 1998). Os principais inconvenientes são a possibilidade de ocorrer contaminação, a variação somaclonal e a demora da diferenciação do tecido meristemático em meio de cultura (Pereira e Fortes, 2004).

Na conservação *in vitro*, brotos e plantas, derivados diretamente de ápices meristemáticos e gemas laterais, são mantidos em condições ambientais controladas (temperatura, intensidade luminosa e fotoperíodo) e/ou químicas (meios de cultura) que permitam estender ao máximo o intervalo das transferências para meios novos, sem afetar a viabilidade e estabilidade genética dos cultivos.

Além das condições de incubação e do meio empregado, o resultado do cultivo *in vitro* de ápices meristemáticos sofre uma marcada influência do genótipo. Assim, resultados distintos podem ser obtidos no cultivo de diferentes espécies quanto dentro da mesma espécie, de acordo com a cultivar empregada (Dagnino et al., 1991). Outro fator que interfere no cultivo *in vitro* é a qualidade do material vegetal de batata-doce propagado, que pode acumular ao longo das gerações de propagação, diversos patógenos, principalmente vírus (Magalhães et al., 2006).

O crescimento lento tem sido utilizado com sucesso, principalmente para a conservação de ápices meristemáticos de muitas espécies mantidas em bancos de germoplasma *in vitro*, e consiste em reduzir drasticamente o metabolismo da planta, sem afetar sua viabilidade, pela indução de estresse osmótico, redução da intensidade de luz ou temperatura, acréscimo de retardantes de crescimento e/ou diminuindo a concentração dos componentes salinos e orgânicos do meio de cultura (Withers e Williams, 1998).

Embora não haja procedimento padrão para todos os genótipos de todas as espécies, têm-se obtido resultados satisfatórios, e será possível desenvolver um método adequado de crescimento lento para uma nova espécie que exija menos manipulação (Withers e Williams, 1998).

O primeiro cultivo *in vitro* de ápices meristemáticos de batata-doce foi realizado por Nielsen (1960) em trabalhos de regeneração e recuperação de

plantas livres de vírus. Posteriormente, Elliott (1969) obteve os primeiros resultados promissores com a adição de reguladores de crescimento.

Segundo Teixeira et al., (1999), o gerenciamento de uma coleção *in vitro* de germoplasma de batata-doce envolve um periódico recultivo dos genótipos que entraram em declínio fisiológico ou mesmo esgotaram o meio nutritivo do frasco. O recultivo é feito, em média, a cada 90 dias para batata-doce, sendo este um dos aspectos que mais consomem tempo na manutenção da coleção. A maneira mais simples de aumentar o período entre recultivos é diminuir o crescimento *in vitro*. Uma estratégia seria a redução da disponibilidade de sacarose no meio de cultura, assim como a redução de temperatura em sala de cultivo.

A baixa temperatura como alternativa para armazenamento *in vitro* de células e órgãos de plantas tem sido aplicada amplamente e com sucesso em kiwi, maçã, pêra, ameixa, cereja, uva, morango, batata (Dodds e Roberts, 1993), beterraba, batata-doce, mandioca, várias forrageiras (Souza, 1988) e abacaxi (Zee e Munekata, 1992). Para cada uma destas culturas são testadas e utilizadas diferentes concentrações de sacarose e temperaturas, geralmente mantidas entre 12 e 18 °C, para promoção do crescimento mínimo.

A eficácia destas estratégias varia de acordo com as características fisiológicas da espécie a ser conservada. Geralmente os explantes mais indicados para a conservação *in vitro* são os que possuem células meristemáticas, já que, suas células são mais resistentes às baixas temperaturas e esses tecidos também apresentam maior estabilidade genética e qualidade fitossanitária (Roca et al., 1991).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta dos acessos

As raízes de batata-doce foram coletadas em propriedades rurais, mercados e feiras localizadas na região Norte Fluminense, nos municípios de Campos dos Goytacazes e São João da Barra. Nas propriedades rurais que o produtor não dispunha de raízes eram coletadas ramas jovens, ao invés das raízes.

Ao longo das coletas em propriedades rurais foi aplicado um questionário (Tabela 1) junto aos produtores para o levantamento de informações referentes ao nome do produtor; local de coleta; denominação local da raiz de batata-doce; procedência do material cultivado; destino final do produto; incidência de pragas e doenças na cultura; aplicação de produtos químicos; tempo de permanência do agricultor nessa atividade; produtividade e safras anuais, dentre outras observações importantes. As propriedades rurais amostradas, bem como as operações de coleta foram realizadas com o auxílio da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio de Janeiro (EMATER – RJ), escritório de Campos dos Goytacazes, com a participação do Engenheiro Agrônomo José Roberto Pereira da Silva nas expedições. Para fornecer informações exatas dos pontos de coleta foi utilizado um equipamento de GPS (Sistema de Posicionamento Global).

As coletas em hortifrutis, mercados e feiras locais foram concentradas no município de Campos dos Goytacazes. Treze hortifrutis e mercados,

considerados os mais importantes do ponto de vista de atendimento à população local, e quatro feiras, ambos localizados em diferentes áreas da cidade e com um tipo particular de público consumidor foram amostrados (Tabela 2).

Foi aplicado um questionário (Tabela 3) nos estabelecimentos comerciais, para coleta de informações referentes ao tipo de estabelecimento; localização; nome comum; procedência da raiz comercializada; preço comercializado, dentre outras observações relevantes. Para fornecer informações exatas da localização dos estabelecimentos comerciais onde as raízes foram obtidas foi utilizado o Programa *Google Earth* (<http://www.earth.google.com/intl/pt-BR>).

Tabela 1. Formulário para coleta de *Ipomoea batatas*, em propriedades rurais, na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Coleta, caracterização molecular e conservação de variedades de batata-doce (<i>Ipomoea batatas</i>) do Estado do Rio de Janeiro	
Formulário para coleta de batata-doce	
Mestranda: Monique Moreira Moulin Orientadora: Rosana Rodrigues	
1. Nome do produtor: _____	
2. Local da coleta: _____ Data: __/__/__	
3. Denominação local: _____	
4. Nome comum: _____	
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 batata-doce: _____	
10. Produtividade e safras anuais: _____	
Observações: _____	

Tabela 2 – Lista dos estabelecimentos comerciais onde foram adquiridos acessos de *Ipomoea batatas* e sua localização. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Nome comercial dos estabelecimentos	Localização
Supermercado Superbom	Avenida Alberto Lamego, 987, Parque Califórnia
Hortifruti Frutas e Cia	Avenida Alberto Lamego, 1002, Parque Califórnia
Mercado Municipal	Praça Azeredo Coutinho, s/n
Hortifruti da Palmeira	Rua Alcebíades Peçanha, 69, Parque Rosário
Hortifruti João e Maria	Rua Viveiro de Vasconcelos, 05, João e Maria
Supermercado ABC Compre Bem	Avenida Felipe Uébe, 451, Turf Clube
Supermercado Esperança	Avenida Visconde do Rio Branco, 266, Parque Rosário
Hortifruti Campos	Rua Artur Nogueira, 257, Parque Corrientes
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
Supermercado Super Líder	Rua Humberto L. Felisberto Lima, 77, Travessão
Feira da Roça da Record	Avenida Deputado Alair Ferreira, s/n, Turf Clube.
Feira da Roça da Rodoviária	Avenida Rio Branco, s/nº, Centro
Feira da Roça da EMATER	Rua Visconde de Inhaúma, 102, Parque Tamandaré
Feira da Roça da UENF	Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia

Tabela 3 – Formulário para coleta de *Ipomoea batatas*, em estabelecimentos comerciais, na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Coleta, caracterização molecular e conservação de variedades locais de batata-doce (<i>Ipomoea batatas</i>) do Estado do Rio de Janeiro	
Formulário para coleta de batata-doce	
Mestranda: Monique Moreira Moulin Orientadora: Rosana Rodrigues	
1. Tipo de estabelecimento: () Hortifruti () Feira livre () Mercado () Outros _____	
2. Nome do estabelecimento: _____ Data: __/__/__	
3. Endereço Rua: _____ Nº: _____ Bairro: _____	
4. Nome comum: _____	
5. Procedência: () Rio de Janeiro – Município (s) _____ () Outros estados – Estado/Município _____ () Desconhecida	
6. Forma de comercialização da raiz: () Inteiro () Minimamente processado () Outros _____	
7. Preço comercializado: _____	
Observações: _____ _____ _____	

3.2 Caracterização morfológica das raízes coletadas

Foram utilizados 19 descritores, sendo onze caracteres de raiz e oito da parte aérea. Os acessos foram caracterizados por descritores morfoagronômicos específicos para batata-doce, que estão disponíveis em *Bioversity International* (*Descriptors for sweet potato*), propostos por Huamán (1991). Os descritores de raiz foram:

- a) Peso da raiz (g) – obtido com o uso de uma balança;
- b) Comprimento da raiz (cm) – obtido com o uso do paquímetro digital;
- c) Diâmetro da raiz (cm) – obtido através da medição da região de maior diâmetro, com uso do paquímetro digital;
- d) Formato das raízes – determinado por meio de uma escala de notas: 1 – redonda; 2 – redonda elíptica; 3 – elíptica; 4 – oval; 5 – oboval; 6 – oblonga; 7 – oblonga longa; 8 – longa elíptica; e, 9 – longa irregular ou com curvaturas;
- e) Defeitos de superfície - determinado por meio de uma escala de notas: 0 – ausente; 1 – pele semelhante a jacaré; 2 – veias; 3 – constrições horizontais superficiais; 4 – constrições horizontais profundas; 5 – fendas horizontais superficiais; 6 – fendas horizontais profundas; e, 7 – constrições e fendas profundas;
- f) Espessura do córtex - determinado por meio de uma escala de notas, com utilização do paquímetro digital: 1 – muito fina (< 1mm); 3 – fina (1-2mm); 5 – intermediária (2-3mm); 7 – espessa (3-4mm); e, 9 – muito espessa (> 4mm);
- g) Cor da pele – determinado por meio de uma escala de notas: 1 – branca; 2 – creme; 3 – amarela; 4 – laranja; 5 – marrom alaranjado; 6 – rosa; 7 – vermelha; 8 – vermelha arroxeada; e, 9 – roxa escura;
- h) Intensidade da cor da pele – determinado por meio de uma escala de notas: 1 – pálida; 2 – intermediária; e, 3 – escura;
- i) Cor da polpa – determinado por meio de uma escala de notas: 1 – branca; 2 – creme; 3 – creme escura; 4 – amarelo pálida; 5 – amarelo-escuro; 6 – laranja pálida; 7 – laranja intermediária; 8 – laranja escura; e, 9 – pigmentado fortemente com antocianinas;

- j) Cor secundária da polpa – determinado por meio de uma escala de notas: 0 – ausente; 1 – branca; 2 – creme; 3 – amarelo; 4 – laranja; 5 – rosa; 6 – vermelha; 7 – vermelha arroxeada; 8 – roxa; e, 9 – roxa escura;
- k) Teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix) – determinado com auxílio de refratômetro com amostras do suco extraído da raiz.

Para as características quantitativas, peso, comprimento e diâmetro das raízes, espessura da casca e teor de sólidos solúveis totais, no mínimo três raízes por acesso foram caracterizadas. Após a caracterização das raízes, estas foram mantidas em local ventilado e fresco por alguns dias, até que ocorresse a formação de brotações, sendo posteriormente colocadas para multiplicação em casa de vegetação, na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), área experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Foi também cultivado um acesso de outra espécie (*Ipomoea pescaprae*), adquirido no município de São João da Barra, e quatro variedades comerciais de batata-doce ('Princesa', 'Brazlândia Branca', 'Brazlândia Rosada' e 'Brazlândia Roxa'), cujas ramas foram doadas pelo Pesquisador Dr. João Bosco Carvalho da Silva, da Embrapa Hortaliças, que foram utilizadas com o intuito de comparar os dados obtidos na caracterização morfoagronômica da parte aérea e molecular com os demais acessos deste estudo.

Aos 90 dias foi realizada a avaliação para as características referentes à parte vegetativa (folhas e pecíolos), quando a cultura estava em pleno desenvolvimento. As seguintes características da parte aérea foram avaliadas:

- a) Perfil geral da folha: 1 – redonda, 2 – reniforme; 3 – cordada; 4 – triangular; 5 – lanceolada, 6 – lobulada, 7 – quase dividida;
- b) Tipo de lóbulo da folha: 1 – ausência de lóbulos; 2 – muito superficiais, 3 – superficiais, 4 – moderados, 5 – profundos, 6 – muito profundos;
- c) Número de lóbulos da folha: obtido pela contagem dos lóbulos de cada folha;
- d) Forma do lóbulo central de cada folha: 1 – dentada; 2 – triangular; 3 – semicircular, 4 – semi-elíptica, 5 – elíptica, 6 – lanceolada, 7 – oblongo-lanceolada, 8 – linear, ou ausente;
- e) Cor da folha madura: descrita pela coloração geral da folha, pela escala: 1 – verde amarelado, 2 – verde, 3 – verde com bordas roxas, 4 – verde cinzento, 5 – verde com nervuras roxas na face, 6 – ligeiramente roxa; 7 – muito

roxa; 8 – verde na face superior e roxa na inferior, 9 – roxa em ambas as superfícies;

f) Cor da folha imatura: descrita da mesma forma que para o descritor cor da folha madura;

g) Tamanho da folha: medida pelo tamanho das três folhas localizadas na seção mediana da planta, e classificada como 3 – pequena (< 8 cm), 5 – média (8-15 cm), 7 – grande (16-25 cm) e 9 – muito grande (> 25 cm);

h) Pigmentação do pecíolo: descrita pela coloração geral do pecíolo, pela escala: 1 – verde; 2 – verde com segmentos roxos na extensão do pecíolo; 3 – verde com segmentos roxos próximos às folhas; 4 – verde com nervuras roxas nas duas extremidades; 5 – verde com manchas roxas ao longo do pecíolo; 6 – verde com estrias roxas; 7 – roxa com segmentos verdes próximos às folhas; 8 – alguns pecíolos verdes, outros roxos; 9 – totalmente ou maioria roxo.

3.3 Condições de cultivo

As plantas foram mantidas inicialmente em casa de vegetação, na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), uma área experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. As ramas e raízes coletadas, após a brotação das gemas foram plantadas em vasos de 5L, com solo tratado, e posteriormente, após 90 dias de plantio, 3,0 gramas de folhas jovens foram coletadas para análise molecular.

3.4 Caracterização Molecular

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV)/Marcadores Moleculares do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF, conforme as etapas descritas a seguir.

3.4.1 Preparo das amostras

As folhas jovens, sadias e em fase ativa de crescimento foram coletadas logo nas primeiras horas da manhã. Isso porque as plantas mantidas no escuro

acumulam menor teor de polifenóis (Sharma et al., 2008; Borges et al., 2009). As folhas correspondentes a cada acesso foram enroladas em papel alumínio, identificadas e imediatamente mergulhadas em N₂ líquido para que não ocorresse a degradação do DNA. Uma vez no laboratório, este material foi macerado em nitrogênio líquido até formar um pó bastante fino.

3.4.2 Extração do DNA

Cerca de 100 mg de tecido macerado foi transferido para tubos de 1,5 mL e imersos em N₂ líquido para a extração de DNA de acordo com o protocolo de Sharma et al., (2008), com modificações, descritas a seguir.

Foram adicionados aos tubos contendo as amostras 1 mL do tampão de extração pré-aquecido contendo 2 % CTAB, 2,0 mol L⁻¹ NaCl, 20 mmol L⁻¹ EDTA, 100 mmol L⁻¹ Tris-HCl (pH 8,0), 2 % PVP e 2,0 % β- mercaptoetanol, estes dois últimos necessários para remoção dos compostos fenólicos. Em seguida, foi adicionado 5 µL de proteinase K (10 mg mL⁻¹) em cada uma das amostras. Este material foi incubado a 37°C por 30 minutos e agitado suavemente a cada 10 minutos, e posteriormente incubado a 65°C por mais 30 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 8000 g durante 10 minutos. O sobrenadante (cerca de 800 µl) foi transferido para um novo tubo devidamente identificado e adicionado igual volume de fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (25:24:1), para se efetuar a desproteinização. Este material sofreu suaves inversões durante aproximadamente 10 minutos até ficar turvo. A fase orgânica foi separada por centrifugação, a 8000 g por 10 minutos.

O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, e em seguida, 200 µL de NaCl a 2,0 mol L⁻¹ contendo 4 % de PEG foi adicionado, para remoção completa de proteínas e recuperação do DNA, sendo as amostras incubadas por 15 minutos a 4°C. O material foi centrifugado a 8000 g por 10 minutos. Os ácidos nucleicos foram precipitados pela adição de dois terços (400 µl) do volume de isopropanol gelado, e incubados por 20 minutos a -70 °C. O precipitado foi sedimentado por centrifugação, a 8000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado duas vezes com 200 µl etanol a 75 % com acetato de amônio, para retirada de sal presente (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 8000 g durante 5 minutos). Após o descarte do último

sobrenadante, o material foi seco em condições naturais, até que o etanol estivesse removido. Em seguida, o material foi ressuspendido em 100 µl de solução TE (Tris-EDTA – 10 mmol L⁻¹ Tris-HCl, 1 mmol L⁻¹ EDTA, pH 8,0) com RNase em uma concentração final de 10 µg mL⁻¹ e incubado em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Logo após, o material foi armazenado a – 20 °C até o uso.

3.4.3 Quantificação do DNA

A quantificação do DNA foi realizada em géis de agarose 1,0 %, sendo a concentração das bandas determinada pelo Programa *Image*, utilizando-se como padrão um marcador de 250 pb. Posteriormente o DNA foi diluído (5 ng. µL⁻¹) para as reações de polimerase em cadeia (PCR).

3.5 Marcadores RAPD

3.5.1 Condições de Amplificação

As reações de amplificação foram realizadas de acordo com Williams et al. (1990), com modificações, em termociclador modelo Eppendorf. As reações foram completadas para um volume final de 13 µL, contendo os seguintes reagentes: 10 mmol L⁻¹ Tris HCl, pH 8,3; 50 mmol L⁻¹ KCl; 2,4 mmol L⁻¹ MgCl₂; 100 µmol L⁻¹ de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP); 0,4 µmol L⁻¹ de oligonucleotídeos iniciadores; 5 ng de DNA genômico e 0,75 unidade de Taq DNA polimerase. Foram aplicados 2 µL de DNA, e posteriormente adicionado o mix (11 µL) descrito anteriormente.

As reações de PCR (*GeneAmp PCR System 9700 Thermal cycler - Applied Biosystems*) foram conduzidas da seguinte forma: 4 min a 94 °C para desnaturação inicial, seguindo-se os 45 ciclos, cada um consistindo de 94 °C por 1 min, 35 °C por 1 min para anelamento do iniciador, e 72 °C por 3 min para extensão inicial, e uma extensão final a 72 °C por 7 min. Cada microtubo recebeu 6 µL de uma solução de *gel red* e *blue juice* (1:1) para corar a amostra, totalizando os 19 µL da reação. Os fragmentos amplificados foram então separados em gel de agarose 2 %, e submetidos à luz UV para visualização dos

resultados (Fotodocumentador *Minibis Pro – Bio-imaging System*). As imagens dos géis foram capturadas para posterior análise.

3.5.2 Seleção de iniciadores

Para escolha dos iniciadores foi realizada uma triagem com 32 iniciadores. Sendo escolhidos três genótipos com características morfológicas divergentes. Destes iniciadores foram selecionados 18 com boa amplificação, a saber: OPA 9; OPAA 03; OPAA 04; OPAA 11; OPAA 14; OPAA 16; OPAA 20; OPAB 06; OPAB 08; OPAC 07; OPAC 10; OPAC 12; OPAC 14; OPAC 15; OPAC 17; OPAC 20; OPB 17 e OPF 1 (série *Operon Technologies – Califórnia, USA*).

3.6 Marcadores ISSR

3.6.1 Condições de Amplificação

As reações de amplificação foram completadas para um volume final de 19 μL , contendo os seguintes reagentes: 10 mmol L^{-1} Tris HCl, pH 8,3; 50 mmol L^{-1} KCl; 2,4 mmol L^{-1} MgCl_2 ; 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada um dos dNTP; 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de oligonucleotídeos iniciadores; 5 ng de DNA genômico; 5 ng de DNA genômico e 0,75 unidade de Taq DNA polimerase. Foram aplicadas 2 μL de DNA, e posteriormente adicionado o mix descrito anteriormente.

As reações de PCR (*GeneAmp PCR System 9700 Thermal cycler - Applied Biosystems*) foram conduzidas da seguinte forma: 3 min a 94 °C para desnaturação inicial, seguindo-se os 40 ciclos, cada um consistiu de 94 °C por 1 min, 40-55 °C por 1 min (dependendo do iniciador utilizado), 72 °C por 3 min, e uma extensão final a 72 °C por 7 min. Os fragmentos amplificados foram então separados em gel de agarose 1,5 %, corados com *gel red*, e submetidos à luz UV para visualização dos resultados (Fotodocumentador *Minibis Pro – Bio-imaging System*). As imagens dos géis foram capturadas para posterior análise.

3.6.2 Seleção de iniciadores

As condições de amplificação foram otimizadas para cada iniciador, detectando-se a temperatura mais adequada para amplificação. Foram utilizados 19 iniciadores: (GAGA)₃CC; (GT)₆CC; (CAC)₃GC; (AG)₈YT; (AC)₈CG; (AC)₈CT; (AC)₈YG; (CT)₈RG; (GGAT)₃GA; (GAA)₆AA; (AG)₈C; (CT)₈G; (AC)₈T; (AG)₈YA; (GA)₈YT; (CA)₈RG; (GT)₈YC; (AC)₈YC e (ATG)₆ (UCB primers – Columbia, Canadá), conforme proposto por Hu et al., (2003) para batata-doce.

3.7 Análise estatística de dados

3.7.1 Caracterização morfoagronômica

Os dados quantitativos e qualitativos das raízes, e qualitativos da parte vegetativa foram analisados com auxílio do programa Genes (Cruz, 2006) para obtenção da matriz de dissimilaridade, e pelo programa R (<http://www.r-project.org>) para obtenção do dendrograma.

A estimativa da matriz de distância genética por meio das variáveis quantitativas foi obtida com base na distância Euclidiana Média Padronizada. O agrupamento das raízes foi obtido pelo método *Unweighted Paired Group Method using Arithmetic averages* (UPGMA) e a validação pelo coeficiente de correlação cofenético. Para análise das características qualitativas de raízes e parte vegetativa, utilizou-se a distância de Cole-Rodgers (1997) e o dendrograma foi obtido com o método UPGMA.

3.7.2 Análise dos fragmentos amplificados

Os dados foram obtidos pela avaliação visual das bandas mais consistentes e evidentes nos 82 acessos estudados. Estes foram utilizados para elaboração de uma matriz de dados binários, utilizada para calcular a matriz de dissimilaridade, em que o número 1 correspondeu à presença de banda, o zero, à ausência de banda, e quando não foi possível determinar se a banda estava presente ou não em função da não amplificação de um dado acesso para um determinado iniciador, foi computado como número 2.

A análise de todos os dados foi feita pelo programa Genes (Cruz, 2006), com exceção dos dendrogramas que foram obtidos pelo método UPGMA, e gerados com o auxílio do programa R (www.r-project.org). Posteriormente, foi realizada a correlação cofenética entre a matriz de agrupamento e a matriz de distância.

3.7.3 Divergência Genética

Após a exclusão dos marcadores monomórficos estimou-se a dissimilaridade genética entre os acessos de batata-doce. Para obtenção da matriz de dissimilaridade foi utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard. Esse coeficiente consiste na comparação do número de presenças de bandas comuns e o número total de bandas envolvidas, excluindo 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 = número de bandas presentes nos acessos i, j;

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

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

O agrupamento foi realizado a partir dos dados dessa matriz. Para esta análise foi utilizado o método hierárquico de UPGMA. Segundo Cruz e Regazzi (2004), este método permite ao pesquisador verificar o grau de similaridade entre genitores, genitores e grupos similares, ou entre grupos distintos.

No método UPGMA, 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 calculadas por:

$$d(ij)k = \text{média } \{dik + dj k\} = \frac{(dik + dj k)}{2}$$

$d(ij)k$ = distância média entre o grupo ij e o indivíduo k;

dik = distância entre os indivíduos i e k;

djk = distância entre os indivíduos j e k.

3.8 Cultivo e estabelecimento de coleção *in vitro*

A etapa de cultivo e manutenção do banco de germoplasma de batata-doce *in vitro* foi realizada no Laboratório de Fitotecnia (LFIT)/ Cultura de Tecidos, do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF, conforme as etapas descritas a seguir.

3.8.1 Obtenção dos explantes

O material vegetal utilizado para obtenção dos explantes e posterior formação do banco de germoplasma foi obtido do cultivo em casa de vegetação na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), em área experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Foram coletadas ramas de alguns dos genótipos, e cortados em segmentos nodais de aproximadamente 10 mm. Para desinfestação, os segmentos caulinares foram mergulhados em álcool 70 % por 1 minuto em um frasco de Erlenmeyer esterilizado. Em seguida, esterilizados com 0,5 % de hipoclorito de sódio (NaClO) por 15 minutos. Logo após, foram lavados três vezes com água destilada estéril, por 5, 10 e 10 minutos respectivamente. Em seguida, as gemas axilares contendo os ápices meristemáticos foram retiradas, com tamanho de 2 a 4 mm, e então colocadas em meio de cultura.

3.8.2 Ensaio 1

A fim de estabelecer as condições mais favoráveis à conservação *in vitro*, foi realizado um ensaio preliminar em que a cultivar Princesa e um acesso coletado em propriedades rurais (UENF 1915) foram testados em tratamentos, contendo variáveis fisiológicas pré-estabelecidas para conservação combinada. Foram utilizados três tipos de variáveis fisiológicas: a concentração dos nutrientes do meio MS (Murashige e Skoog, 1962); a concentração de sacarose do meio de cultura e a temperatura.

Para observar o efeito da concentração do meio de Murashige e Skoog (1962) na conservação *in vitro*, foram elaborados dois tipos de meio de cultura, um deles contendo a concentração total dos macronutrientes e micronutrientes (MS 100 %); e outro, contendo a metade da concentração de macronutrientes e micronutrientes (MS 50 %).

Foram utilizadas três dosagens de sacarose nos meios de cultura: 5, 10 e 20 g.L⁻¹, e duas temperaturas distintas: 18 ± 2°C acondicionadas em estufas tipo BOD, e 27 ± 2°C acondicionadas em sala de cultivo.

Foi adotado um tratamento controle para cada acesso, mantendo-se as condições ideais de micropropagação da cultura (30 g.L⁻¹ de sacarose, 27°C e MS 100 %).

Desta forma, 'Princesa' e o acesso UENF 1915 foram testados em 13 tratamentos distintos de conservação *in vitro*, sendo realizadas 10 repetições por tratamento, constituindo-se em um fatorial de 2x3x2, somando-se a um tratamento controle para cada um dos acessos testados.

Para manutenção das condições experimentais, as mais homogêneas possíveis, foi observada com rigor a mesma quantidade de meio de cultura nos frascos e a padronização do tamanho dos ápices meristemáticos, utilizados como explantes dos 13 tratamentos.

Os meios de cultura foram previamente autoclavados, durante 15 minutos, a 121°C e 1 atm. O pH do meio foi ajustado para 5,7 com a utilização de KOH ou HCl, solidificando-se com 10,0 g.L⁻¹ de ágar. Os tubos de ensaio de 2,5x15 cm contendo 10 mL de meio de cultura foram incubados em salas de crescimento com fotoperíodo de 16:8 horas (luz:escuro) sob lâmpada fluorescente/luz do dia,

temperatura média de $27^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$, e em BOD, com igual fotoperíodo e luz, temperatura média de $18^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$.

3.8.3 Ensaio 2

Nove acessos (UENF 1917 a UENF 1925) foram colocados em meio contendo apenas água desionizada estéril e ágar na concentração de 8 g/L^{-1} , com o objetivo de observar o estabelecimento e conservação das plantas. Neste ensaio, os acessos foram mantidos por um período de seis meses, verificando-se a taxa de contaminação, aqueles que possuíam boa condição de sanidade foram selecionados e transferidos para meio básico MS em tubos de ensaio, para o desenvolvimento dos explantes.

O meio inicial foi constituído apenas por água desionizada estéril e 8 g L^{-1} de ágar. O meio MS básico foi constituído de nutrientes inorgânicos e orgânicos, nas quantidades propostas por Murashige e Skoog (1962), os quais foram acrescidos de 30 g L^{-1} de sacarose e 8 g L^{-1} de ágar.

O pH dos meios foi ajustado para 5,7. Os meios foram autoclavados, durante 15 minutos, a 121°C e 1 atm, e distribuídos em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio nutritivo. Os explantes foram mantidos a 27°C em sala de cultura com fotoperíodo de 18:6 horas (luz:escuro), irradiância de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes/luz do dia.

3.8.4 Avaliação do experimento

As avaliações dos experimentos 1 e 2 foram realizadas semanalmente, onde foram observados a viabilidade e o índice de conservação do material.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Coleta em propriedades rurais

Seis viagens de coleta foram realizadas e 53 propriedades rurais da região norte do Estado do Rio de Janeiro foram amostradas no período entre 19 de março a 20 de abril de 2009, abrangendo localidades dos municípios de Campos dos Goytacazes e São João da Barra. Destas, houve coleta de raízes em 37 propriedades rurais, conforme mostrado no mapa de coleta com os pontos localizados com o uso de GPS (Figura 1), e em 16 propriedades não houve coleta, pois não havia plantios de batata-doce, conforme mostrado no mapa (Figura 2). As raízes de batata-doce coletadas nas propriedades rurais tinham diferentes formatos, cores e texturas, podendo-se observar uma ampla variabilidade morfológica, conforme mostrado na Tabela 4. Nesta também estão dispostos dois acessos provenientes de propriedades rurais do Estado do Espírito Santo e um acesso de Seropédica, e outros dez acessos (UENF 1917 a UENF 1926) que haviam sido coletados em propriedades rurais do Norte Fluminense em um estudo anterior, e que foram também incluídos neste trabalho.

A descrição de cada uma das expedições de coleta será feita separadamente, para caracterizar cada coleta com a respectiva data (época) da viagem. A escolha 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.



Figura 1. Mapa com os pontos de coleta de *Ipomoea batatas* na região norte do Estado do Rio de Janeiro obtido por meio de GPS. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Identificação dos locais:

003 – Projeto de Assentamento Che Guevara; 005 e 008 – Azeitona; 009 e 010 – Barra do Açu; 012 – Caboios; 013 – Tócos; 014 e 015 - Marcelo; 016 – Retiro; 017 – Alto de Areia; 018 e 019 – Matutu; 020 – Caixeta; 021, 022, 023, 024 e 025 – Projeto de Assentamento Zumbi IV; 027 – Rua Nova; 032 e 034 – Campo de Areia; 037 e 038 – Vila Nova de Campos; 039, 040, 041, 042 e 043 - São Luiz de Mutuca; 044 - Morro do Coco; 045 – Santo Eduardo; 046 e 047 – Projeto de Assentamento Antônio de Faria; 049 – Guriri; 051, 052 e 053 – Dolores de Macabu.



Figura 2. Mapa com os pontos onde não houve coleta de *Ipomoea batatas* na região norte do estado do Rio de Janeiro obtido por meio de GPS. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Identificação dos locais:

001 e 002 – Projeto de Assentamento Ilha Grande; 004 – Sabonete; 006 – Azeitona; 007 – Capela de São Pedro; 011 – Carvão; 026 – Rua Nova; 028; 029; 030; 031 e 033 – Campo de Areia; 035 – Monte Negro; 036 – Saquarema Grande; 048 – Projeto de Assentamento Antônio de Faria; 50 – Dolores de Macabu

Tabela 4. Nome comum, procedência dos acessos de batata-doce coletados nos municípios de Campos dos Goytacazes e São João da Barra. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Acesso	Nome Comum	Local de Coleta	Nome do Produtor	Raiz
UENF 1949	Batata-doce Vermelha	Projeto de Assentamento Che Guevara	Manoel Batista de Souza	
UENF 1950	Batata-doce Penquinha	Azeitona	Antônio Nério Filipe Gomes	
UENF 1951	Batata-doce Comum	Azeitona	Ronaldo Toledo de Almeida	
UENF 1952	Batata-doce Vermelha	Barra do Açu	Valmir Rodrigues Rangel	

Tabela 4, Cont.

UENF 1953	Batata-doce de três meses	Barra do Açu	Gabriel Nunes	
UENF 1954	Batata-doce Comum	Caboios	Dilma Maria da Costa Rodrigues	
UENF 1955	Batata-doce Rosada	Tócos	Maria Silva Manhães	
UENF 1956	Batata-doce Branca ou da Angola	Marcelo	Rodovia Marcelo São Martinho	
UENF 1957	Batata-doce Comum	Marcelo	Rodovia Marcelo São Martinho	Rama
UENF 1958	Batata-doce Roxa	Retiro	Jorge Nogueira da Silva	

Tabela 4, Cont.

UENF 1959	Batata-doce Dr. Ney	Alto de Areia	Antônio Amaro de Oliveira	
UENF 1960	Batata-doce Rainha	Matutu	Arlindo Rangel Ribeiro	Rama
UENF 1961	Batata-doce Rainha	Matutu	Guaraci Ribeiro	Rama
UENF 1962	Batata-doce Comum	Caixeta	Ledilma Silva	Rama
UENF 1963	Batata-doce Branca	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Maria Rita Thomas	
UENF 1964	Batata-doce Rosada	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Maria Rita Thomas	
UENF 1965	Batata-doce Penquinha	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Francisco José Fortunato	Rama
UENF 1966	Batata-doce Roxa	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Osiel Fortunato	Rama

Tabela 4, Cont.

UENF 1967	Batata-doce Graúda	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Odélio Lopes Valentim	
UENF 1968	Batata-doce Vermelha	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Marivalda Rodrigues	
UENF 1969	Batata-doce da Costa	Rua Nova	Arialdo Ribeiro Alves	
UENF 1970	Batata-doce Penquinha	Campo de Areia	Carlos Alberto Gomes da Silva	Rama
UENF 1971	Batata-doce Vermelha	Campo de Areia	Noel de Fátima Barreto	Rama
UENF 1972	Batata-doce Rosada	Campo de Areia	Noel de Fátima Barreto	
UENF 1973	Batata-doce Comum	Vila Nova de Campos	José Antônio Toledo	Rama

Tabela 4, Cont.

UENF 1974	Batata-doce Rainha	Vila Nova de Campos	Dirçon Siqueira Reis	
UENF 1975	Batata-doce Comum	São Luiz de Mutuca	Amaro Ribeiro Filho	Rama
UENF 1976	Batata-doce pele de jacaré	São Luiz de Mutuca	Amaro Ribeiro Filho	Rama
UENF 1977	Batata-doce Comum	São Luiz de Mutuca	Carla Francisca da Silva	Rama
UENF 1978	Batata-doce Vermelha	São Luiz de Mutuca	Janilson da Silva Alves	Rama
UENF 1979	Batata-doce Comum	São Luiz de Mutuca	Lair Ferreira	Rama
UENF 1980	Batata-doce Comum	Morro do Coco	Joaquim Pena Silva	Rama
UENF 1981	Batata-doce Comum	Santo Eduardo	José de Oliveira Ferreira	Rama

Tabela 4, Cont.

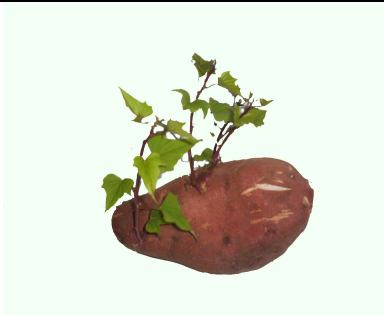
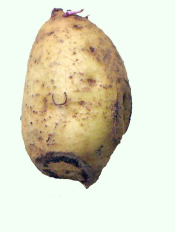
UENF 1982	Batata-doce Vermelha	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	Marisa Santana dos Santos	
UENF 1983	Batata-doce Comum	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	Marisa Santana dos Santos	Rama
UENF 1984	Batata-doce Rosada	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	Celma Lúcia Lima Pessanha	
UENF 1985	Batata-doce Comum	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	Celma Lúcia Lima Pessanha	
UENF 1986	Batata-doce Rainha	Guriri	Maria Célia Costa	Rama
UENF 1987	Batata-doce Rosada	Dores de Macabu	Marizete de Souza	Rama
UENF 1988	Batata-doce Comum	Dores de Macabu	Marizete de Souza	Rama

Tabela 4, Cont.

UENF 1989	Batata-doce Rosada	Dores de Macabu	Edson Lima Nunes	Rama
UENF 1990	Batata-doce Comum	Dores de Macabu	Edson Lima Nunes	Rama
UENF 1991	Batata-doce Comum	Dores de Macabu	Néia Alves do Couto	Rama
UENF 1992	Batata-doce Comum	Dores de Macabu	Néia Alves do Couto	Rama
UENF 1993	Batata-doce Comum	Dores de Macabu	Néia Alves do Couto	Rama
UENF 1917	Batata-doce de três meses	Bajuru	Celmo Manhães Machado	
UENF 1918	Batata-doce comum	Marrecas	Manoel Batista de Souza	Rama
UENF 1919	Batata-doce comum	São Martinho	Antônio Ribeiro Sales	Rama
UENF 1920	Batata-doce comum	Baixa Grande	Elça Almeida da Silva Mota	
UENF 1921	Batata-doce rosada	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Maria Rita Thomás	Rama

Tabela 4, Cont.

UENF 1922	Batata-doce branca	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Antônia Silva	
UENF 1923	Batata-doce marron	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Antônia Silva	
UENF 1924	Batata-doce Comum	Projeto de Assentamento Zumbi IV	Antônia Silva	
UENF 1925	Batata-doce Banha de galinha	Campelo	Manoel da Silveira	
UENF 1926	Batata-doce Comum	Campelo	Manoel da Silveira	
UENF 1927	Batata-doce Comum	Alegre	Edson Moreira	Rama
UENF 1928	Batata-doce Comum	Cachoeiro de Itapemirim	Edson Moreira	Rama
UENF 1929	Batata-doce Comum	Seropédica	-	Rama

4.1.1 Primeira coleta (19.03.09)

Foram visitadas dez propriedades rurais em cinco localidades: Marrecas, restringindo-se ao Assentamento Che Guevara e Ilha Grande, Azeitona, Barra do Açu, Capela de São Pedro e Sabonete.

Foi possível constatar que as principais hortaliças cultivadas nas localidades neste período eram o quiabo, o maxixe e a abóbora. Outras culturas são cultivadas em escala mais significativa, como a cana-de-açúcar e o abacaxi. Segundo os agricultores familiares estas culturas geram uma maior rentabilidade do que a cultura de batata-doce. Entretanto, o produtor rural Manoel Batista de Souza, destacou que a cultura possui como principal vantagem a regularidade de produção, tendo raízes para comercializar durante todo o ano. Além disso, mencionou outro interessante emprego para a cultura, relatando que sempre mantém o plantio da cultura, para melhorias das pastagens. Segundo Montes et al., (2008) a cultura da batata-doce tem sido muito utilizada como alternativa em recuperação de pastagens, constituindo-se em uma atividade agrícola de expressão junto a pequenos e médios produtores rurais, justamente por tratar-se de uma exploração vegetal que apresenta fácil cultivo, resistência à seca e por permitir a proteção do solo.

Houve coletas em cinco das dez propriedades visitadas, sendo o plantio da batata-doce voltado para o próprio consumo e realizado em pequenas áreas, geralmente nos quintais das casas. No Brasil, a cultura da batata-doce tem sido cultivada, ao longo do tempo, de maneira empírica pelas famílias rurais, cultivada em conjunto com diversas outras culturas, visando à alimentação das próprias famílias. Silva et al. (2004) consideram que o investimento na cultura de batata-doce é muito baixo, e o principal argumento contrário ao incremento de tecnologia a esta cultura é que sua lucratividade é pequena, fato este decorrente do pequeno volume individual de produção.

Apenas na propriedade do senhor Antônio Nério Filipe Gomes, em Azeitona (distrito de São João da Barra) a produção é voltada para a comercialização, com uma área de cerca de dois hectares. Ele destaca que a colheita é realizada em média após quatro meses de plantio, o revolvimento das batatas é realizado por operação manual, e estas são posteriormente acondicionadas em caixas do tipo “K” (Figura 3) e vendidas ao intermediário,

sendo o preço pago ao produtor R\$12,00 a caixa de 20kg. Segundo o agricultor, as batatas-doces de tamanho médio e casca mais lisa são preferidas para comercialização.



Figura 3. Acondicionamento da batata-doce em caixas na propriedade do senhor Antônio Nério Filipe Gomes, para posterior comercialização, na localidade de Azeitona (distrito de São João da Barra). Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Na localidade de Barra do Açu, o produtor rural Gabriel Nunes disse já ter plantado batatas-doces de diferentes tipos, mas no período da coleta ele estava plantando apenas a que ele denominou como “batata-doce de três meses”. Mencionou que sua esposa fazia doces e bolos que eram vendidos na Feira da Rodoviária. O mesmo relatou estar bastante desestimulado devido às enchentes, e na oportunidade citou que as propriedades da localidade estavam sofrendo uma forte pressão imobiliária com a implantação do Complexo Portuário do Açu, e que acredita que em breve haverá na região um enorme abandono das atividades agrícolas.

Em todas as propriedades visitadas nesta expedição, a batata-doce cultivada foi cedida por algum produtor rural vizinho ou familiar, e as batatas são produzidas sem que haja adubação ou aplicação de produtos químicos. Esses produtores cultivam a batata-doce por um longo período, principalmente devido à baixa exigência de tratos culturais.

Observou-se que nessas localidades visitadas no primeiro dia de coleta havia pequenas áreas com diversas culturas, o que segundo os próprios produtores é comum na região, sendo principalmente utilizada para o próprio sustento ou uma alternativa, caso haja redução de preço de um dos produtos cultivados. Segundo Souza et al., (2008), uma das características da produção familiar é a policultura. Ainda que cultivem um produto principal, voltado para o mercado, os pequenos produtores, de um modo geral, se dedicam a várias outras atividades, seja para comercializar ou simplesmente para a subsistência da família.

Quanto às propriedades rurais nas quais não havia plantio, os produtores alegaram que a principal dificuldade é a comercialização, e os preços baixos pagos. Mencionaram ainda que, para as culturas cultivadas, de uma forma geral falta assistência técnica na região Norte Fluminense.

4.1.2 Segunda Coleta (23.03.09)

Foram visitadas sete propriedades rurais em seis localidades: Carvão, Tócos, Marcelo, Retiro, Caboios e Alto de Areia.

A localidade de Carvão já foi uma das regiões que concentrou uma das maiores produções de hortaliças do Norte do Estado do Rio de Janeiro, porém, atualmente boa parte da população migrou para a cidade, estando muitas propriedades abandonadas, e os demais produtores se dedicam ao plantio de cana-de-açúcar, alegando que esta gera uma maior lucratividade, além da tradição familiar de plantio desta cultura.

Apesar disso, houve coletas em seis das sete propriedades visitadas. Quatro acessos foram coletados próximos a rodovias, em pequenas chácaras localizadas em ambientes mais urbanizados (Figura 4). De forma geral, os produtores não utilizam defensivos agrícolas e não há uso de irrigação ou outros tratos culturais. Apenas na propriedade do senhor Jorge Nogueira da Silva, na

localidade de Retiro, foi possível observar a fase inicial de implantação de um sistema de irrigação, bem como o produtor mencionou pulverizar as leiras de batata-doce com inseticidas (Figura 5). Esta lavoura comercial de batata-doce havia sido iniciada há apenas um mês, e era a primeira vez que o agricultor estava realizando o plantio da cultura. A terra foi doada por familiares do produtor e a venda será feita por meio de intermediários, segundo ele “o atravessador diminui o trabalho, além de já possuir contato direto com os locais de venda”. Entretanto ele reconheceu que seus lucros poderiam ser maiores caso houvesse venda direta.

É importante destacar que os custos estimados com a produção refletem a situação dos agricultores familiares da região Norte Fluminense que, em geral, desenvolvem suas atividades com um padrão tecnológico mais baixo, não empregando, por exemplo, a irrigação, que é uma técnica de grande importância na região, de baixa pluviosidade (Souza et al. 2008).



Figura 4. Plantio de batata-doce próximo à rodovia BR-101, em pequenas chácaras. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.



Figura 5. Implantação de um sistema de irrigação de batata-doce para fins comerciais, na propriedade do Senhor Jorge Nogueira da Silva. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

4.1.3 Terceira Coleta (26.03.09)

Foram visitadas oito propriedades rurais em três localidades: Matutu, Caixeta e Campelo, neste último restringindo-se ao Assentamento Zumbi dos Palmares IV.

Nessas localidades há um predomínio da agricultura familiar, havendo pequenos plantios de batata-doce para o próprio consumo em todas as propriedades visitadas. Segundo o técnico da EMATER, o Engenheiro Agrônomo José Roberto Pereira da Silva que acompanhou todas as coletas, o solo arenoso da região é propício ao cultivo de batata-doce. Outras hortaliças também são cultivadas na maioria das propriedades, como por exemplo, quiabo, mandioca e maxixe. Geralmente, esses pequenos produtores já cultivam o mesmo genótipo de batata-doce há décadas e este foi doado por familiares. Como exemplo, pode-se citar a produtora Maria Rita Thomás, que planta o mesmo genótipo de batata-doce há mais de quatro décadas (Figura 6). Nesta propriedade foi encontrado um tipo de batata-doce, popularmente denominado de batata-doce branca, que

segundo a produtora não é comercializado, sendo utilizado apenas para o próprio consumo.



Figura 6. Produtora Maria Rita Thomás do Assentamento Zumbi dos Palmares IV, na localidade de Campelo, que cultiva a mesma variedade há mais de quatro décadas, sem utilização de insumos agrícolas. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Observou-se uma grande incidência de pragas na cultura de batata-doce (Figura 7), principalmente vaquinha (*Diabrotica speciosa*). Entretanto, apenas dois produtores afirmaram utilizar algum tipo de defensivo agrícola.

Outro fato relevante a ser destacado é que a maioria dos produtores destacou que não planta mais ou está plantando em quantidades pequenas a batata-doce, pois a venda é bastante difícil. Em anos anteriores não houve venda, o que gerou desânimo em boa parte destes produtores.



Figura 7. Incidência de praga (*Diabrotica speciosa*) na cultura de batata-doce na localidade de Campo de Areia. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

4.1.4 Quarta Coleta (06.04.09)

Foram visitadas onze propriedades rurais em quatro localidades: Rua Nova, Campo de Areia, Monte Negro e Saquarema Grande.

Nessas localidades foi possível constatar um abandono das atividades de plantio, e os antigos produtores rurais dedicando-se às atividades de pesca e pecuária. Segundo os proprietários rurais o valor pago pela hortaliça é muito baixo, além disso, na localidade de Campo de Areia há um canal assoreado que impede os plantios de quaisquer culturas na região, ficando restrito à pecuária.

Alguns produtores mencionaram não ter interesse em continuar exercendo atividades agrícolas, e estavam neste período exercendo também outras atividades informais para complementar a renda familiar. Boa parte deles estimula seus filhos a não exercer atividades agrícolas, incentivando que eles trabalhem em outros setores que lhes ofereçam maiores possibilidades de crescimento, promovendo assim um aumento do abandono das atividades agrícolas. Para Peres et al. (2004), o declínio da pequena atividade rural, de cunho familiar, e do trabalho assalariado nas grandes lavouras, faz com que cada vez mais pessoas abandonem esta tradicional ocupação, migrando em direção às periferias dos

centros urbanos, em busca de condições melhores de emprego, objetivo este que, na maioria dos casos, não é alcançado.

Apesar disso, foram encontrados alguns produtores rurais cultivando variedades locais de batata-doce. Houve coleta em três das nove propriedades visitadas. Devido às fortes chuvas ocorrentes entre dezembro de 2008 e fevereiro de 2009 essas regiões encontravam-se alagadas e poucos plantios resistiram. Muitas áreas ainda estavam inundadas na época (Figura 8).



Figura 8. Plantio de batata-doce, em local ainda bastante alagado pelas chuvas do final do ano de 2008. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Houve coleta nas localidades de Rua Nova e Campo de Areia. Os genótipos de batata-doce vêm sendo cultivados há cerca de duas décadas pelas famílias dos agricultores que doaram as raízes, e cujas raízes são muito apreciadas para o consumo quando cozidas, além de serem utilizadas no preparo de bolos e doces em calda. O senhor Noel de Fátima Barbosa Barreto relatou que vende compotas de batata-doce na Feira da Roça da Rodoviária há três anos, além de compotas de abóbora e coco. As feiras são instrumentos fundamentais na valorização das especificidades culturais e ambientais da produção familiar.

Com dimensões variadas de tamanho, inserção e resultados, a feira é um espaço dinâmico de comercialização, geração de renda e abastecimento. É também, sem dúvida, um espaço privilegiado para a criação de políticas públicas de apoio às famílias agricultoras (Ribeiro et al., 2003).

4.1.5 Quinta Coleta (18.05.09)

Foram visitadas nove propriedades rurais em quatro localidades: Vila Nova de Campos, São Luiz de Mutuca, Morro do Coco e Santo Eduardo.

Nestas localidades também foi notório o predomínio da agricultura familiar. Grande parte dos moradores encontra-se ligado às atividades agrícolas, exercendo pequenos plantios para a venda em mercados de Campos dos Goytacazes e Bom Jesus do Itabapoana. Segundo Brasil et al., (2009) a agricultura familiar representa um mercado de trabalho gerador de emprego e renda para muitos brasileiros. As famílias que exercem a pequena produção dependem da renda e dos benefícios para garantir a sobrevivência dos seus filhos e demais dependentes.

Houve coleta em todas as propriedades visitadas. Nestas, além de comercialização da batata-doce, muitas outras culturas também eram plantadas com objetivo comercial, tais como abacaxi, banana, laranja, entre outras. As propriedades de uma forma geral são pequenas, não ultrapassando dois hectares.

Segundo o Engenheiro Agrônomo José Roberto, estas localidades têm se mostrado mantenedoras de um grande repositório de diversidade genética, e de conhecimento a respeito das peculiaridades de manejo desta diversidade. Apesar disto, o risco de perda desta diversidade é muito grande devido às inúmeras influências que têm incentivado os agricultores a abandonarem a atividade agrícola.

A produtora rural Carla Francisca da Silva, moradora de São Luiz de Mutuca, relatou que já cultiva a hortaliça há mais de uma década, e disse que não pretende deixar de plantá-la, devido à facilidade de cultivo, e descreveu também que em determinados períodos ela adiciona uma camada de esterco sobre o solo para tornar as raízes mais viçosas. Entretanto, ela mencionou que dificilmente a

tradição será mantida, pois seus filhos moram na cidade e não pretendem voltar para o interior e continuar com a atividade agrícola.

Na propriedade do senhor Amaro Ribeiro Filho foi constatado o cultivo da batata-doce em consórcio com lavouras de abóbora, abacaxi e mandioca. Segundo o mesmo sua intenção é comercializar toda a produção, mencionando a expectativa de aumentar a produção para o próximo ano. As batatas-doces produzidas tinham película externa rosada e formato oval, que o agricultor disse ser a preferida pelo mercado consumidor. Não há aplicação de produtos químicos, apesar da ocorrência eventual de brocas nas raízes. Estas serão comercializadas com o auxílio de intermediários.

Durante as entrevistas pode-se observar que todos os entrevistados apontaram como a principal dificuldade a venda da batata-doce, dando-se preferência ao plantio de abacaxi, em Vila Nova de Campos, e de tomate, em Santo Eduardo, devido à facilidade de comercialização destes produtos.

4.1.6 Sexta Coleta (20.05.09)

Foram visitadas oito propriedades rurais em três localidades: Projeto de Assentamento Antônio de Farias, Guriri e Dores de Macabu.

Apesar da forte expectativa de encontrar genótipos de batata-doce no Projeto de Assentamento Antônio de Faria, foi constatado que praticamente não há plantio de hortaliças nas localidades visitadas neste dia. Os agricultores entrevistados mencionaram uma série de dificuldades, como demanda e escoamento da produção, solo impróprio, exigência de muitos tratos culturais para determinadas hortaliças. Bittencourt et al. (1999) concluíram que a qualidade físico-química dos solos, a disponibilidade de água, a frequência das chuvas e o relevo têm sido aspectos importantes para determinar o nível de desenvolvimento dos assentamentos. Além disso, tais aspectos podem ser considerados como pré-condições para o êxito dos projetos de assentamento.

Segundo o técnico da EMATER, Eng. Agrônomo José Roberto o assentamento Antônio de Farias, conta com 92 assentados e foi fundado em 2000. Muitos dos assentados esperam verbas e parcerias com órgãos do governo, que na maioria das vezes não chega. Entretanto, é marcante a diversidade da fruticultura, tais como goiaba, coco, banana, limão e laranja, cujos

produtos finais são compotas, geléias, entre outros doces. Devido à dificuldade de escoamento da produção de batata-doce, os baixos preços pagos, e por considerarem o plantio comercial de outras culturas mais vantajoso, principalmente frutas, foi notório o abandono do plantio da cultura, com isso o risco de perda do material genético junto aos agricultores da localidade é grande.

Houve coleta em seis das oito propriedades visitadas. Outro fator a ser destacado é que, nas propriedades onde há comercialização da batata-doce, o produto é comercializado com o auxílio de um intermediário. Estudos realizados por Guanziroli e Cardim (2000) sobre o grau de integração dos agricultores com o mercado concluíram que a agricultura familiar tem dificuldades para integrar-se com o mercado, necessitando na maioria dos casos de um intermediário.

É importante ressaltar que em todos os dias de coleta foi constatado predominância da agricultura tradicional familiar, cerca de 72 % dos produtores rurais entrevistados disseram plantar batata-doce há mais de uma década, a principal vantagem destacada pelos produtores rurais foi a regularidade da produção da cultura, e as desvantagens mais relatadas foram os baixos preços e dificuldade de escoamento da produção. São produtos característicos da agricultura tradicional: abacaxi, inhame, mandioca, milho, cana-de-açúcar, batata-doce e outras hortaliças. Entretanto, poucos são produzidos com regularidade, sendo, somente, a batata-doce produzida com maior regularidade (Targino e Couto, 2007). Outro fato interessante observado é a dimensão da área cultivada de batata-doce, que variou de plantios em áreas bem pequenas, algumas vezes nos quintais das casas, atingindo no máximo dois hectares.

4.2 Coleta nos estabelecimentos comerciais

Dezenove acessos de batata-doce foram encontrados em hortifrutis, mercados e feiras do município de Campos dos Goytacazes. As coletas e entrevistas foram feitas nos dias 28 e 30 de janeiro, 12 e 13 de fevereiro de 2009. As raízes disponíveis nesses estabelecimentos comerciais eram provenientes dos municípios de Vitória – Espírito Santo, São João da Barra, Campos dos Goytacazes e Cabo Frio. Pode-se observar uma gama de formatos, colorações da casca e texturas de superfície, conforme Tabela 5. As cultivares cedidas pela Embrapa Hortaliças são mostradas na Tabela 6.

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

Acesso	Nome Comum	Local de coleta	Procedência	Raiz
UENF 1930	Batata-doce Rosada	Feira da roça da Record	São João da Barra – RJ	
UENF 1931	Batata-doce Comum	Feira da roça da Record	Campos dos Goytacazes – RJ	
UENF 1932	Batata-doce Comum	Feira da roça da UENF	São João da Barra – RJ	
UENF 1933	Batata-doce Comum	Supermercado Superbom	Campos dos Goytacazes – RJ	
UENF 1934	Batata-doce Comum	Hortifruti Frutas e Cia	Vitória – ES	

Tabela 5, Cont.

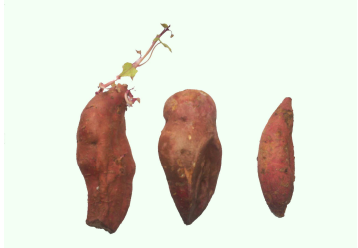
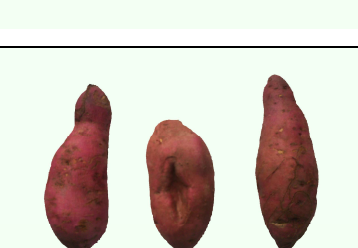
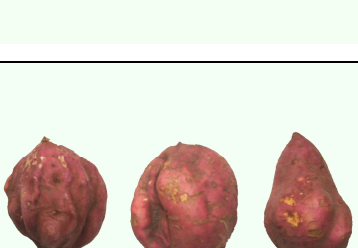
UENF 1935	Batata-doce Comum	Mercado Municipal	Vitória – ES	
UENF 1936	Batata-doce Comum	Hortifruti da Palmeira	Campos dos Goytacazes – RJ	
UENF 1937	Batata-doce Comum	Hortifruti João e Maria	São João da Barra – RJ	
UENF 1938	Batata-doce Comum	Supermercado ABC Compre Bem	Cabo Frio – RJ	
UENF 1939	Batata-doce Comum	Supermercado Esperança	Cabo Frio – RJ	
UENF 1940	Batata-doce Comum	Hortifruti Campos	Vitória – ES	

Tabela 5, Cont.

UENF 1941	Batata-doce Comum	Hortifruti das Palmeiras	Vitória – ES	
UENF 1942	Batata-doce Comum	Supermercado Super Romão	Vitória – ES	
UENF 1943	Batata-doce Comum	Hortifruti e Abatedouro Campos III	São João da Barra – RJ	
UENF 1944	Batata-doce Comum	Supermercado Top de Linha	Vitória – ES	
UENF 1945	Batata-doce Comum	Supermercado Super Líder	Vitória – ES	

Tabela 5, Cont.

UENF 1946	Batata-doce Comum	Feira da roça da Rodoviária	São João da Barra – RJ	
UENF 1947	Batata-doce Comum	Feira da roça da Rodoviária	São João da Barra – RJ	
UENF 1948	Batata-doce Comum	Feira da roça da EMATER	São João da Barra – RJ	

Tabela 6. Lista das variedades comerciais cedidas pela Embrapa Hortaliças. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Acesso	Nome da Variedade	Procedência	Doação	Raiz
UENF 1994	'Princesa'	Embrapa Hortaliças, Brasília	João Bosco Carvalho da Silva	

Tabela 6, Cont.

UENF 1995	'Brazlândia Roxa'	Embrapa Hortaliças, Brasília	João Bosco Carvalho da Silva	
UENF 1996	'Brazlândia Branca'	Embrapa Hortaliças, Brasília	João Bosco Carvalho da Silva	
UENF 1997	'Brazlândia Rosada'	Embrapa Hortaliças, Brasília	João Bosco Carvalho da Silva	

A maior parcela das raízes comercializadas no município de Campos dos Goytacazes é proveniente do CEASA de Vitória e de São João da Barra, o que corresponde a 37 % para cada município, evidenciando a importância destes municípios para o fornecimento de batata-doce para Campos dos Goytacazes. Cerca de 16 % do produto comercializado é provenientes do próprio município de Campos dos Goytacazes e 10 % do município de Cabo Frio (Figura 9). Em Campos dos Goytacazes há uma crescente tendência ao crescimento de atividades do setor terciário em detrimento à atividade agrícola que sofreu com as crises dos anos de 1980 e 1990, além disso, a proximidade do município com o estado do Espírito Santo, que possui uma política baseada em incentivos fiscais, fez com que nos últimos anos o setor agrícola diminuísse sua participação sobre o PIB campista (La Rovere e Carvalho, 2003).

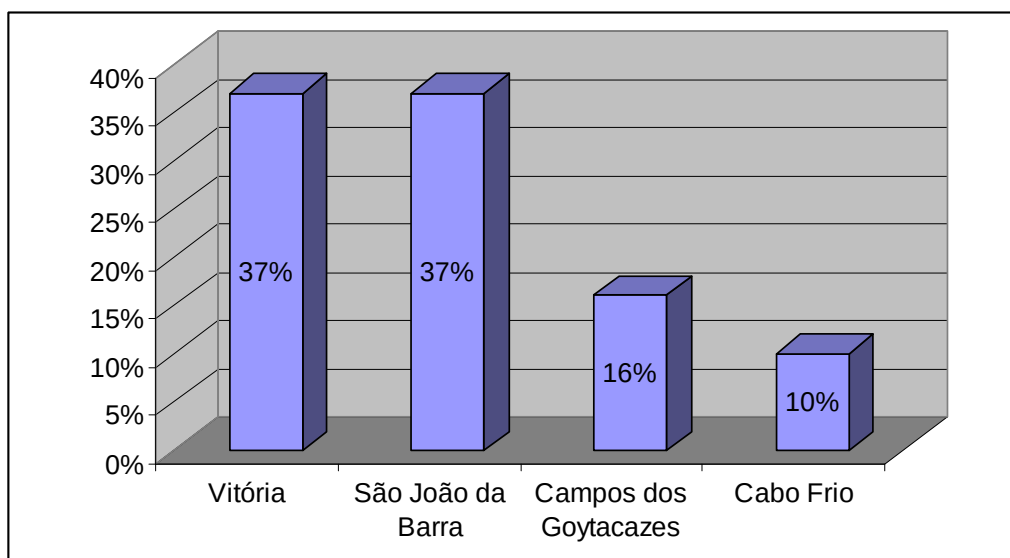


Figura 9. Procedência da batata-doce comercializada em estabelecimentos comerciais do município de Campos dos Goytacazes. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Cerca de 68 % das coletas e entrevistas foram realizadas em estabelecimentos comerciais convencionais (mercados e hortifrutis) e 32 % em feiras livres. Observou-se que dentre os estabelecimentos comerciais convencionais 54 % do produto comercializado é proveniente do CEASA de Vitória. Nos CEASAS, o setor de hortaliças representa cerca de 75 % do total de produtos comercializados diariamente. Nos mercados informais este número pode até aumentar, dependendo da época do ano e do local de comercialização (Carvalho, 2006).

Nas feiras livres, 100 % das batatas-doces coletadas eram provenientes do município de São João da Barra. Este município tem sua economia baseada na agropecuária, pesca, olericultura, fruticultura nativa e no artesanato, sendo Campos dos Goytacazes o principal município para escoamento da sua produção agrícola (IBGE, 2007). Outra característica relevante observada nas feiras foi o beneficiamento do produto, sendo constatadas vendas de doces, bolos e compotas de batata-doce. Foi possível observar que os agricultores que comercializam nas feiras consideram esta comercialização como uma valorização e reconhecimento do seu trabalho, além de valorizar aspectos culturais locais.

Dentre os estabelecimentos de maior porte, apenas o Supermercado Superbom comercializava batatas-doces provenientes do próprio município de

Campos dos Goytacazes. Estabelecimentos como o Supermercado ABC Compre Bem e Supermercado Esperança comercializavam raízes provenientes de Cabo Frio, e as comercializadas pelo Hortifruti Campos eram provenientes de Vitória. Este fato ressalta a dificuldade que a produção local, praticada por agricultores familiares, tem de atingir os estabelecimentos de maior porte.

Quanto à forma de comercialização do produto, em 100 % dos estabelecimentos comerciais e feiras ele é comercializado inteiro. Segundo os vendedores entrevistados é bastante difícil a comercialização do produto em fatias ou processado, pois esta adquire rapidamente um aspecto depreciativo, o que dificultaria a comercialização e resultaria em prejuízos. Carvalho (2006) relata que a produção pode se deteriorar devido a cortes, podridões e amassamentos, havendo perda da qualidade do produto, e, por consequência, resulta em pouca aceitação do produto pelos consumidores finais.

O preço de comercialização da batata-doce variou entre 0,50 a 2,49 R\$/Kg. O menor preço foi constatado no Mercado Municipal de Campos dos Goytacazes e o maior no Supermercado Esperança. É relevante mencionar que estes dois estabelecimentos são localizados a poucos metros de distância um do outro, o que evidenciou que o tipo de estabelecimento influencia bastante no preço cobrado pelo produto, bem como está relacionado ao público a ser atingido. A batata-doce é um produto considerado supimento alimentar das populações mais pobres e presente na dieta do meio rural, sendo pouco consumida em algumas regiões do país (Cavalcante et al., 2009). Porém, tem sido crescente a importância das hortaliças, de forma geral, na alimentação e na economia nacional (Silva et al., 2009).

Foi possível também constatar que as batatas-doces com casca rosa são as preferidas pelo mercado consumidor. Alguns dos funcionários dos estabelecimentos entrevistados mencionaram que batatas-doces de coloração da casca branca geralmente não têm boa aceitação pelo mercado consumidor, sendo considerada menos doce e com polpa mais seca que a de casca rosada. Entretanto, Soares et al. (2008) relatam que não há preferência por parte do mercado consumidor por uma determinada categoria de cor.

4.3 Caracterização morfoagronômica

4.3.1 Descritores qualitativos para raiz

Na estimativa da diversidade morfológica referente aos marcadores radiculares, foram utilizados 46 acessos (27 coletados em propriedades rurais e 19 obtidos em estabelecimentos comerciais). Constatou-se variação para os seis caracteres estudados, com diferentes frequências para cada classe fenotípica (Figura 10).

Para o formato das raízes, foi constatada uma grande variabilidade, apresentando sete variações: redonda (8,7 %), redonda elíptica (2,2 %), oval (19,6 %), oboval (4,3%), oblonga longa (2,2%), longa elíptica (6,5%) e longa irregular (56,5 %). Ritschel e Huamán (2002) encontraram oito classes fenotípicas, com predominância dos acessos classificados como longo elíptico (42,5 %) e irregular (24,1 %), entretanto nenhum dos acessos avaliados possuía formato oval.

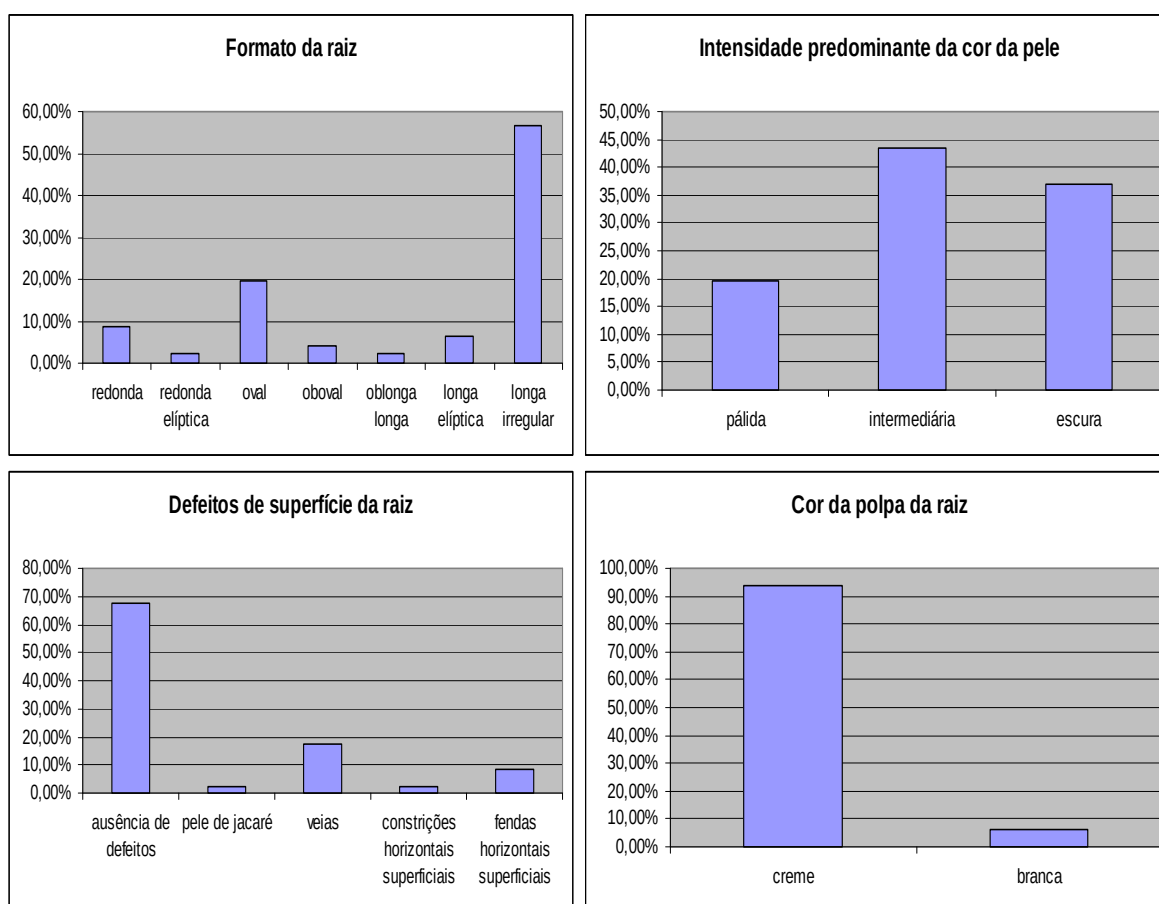
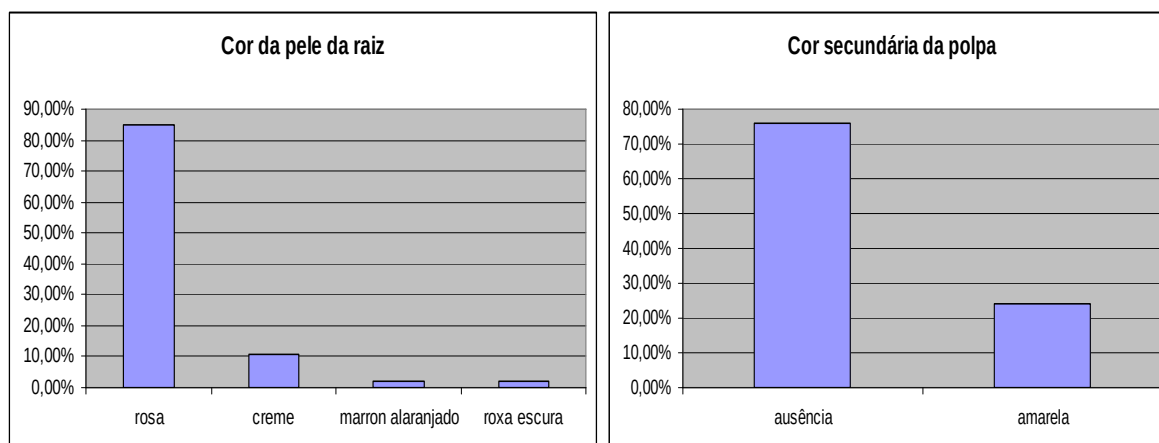


Figura 10. Classes fenotípicas dos descritores para raiz e frequências observadas para os 46 acessos de *Ipomoea batatas*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Figura 10, Cont.



Para a variável defeitos da superfície foram observadas raízes sem defeitos (67,4 %), com pele de jacaré (2,2 %), com defeitos tipo veia (17,4 %), constrictões horizontais superficiais (2,2 %), e fendas horizontais superficiais (8,7 %). Resultados similares foram obtidos por Daros et al. (2002) e Cavalcante (2008), que observaram todas as classes descritas neste trabalho em distintas proporções.

A cor predominante da pele da raiz dos acessos caracterizados foi classificada como rosa (84,8 %), constatando-se ainda as colorações creme (10,8 %), marrom alaranjado (2,2 %), e roxa escura (2,2 %). Daros et al. (2002) encontraram a cor rosada como predominante (50 %). Entretanto, Chávez et al (2006) e Veasey et al. (2007), observaram predominância da coloração creme, enquanto Ritschel e Huamán (2002) classificaram a cor da pele como sendo branca para 41,2 % dos acessos, e a segunda maior frequência foi para a coloração rosada, representada por 28,6 % dos acessos estudados.

A intensidade da cor da pele foi caracterizada como pálida para 19,6 % dos acessos, intermediária para 43,4 % e escura para 37 %. Da mesma forma, Daros et al. (2002) e Cavalcante (2008) encontraram todas as intensidades para cor da pele da raiz, com predominância da intensidade intermediária.

Para a característica coloração da polpa da raiz foi detectada uma baixa variabilidade, 93,5 % dos acessos apresentaram polpa de cor creme e 6,5 % cor da polpa branca. Ritschel e Huamán (2002) encontraram predominância da cor creme em 75,1 % do germoplasma avaliado. Veasey et al. (2007) caracterizaram

73 % dos genótipos com cor da polpa creme. Chávez et al. (2006) constataram uma grande diversidade de cores para polpa, mas com predominância da cor creme, em consonância com este trabalho e dos demais autores citados.

A característica coloração secundária da polpa foi ausente para 76,1 % e amarela para 23,9 % dos acessos. Chávez et al. (2006) classificaram 48,6 % dos acessos sem coloração secundária da polpa, Ritschel e Huamán (2002) descreveram 50,2 % dos acessos com ausência de coloração secundária e 46,2 % com coloração secundária da polpa amarela, semelhante aos dados obtidos no presente estudo.

Os dados foram agrupados pelo método UPGMA e por meio da matriz gerada pela distância de Cole-Rodgers (Figura 11). A correlação cofenética entre os dados da matriz de distância e o agrupamento foi de 0,81. Obteve-se um total de cinco grupos, sendo para tanto, realizado um corte a uma distância de 0,34.

O grupo I foi constituído por dois acessos, que se diferenciaram dos demais por possuir coloração da pele creme, além de formato redondo e cor da polpa creme. O grupo II foi representado por três acessos, que possuíam coloração da casca creme, mas de cor da polpa branca. O grupo III reuniu os acessos que possuíam como característica divergente raízes com formato oval, sendo a cor externa da raiz predominantemente rosa e cor da polpa creme.

O grupo IV, formado por oito acessos coletados em propriedades rurais, possuía coloração da periderme rosa intermediário, com película externa lisa, e formato das raízes predominantemente irregular. Neste grupo, foi ainda alocado um acesso adquirido em estabelecimento comercial (UENF 1948), proveniente do município de São João da Barra, semelhante em todas as características aos outros acessos, com exceção da película externa contendo defeitos do tipo veia.

O grupo V foi caracterizado pelo maior número de acessos, totalizando 29 ou 63 % dos acessos estudados e foi dividido em dois subgrupos (V.A e V.B). Como característica comum, todos os genótipos demonstraram coloração da casca rosada. Aproximadamente 80 % dos genótipos coletados em mercados e feiras estão neste grupo. Foram também alocados acessos considerados possíveis duplicatas por intermédio da descrição das classes fenotípicas em estudo, obtendo-se um coeficiente de similaridade igual a 1 para estes acessos, o que pode sugerir uma maior uniformidade das raízes que são comercializadas no município de Campos dos Goytacazes. Ritschel e Huamán (2002) caracterizaram

324 acessos de batata-doce do banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças, com base em descritores morfológicos, constataram que 20 % dos acessos eram possíveis duplicatas.

O subgrupo V.A foi formado por 18 acessos, cuja coloração da casca foi rosa de intensidade intermediária, polpa creme, e formato predominante irregular. Destes, 13 raízes foram adquiridas em estabelecimentos comerciais, e os demais em propriedades rurais. Onze acessos compuseram o subgrupo V.B, caracterizado por uma grande variabilidade para as características avaliadas, com diferentes formatos e casca rosa de diferentes intensidades.

De forma geral, o descritor cor da pele e o formato das raízes foram as características com maior variabilidade, podendo ser considerado um importante descritor no agrupamento dos acessos, contribuindo com significativa diferenciação dos grupos. Estas variáveis também foram as principais responsáveis pela divergência genética nos resultados encontrados por Oliveira et al. (2000) e Cavalcante et al. (2009). Por outro lado, Veasey et al. (2007) descrevem como os fatores que mais contribuíram para diversidade a coloração secundária da polpa, formato das raízes e defeitos de superfície da raiz. Para o presente estudo as características que menos contribuíram foram coloração da polpa e cor secundária da polpa da raiz, 93,5 % dos acessos tinham polpa de cor creme e 76,1 % não possuíam cor secundária da polpa.

Foi constatada uma elevada variabilidade fenotípica para os descritores de raiz (Figura 12). Resultados similares foram obtidos por Daros et al. (2002) ao avaliar 14 acessos e Chávez et al. (2006) ao avaliar 52 acessos com base em descritores morfológicos para raiz. Destaca-se também que raízes coletadas em uma mesma localidade ou localidades muito próximas tiveram alta variabilidade fenotípica, o que evidencia o cultivo de diferentes variedades tradicionais de batata-doce pelos produtores rurais da região norte do Estado do Rio de Janeiro.

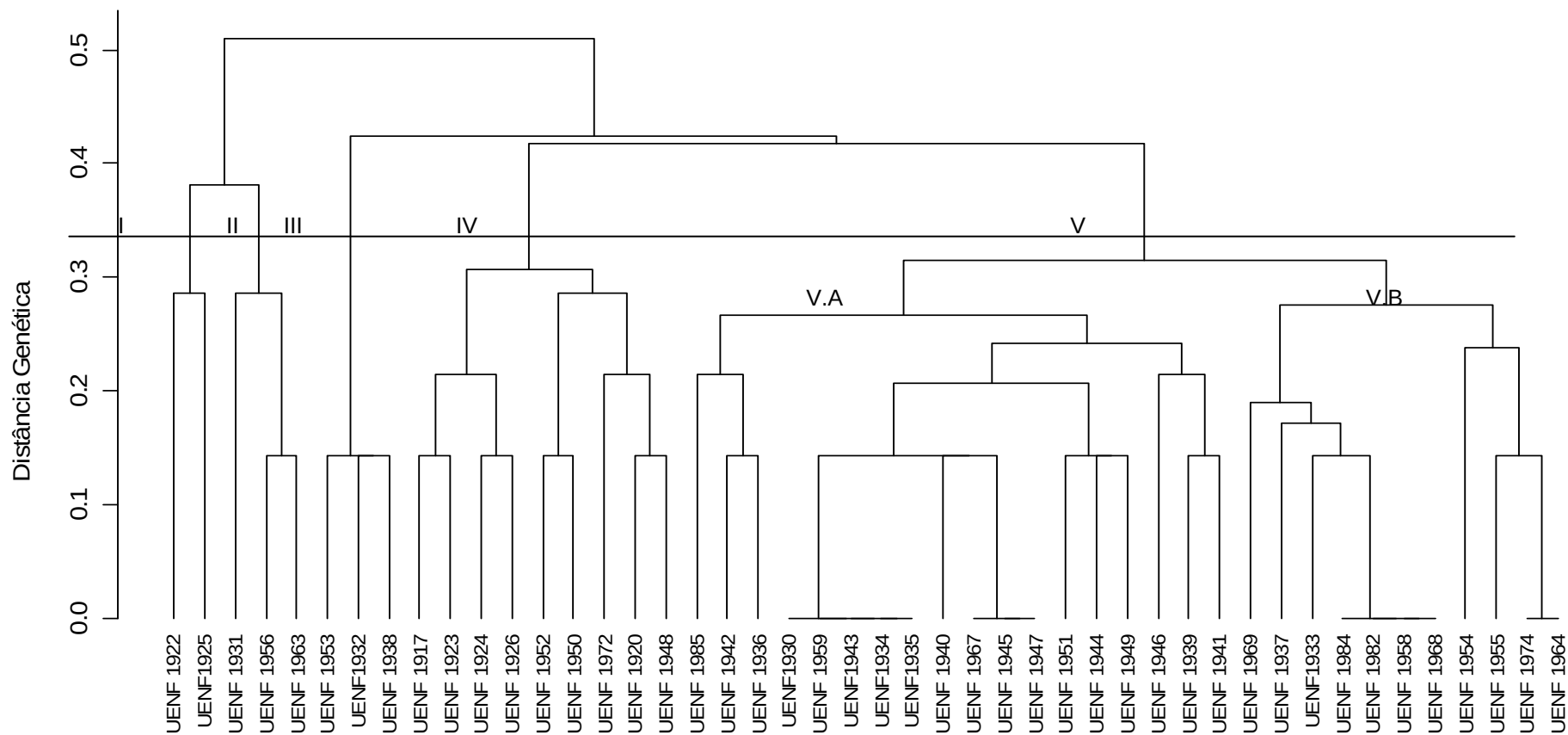


Figura 11. Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método hierárquico de médias ponderadas, com base em descritores qualitativos radiculares, entre 46 acessos de batata-doce adquiridos em estabelecimentos comerciais e propriedades rurais na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.



Figura 12. Variabilidade fenotípica dos acessos de batata-doce coletados em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais do Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

4.3.2 Descritores quantitativos para raiz

Foram utilizados cinco caracteres para estimar a diversidade entre 46 acessos de batata-doce (27 coletados em propriedades rurais e 19 obtidos em estabelecimentos comerciais). Constatou-se grande variação para os caracteres estudados, com valores bastante discrepantes.

O peso das raízes variou de 46,7 a 869,8 g. O comprimento variou de 7,7 a 21,7 cm. Resultados similares foram obtidos por Cavalcante et al. (2003), constatando diferença significativa entre os genótipos para comprimento da raiz, com comprimento máximo de 20,8 cm. Para o diâmetro foram obtidos valores entre 5,2 e 13,6 cm. Cavalcante et al. (2009) encontraram uma menor variabilidade para esta característica variando de 5,0 a 6,7 cm. Entretanto, estes autores caracterizaram apenas 11 acessos de batata-doce. Para espessura do córtex foram encontrados valores que variaram de 0,07 a 0,6 mm. A variável BRIX (teor de sólidos solúveis) demonstrou valores entre 5,2 e 25,0 °BRIX.

A técnica UPGMA foi eficiente no ajuste entre as distâncias, com correlação cofenética de 0,83 para as associações entre a matriz de distância e o dendrograma das variáveis quantitativas. Estima-se que houve um bom ajuste entre as distâncias, pois de acordo com Sokal e Rohlf (1995), o ajuste adequado é avaliado pelos valores de correlação cofenética superiores a 0,80. O agrupamento dos acessos representado pelo dendrograma, Figura 13, permitiu distinguir cinco grupos, sendo para tanto, realizado um corte a uma distância de 1,3.

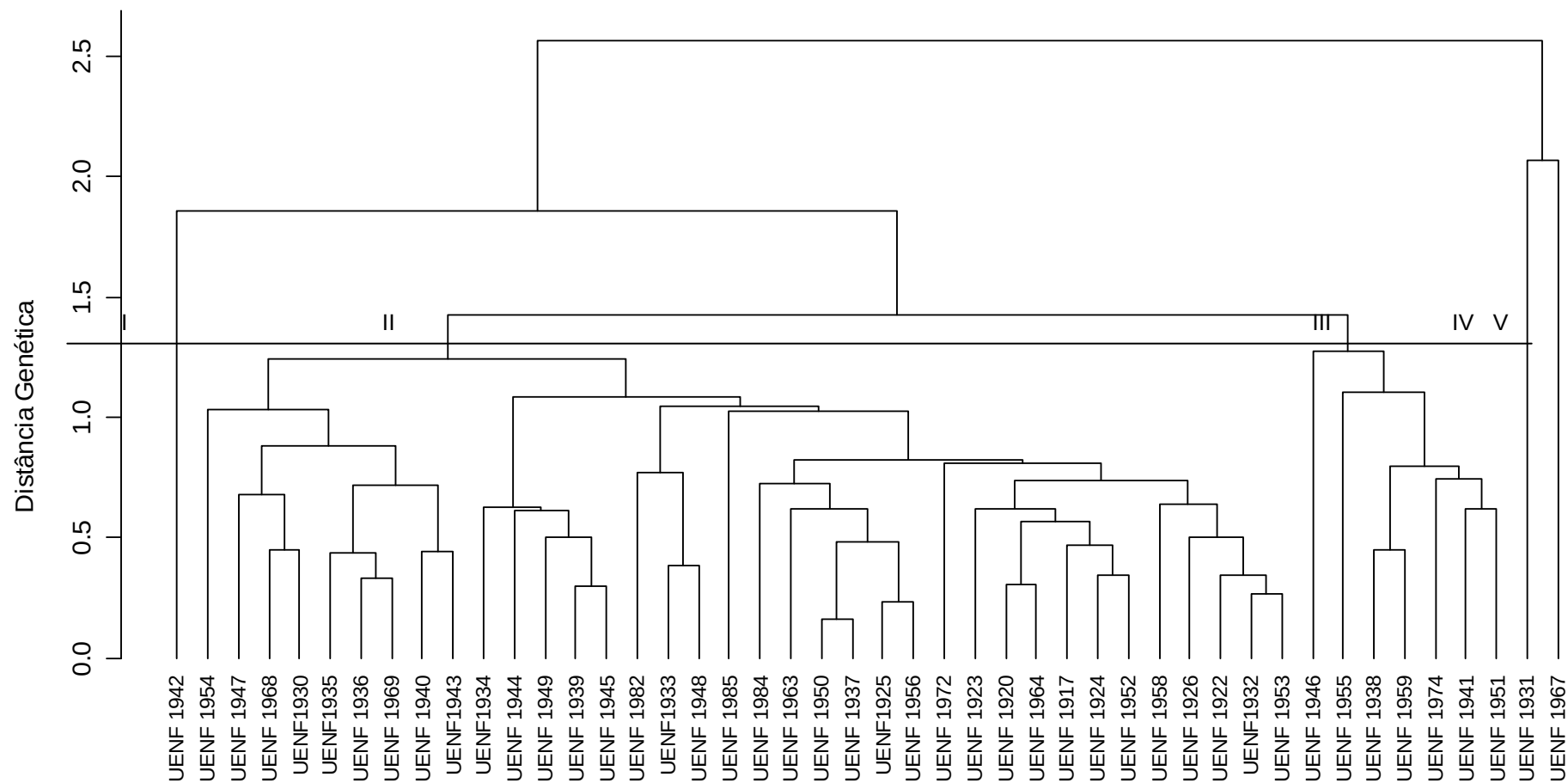


Figura 13. Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método hierárquico de médias ponderadas, com base em descritores quantitativos radiculares, entre 46 acessos de batata-doce adquiridos em estabelecimentos comerciais e propriedades rurais na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

O grupo I foi caracterizado pelo genótipo com maior teor de sólidos solúveis totais (25,0 °BRIX), o que é muito interessante para a comercialização, devido ao sabor mais doce da polpa, e para a indústria de produção de etanol. O grupo II compreendeu o maior número de acessos, correspondendo a 36 acessos ou 78,2 % do total. Este grupo foi dividido em dois subgrupos. O subgrupo II.A foi caracterizado por acessos com os maiores comprimentos (variando de 11,5 a 21,7 cm), pesos médios (121,6 a 179,5 g) e diâmetros menores (5,7 a 8,2 cm). No subgrupo II.B foi observado acessos de pesos médios (154,2 a 260,6 g), comprimentos intermediários (11,9 a 16,7 cm), e BRIX mais baixos (média de 8,8 °BRIX).

O grupo III foi discriminado pelos acessos de pesos elevados (313,1 a 489,8 g), maiores diâmetros (8,1 a 12,4 cm), espessura do córtex variável (0,09 a 0,3 mm). O grupo IV foi formado por apenas um acesso (UENF 1931), que foi obtido em estabelecimento comercial e proveniente do município de Campos dos Goytacazes. Este acesso se diferenciou dos demais por possuir maior média de diâmetro (11,6 cm) e espessura do córtex (0,5 mm). No grupo V ficou alocado um único acesso (UENF 1967), e neste foi encontrado o clone com maior peso (869,8 g), e menor teor de sólidos solúveis totais (5,2 °BRIX). A média de peso para o grupo foi de 702,3 g.

Todas as características estudadas contribuíram para a dissimilaridade genética da população estudada. O peso e o teor de sólidos solúveis foram importantes para a diferenciação dos grupos, enquanto que a espessura do córtex foi a característica que menos contribuiu para a divergência.

Através desses resultados, pode-se confirmar a alta variabilidade fenotípica dos genótipos de batata-doce coletados em propriedades rurais, feiras e estabelecimentos comerciais do município de Campos dos Goytacazes. Resultados obtidos por Queiroga et al. (2007) e Cavalcante et al. (2009) na avaliação de características quantitativas demonstraram significativa variabilidade fenotípica, corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa.

4.3.3 Descritores qualitativos da parte aérea

Observou-se variação para os oito caracteres qualitativos da parte aérea dos 81 acessos de batata-doce e um acesso de *Ipomoea pescaprae* estudados,

representados por um alto número de classes fenotípicas, com uma porcentagem significativa de indivíduos em cada classe (Figura 14).

Foram constatados os seguintes formatos de folha: lobulada (50 %), triangular (37,8 %), cordada (7,3 %), lanceolada (3,7 %) e redonda (1,2 %). Cavalcante (2008) encontrou os mesmos formatos deste trabalho, com exceção do formato redondo, que neste trabalho caracteriza a espécie *Ipomoea pescaprae*. O autor observou uma maior frequência da forma lobulada (45,5 %), seguida pelos formatos triangular (27,3 %), lanceolado (18,2 %), e cordado (9,1 %). Daros et al. (2002) analisando 14 acessos de batata-doce constataram também que o formato lobulado foi predominante, correspondendo a 93,0 % dos acessos. Entretanto Ritschel e Huamán (2002) na avaliação de germoplasma de batata-doce da Embrapa Hortaliças constataram predominância para o formato cordado (49,7 %).

O tipo de lóbulo foi uma característica com grande variabilidade entre os acessos, sendo encontradas cinco das seis formas de variações: ausência de lóbulos (32,9 %), lóbulos muito superficiais (12,2 %), superficiais (4,9 %), moderados (36,6 %), e profundos (13,4 %). Diferentemente, Veasey et al (2007) observaram uma predominância de lóbulos muito superficiais (40 %), e uma frequência mais baixa de lóbulos moderados do que a deste trabalho, cerca de 15,0%.

Foram observadas três categorias para o número de lóbulos: apenas um lóbulo (41,5 %), três lóbulos (19,5 %) e cinco lóbulos (39 %). Ritschel e Huamán (2002) encontraram resultados similares, classificando 38,2 % dos acessos com apenas um lóbulo e 36,4 % com cinco lóbulos, sendo estas as duas maiores frequências, de forma similar ao do presente trabalho.

O aspecto central do lóbulo da folha foi caracterizado como: dentado (14,6 %), triangular (36,6 %), semi-elíptico (41,5 %), elíptico (6,1 %), e lanceolado (1,2 %) constatando-se grande variabilidade para esta característica. Daros et al (2002) e Chávez et al. (2006) constataram também uma grande variação para este caráter. Entretanto, resultados divergentes foram obtidos por Cavalcante (2008), que caracterizou os genótipos em apenas duas categorias: 63,7 % como sendo semi-elíptico, e 36,3 % como sendo triangular.

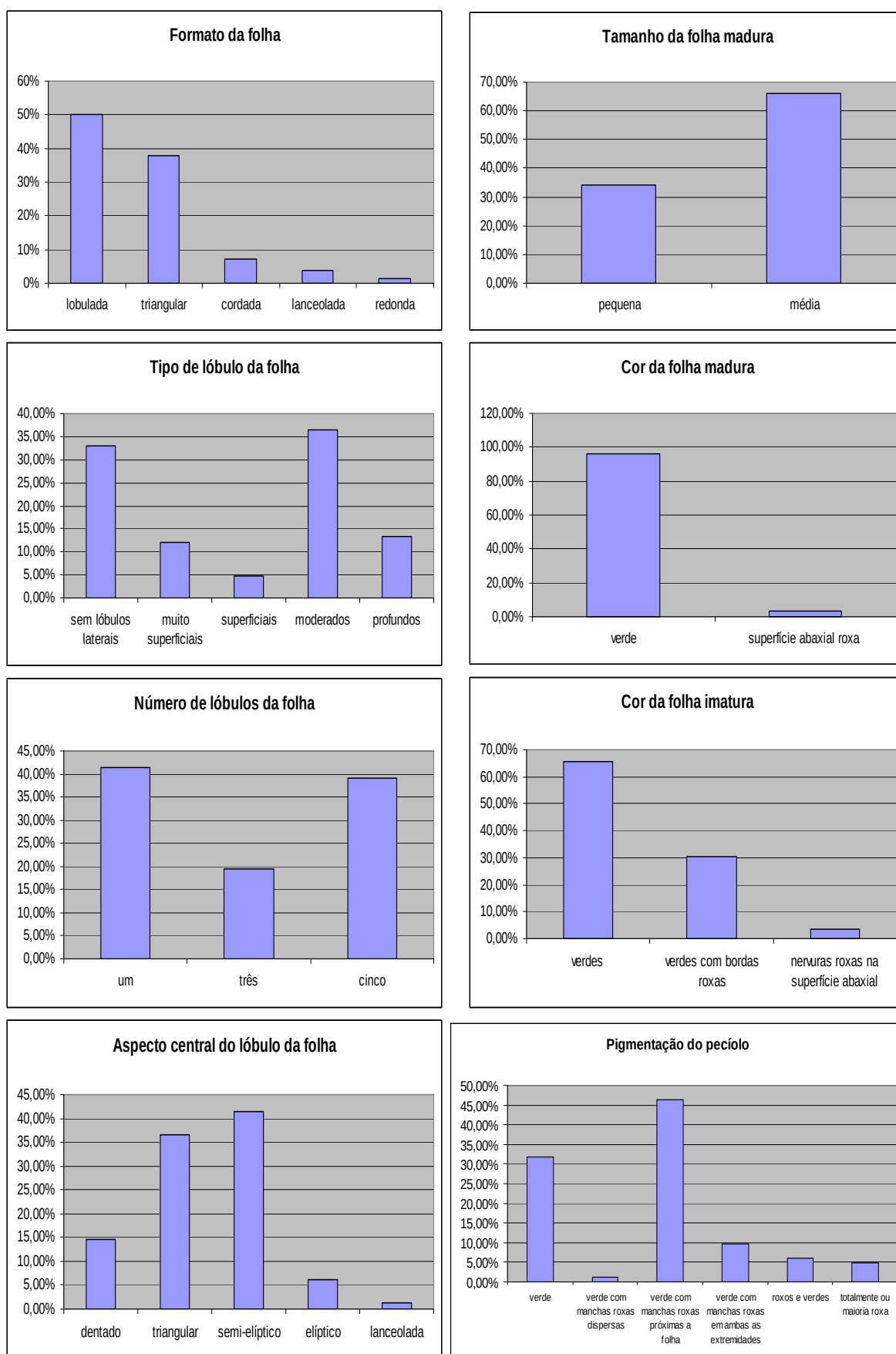


Figura 14. Classes fenotípicas da parte aérea e frequências observadas para os 81 acessos de *Ipomoea batatas* e um de *Ipomoea pescaprae*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Foram observadas duas classes para tamanho da folha: pequena (34,1 %) e média (65,9 %). Ritschel e Huamán (2002) classificaram 80,2 % dos acessos como sendo de tamanho médio. Daros et al. (2002) caracterizaram 100 % dos acessos como tendo folhas de tamanho médio.

A maioria das variedades demonstrou coloração da folha madura predominantemente verde (96,4 %), ocorrendo também alguns acessos com folhas de superfície abaxial roxa (3,6 %). Para coloração da folha imatura, folhas verdes também foram predominantes (65,8 %), sendo o restante representado por folhas verdes com bordas roxas (30,5 %), e com nervuras roxas na superfície abaxial (3,7 %). Augustin et al. (2000) obtiveram uma frequência de 90 % para coloração verde da folha madura. Veasey et al. (2007) de forma similar, classificaram para coloração da folha madura, 60 % dos genótipos com coloração verde e 40 % com nervuras roxas na superfície abaxial. Para coloração da folha imatura, 50 % das folhas foram classificadas como verdes com bordas roxas, 20 % para folhas verdes, as demais colorações foram também obtidas, mas em frequências menores.

Para a variável coloração do pecíolo constatou-se uma alta variabilidade de tipos: verde (31,7 %), verde com manchas roxas dispersas (1,2 %), verde com manchas roxas próximas à folha (46,3 %), verde com manchas roxas em ambas as extremidades (9,8 %), alguns pecíolos roxos e outros verdes (6,1 %), e totalmente ou maioria roxa (4,9 %). Daros et al. (2002) e Veasey et al. (2007) também constataram uma grande variabilidade de colorações do pecíolo, detectando uma grande heterogeneidade para esta característica.

Os dados foram agrupados pelo método UPGMA, e por meio da matriz gerada pela distância de Cole-Rodgers obteve-se o agrupamento apresentado no dendrograma da Figura 15. Foi obtida uma correlação cofenética de 0,83, proporcionando a formação de sete grupos, sendo realizado um corte a uma distância de 0,45.

O grupo I reuniu o maior número de acessos, correspondendo 36 acessos ou 43,9 % do total. No grupo I.A foram alocados 24 acessos, que reúne os acessos que possuíam tamanho da folha médio e pecíolos verdes com manchas roxas próximas à folha. No grupo I.B, formado por 12 acessos, os genótipos se diferenciaram dos demais por possuírem apenas um lóbulo e tamanho pequeno.

Apenas um acesso (UENF 1990) compôs o grupo II. Esse se diferenciou dos demais por possuir coloração da folha imatura verde com nervuras roxas na superfície abaxial com pigmentação do pecíolo verde e manchas roxas em ambas as extremidades. O grupo III foi constituído por seis acessos, caracterizados por possuir formato de folha lobulada ou lanceolada com lóbulo do tipo profundo.

O grupo IV, formado por um acesso, UENF 1959, foi diferenciado por ser o único a possuir folhas com cinco lóbulos, coloração da folha imatura verde com nervuras roxas na superfície abaxial e pigmentação do pecíolo maioria ou totalmente roxa. O grupo V compreendeu uma boa parcela dos acessos estudados, 30 acessos ou 36,6 % do total. Este grupo reúne todos os acessos com formato de folha lobulada, coloração da folha madura verde, e predominância de coloração da folha imatura verde (77 %).

Os dois acessos que compuseram o grupo VI possuíam folhas com três lóbulos, de tamanho pequeno e pigmentação do pecíolo maioria ou totalmente roxa. No grupo VII observaram-se seis acessos. Este grupo foi subdividido em: subgrupo VII.A, com quatro acessos caracterizados por formato de folha lobulada, cinco lóbulos e pigmentação do pecíolo verde com manchas roxas próximas à folha; e subgrupo VII.B, constituído por dois acessos, com três lóbulos e alguns pecíolos roxos, outros verdes na mesma planta.

Por intermédio da caracterização da parte aérea foram detectadas treze possíveis duplicatas, incluindo acessos provenientes de propriedades rurais e estabelecimentos comerciais. A baixa ocorrência de duplicatas dos acessos provenientes de uma mesma localidade indica uma alta variabilidade genética mantida pelos agricultores tradicionais da região Norte Fluminense, sendo constatada uma elevada variabilidade fenotípica para os descritores de parte aérea (Figura 16). Resultados similares foram encontrados por Veasey et al. (2007) trabalhando com variedades locais do Vale do Ribeira, São Paulo.

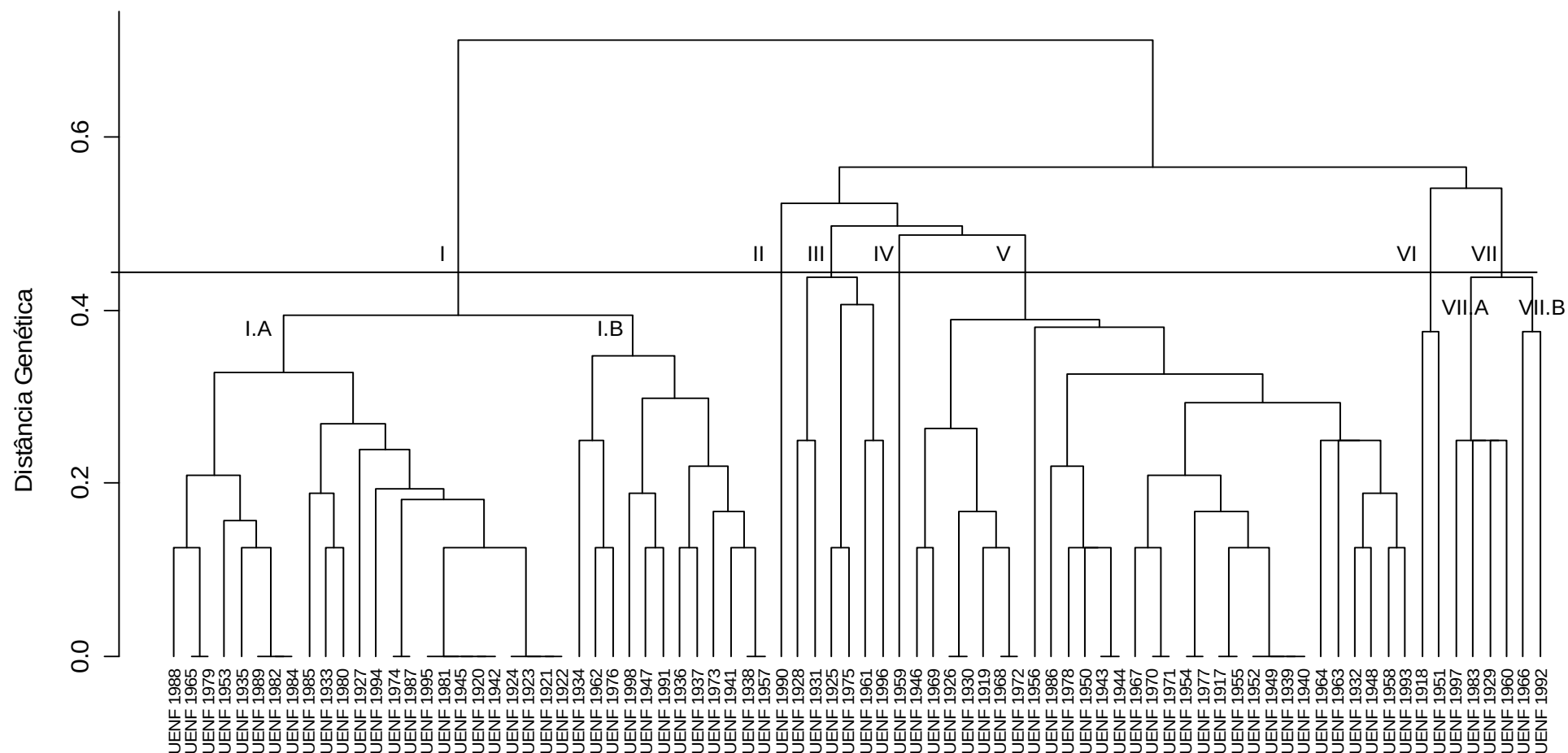


Figura 15. Dendrograma de dissimilaridade genética, obtido pelo método hierárquico de médias ponderadas, com base em descritores qualitativos da parte aérea, entre 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pescaprae* adquiridos em estabelecimentos comerciais e propriedades rurais na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Não foi observada uma definição dos grupos de acordo com o local de coleta. Por exemplo, os acessos coletados no Projeto de Assentamento Zumbi IV foram distribuídos em muitos dos grupos formados. A falta de correlação entre as distâncias geográficas e morfológicas pode estar relacionada ao intenso intercâmbio de batata-doce entre os agricultores e ao tempo que cada família cultiva a mesma variedade. Naskar (1996) e Veasey et al. (2007) também constataram uma ausência de estruturação entre a diversidade morfológica e os locais de coleta, e segundo estes autores o fato pode ser explicado pelo sistema de intercâmbio entre agricultores vizinhos.

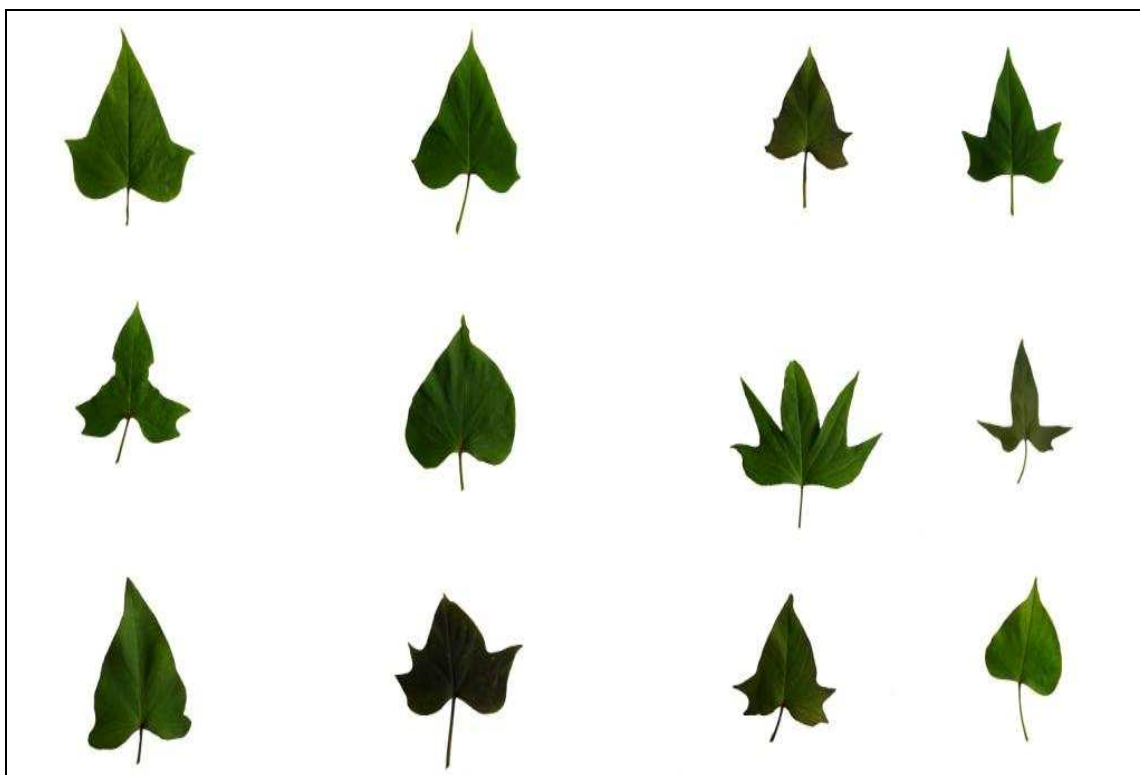


Figura 16. Variabilidade fenotípica da parte aérea dos acessos de batata-doce coletados em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais do Norte do Estado do Rio de Janeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

4.4 Análise Molecular

4.4.1 RAPD e divergência genética

Foi realizada uma triagem com 32 iniciadores, e destes, 18 foram selecionados e avaliados quanto ao número de bandas geradas e ao polimorfismo verificado para estas bandas (Tabela 7). Os demais iniciadores testados foram descartados, pois não houve uma eficiente produção de bandas.

Tabela 7. Iniciadores de RAPD utilizados, sequência dos iniciadores, número de bandas polimórficas e monomórficas geradas no estudo da diversidade genética entre 81 acessos de *Ipomoea batatas* e um de *Ipomoea pescaprae*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Iniciador	Sequência 5' – 3'	Bandas Polimórficas	Bandas Monomórficas	Total de Bandas
OPA 9	GGGTAACGCC	8	0	8
OPAA 03	TTAGCGCCCC	5	1	6
OPAA 04	AGGACTGCTC	7	2	9
OPAA 11	ACCCGACCTG	8	0	8
OPAA 14	AACGGGCCAA	10	0	10
OPAA 16	GGAACCCACA	8	0	8
OPAA 20	TTGCCTTCGG	10	0	10
OPAB 06	GTGGCTTGGA	7	0	7
OPAB 08	GTTACGGACC	13	0	13
OPAC 07	GTGGCCGATG	9	0	9
OPAC 10	AGCAGCGAGG	10	0	10
OPAC 12	GGCGAGTGTG	4	1	5
OPAC 14	GTCGGTTGTC	8	0	8
OPAC 15	TGCCGTGAGA	4	1	5
OPAC 17	CCTGGAGCTT	11	0	11
OPAC 20	ACGGAAGTGG	10	0	10
OPB 17	AGGGAACGAG	7	0	7
OPF 1	ACGGATCCTG	6	0	6
Total		145	5	150

Foi obtido um total de 150 bandas, sendo 145 polimórficas (96,7 %) e cinco monomórficas (3,3 %). O número médio de fragmentos polimórficos produzidos por iniciador foi de oito. O iniciador mais polimórfico foi o OPAB 08, gerando treze bandas, seguido pelo iniciador OPAC 17, que gerou onze bandas polimórficas (Figura 17).

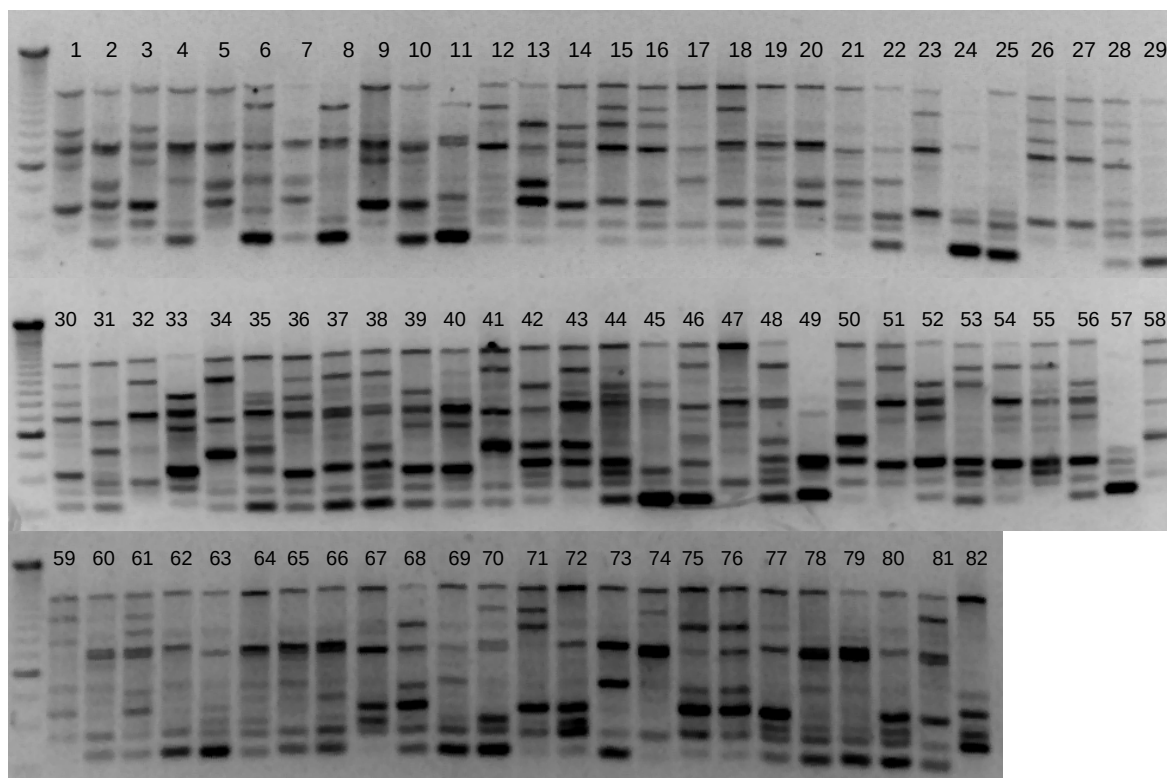


Figura 17 – Perfil de um gel de RAPD utilizando o iniciador OPAC 17 para os 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pescaprae* (representado pelo número 82). Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

O polimorfismo observado para o marcador RAPD neste trabalho foi elevado. Gichuki et al. (2003) trabalhando com onze iniciadores (selecionados a partir de uma triagem com cem iniciadores) em uma população de 74 acessos de batata-doce de diferentes regiões geográficas do mundo, obtiveram um total de 71 marcas polimórficas, com média de seis bandas polimórficas por iniciador. He et al. (2006) usando 30 iniciadores RAPD para um total de 108 acessos de batata-doce (100 acessos locais e oito cultivares), obtiveram um total de 218 marcas polimórficas, com média de 7,3 bandas polimórficas por iniciador.

Considerou-se que a técnica do RAPD foi eficiente para acessar a variabilidade genética da população de batata-doce, conforme já descrito em outros trabalhos com a cultura (Thompson et al., 1997; Gichuki et al., 2003; He et al., 2006). He et al. (2006) destacaram que o alto nível de diversidade constatado nos acessos de batata-doce pode estar associado a mutações espontâneas muito comuns na espécie, seleção, fatores geográficos e ambientais, o que torna a espécie um importante recurso genético.

A distância média observada entre os genótipos foi de 0,49 ($\pm 0,07$). Por intermédio do Índice de Jaccard foi possível constatar que os genótipos mais distantes são UENF 1953 e UENF 1998, com uma distância de 0,77, enquanto os acessos UENF 1942 e UENF 1943 foram considerados os mais próximos, com uma distância de 0,21. A elevada distância média entre os acessos estudados neste trabalho indica o alto nível de diversidade genética dos genótipos obtidos. He et al. (2006) obtiveram uma distância genética que variou de 0,05 a 0,94, com uma distância média de 0,36.

Por intermédio do marcador RAPD, não houve correlação entre as distâncias geográficas e genéticas mensuradas pelo Índice de dissimilaridade de Jaccard. Gichuki et al., (2003) estudando a relação entre a procedência dos acessos e a diversidade genética, constataram que apenas 6,6 % dos acessos estudados apresentavam correlação entre a distância geográfica e genética, sendo a maior parte da variação observada (93,4 %) dentre os genótipos advindos de uma mesma região geográfica ou localidade. Elameen et al. (2008) analisaram a diversidade genética de 97 acessos do banco de germoplasma de batata-doce da Tanzânia utilizando o marcador AFLP. Neste estudo foi revelada uma maior variação entre as variedades tradicionais dentro de uma mesma região (96,19 %) que aquelas coletadas em diferentes regiões (3,81 %).

Foi obtido um dendrograma para os dados gerados com base no marcador RAPD (Figura 18), e realizado um corte a uma distância de 0,48, considerando-se o ponto de mudança abrupta, o que proporcionou a formação de onze grupos. Este possibilitou discriminar o acesso da espécie diferente, *Ipomoea pescaprae* (UENF 1998) dos acessos de batata-doce, ficando este acesso alocado no grupo I. Foram obtidas 14 bandas polimórficas específicas para o acesso, o que corresponde a 11 % do total obtido.

Os grupos II e III foram compostos por apenas um acesso cada. O acesso UENF 1941 (grupo II), proveniente do município de Vitória, adquirido em estabelecimento comercial, demonstrou cinco bandas específicas (3,5 % do total). O acesso UENF 1973 (grupo III), proveniente de propriedade rural do município de Campos dos Goytacazes, teve dois fragmentos polimórficos específicos, tendo apresentado amplificação para os 18 iniciadores utilizados.

O grupo IV reuniu dois acessos (UENF 1917 e UENF 1919) coletados em propriedades rurais do município de Campos dos Goytacazes. O quarto grupo registrou 37 bandas polimórficas. O grupo V foi formado pelo acesso UENF 1967, oriundo de propriedade rural do município de Campos dos Goytacazes, e UENF 1942 e UENF 1943, procedentes de estabelecimentos comerciais. Este grupo foi polimórfico para todos os iniciadores, totalizando 74 bandas polimórficas ou 51,0 % do total.

O grupo VI constituído pelo maior número de acessos, totalizando 56 acessos, ou seja, 68 % dos acessos estudados. Para este grupo foi obtido um total de 122 bandas polimórficas, o que perfaz 88,0 % do total de bandas polimórficas. As cultivares da Embrapa (UENF 1994, UENF 1995 e UENF 1997) ficaram compreendidas em um mesmo grupo, excetuando-se a 'Brazlândia Branca' (UENF 1996).

No grupo VII foram incluídos UENF 1925, UENF 1939, UENF 1965, UENF 1930, UENF 1949, UENF 1928, e UENF 1968. Neste grupo ficaram alocados acessos provenientes de mercados locais (UENF 1930 e UENF 1939) e de propriedades rurais (UENF 1925, UENF 1965, UENF 1949, e UENF 1968). Foram contabilizados 47 fragmentos polimórficos para este grupo.

O grupo VIII reuniu dois acessos (UENF 1918 e UENF 1921) provenientes de propriedades rurais do município de Campos dos Goytacazes, computando um total de 14 bandas polimórficas. O grupo IX foi composto por um único acesso, 'Brazlândia Branca' (UENF 1996), que apresenta como característica divergente a coloração da pele da raiz creme.

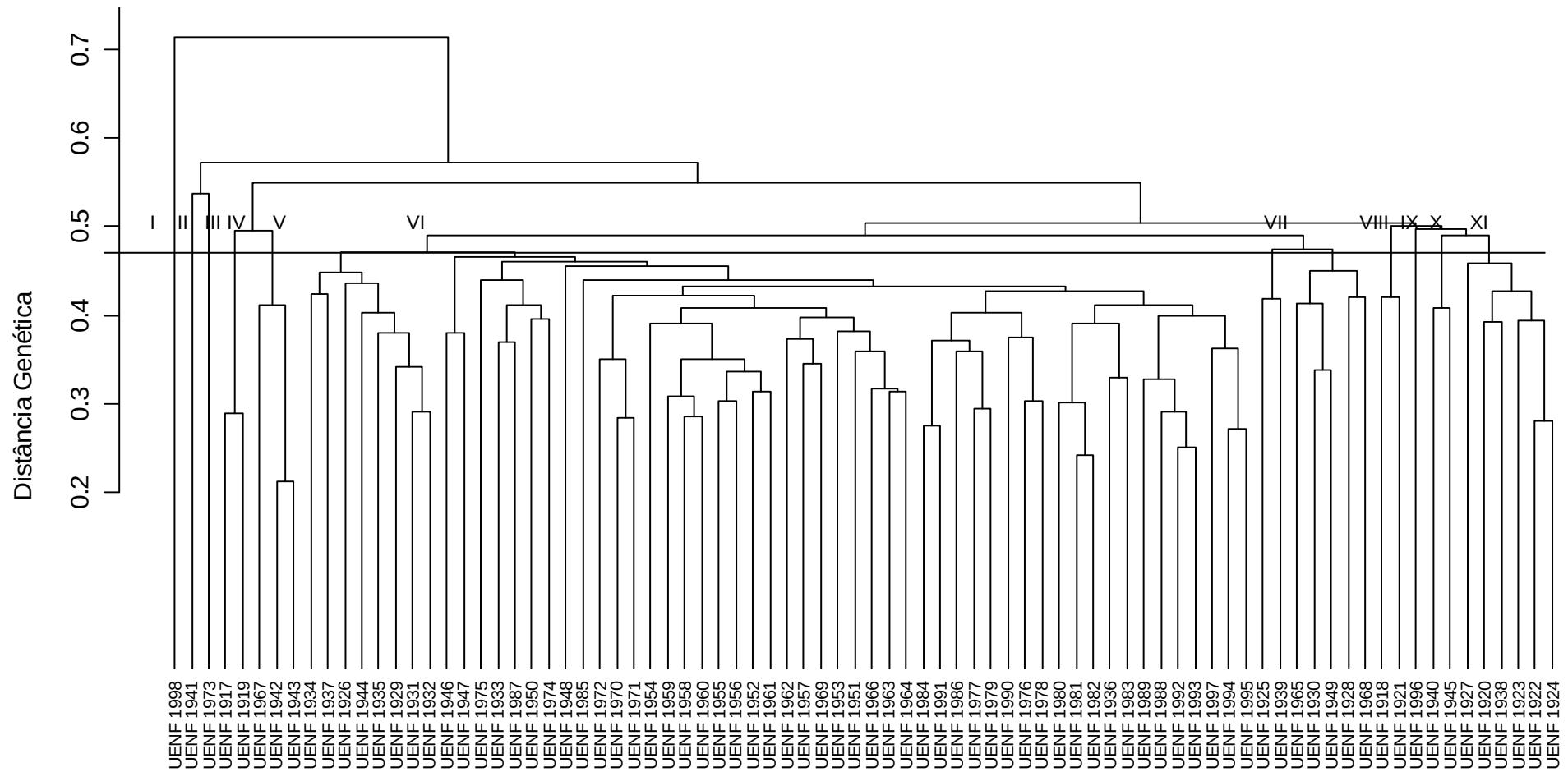


Figura 18. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético de Jaccard entre 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pescaprae* (UENF 1998), com base em 145 fragmentos polimórficos e cinco monomórficos amplificados por marcador RAPD. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

No grupo X foram incluídos os acessos UENF 1940 e UENF 1945, ambos adquiridos em estabelecimentos comerciais, procedentes do município de Vitória, e totalizaram 17 bandas polimórficas. O grupo XI, composto pelos acessos, UENF 1927, UENF 1920, UENF 1938, UENF 1923, UENF 1922, e UENF 1924, teve polimorfismo para todos os iniciadores, exceto OPAC 12. Foram contabilizadas 35 bandas polimórficas. Todos os acessos foram oriundos de propriedades rurais, com exceção de UENF 1938. A caracterização morfológica da parte aérea sugeriu que os acessos UENF 1922, UENF 1923 e UENF 1924 seriam duplicatas, o que não pôde ser confirmado pelas análises com marcador RAPD, que embora estejam reunidos em um mesmo grupo, tiveram divergência entre si. Na caracterização morfológica qualitativa alguns acessos não foram distinguidos, sugerindo a existência de duplicatas. Entretanto, a análise com marcadores RAPD demonstrou que todos os acessos são distintos entre si. Isso revela a importância de utilizar as duas técnicas de forma complementar para a completa distinção dos acessos.

Os acessos coletados não foram distinguidos quanto ao local em que foram obtidos (propriedades rurais ou estabelecimentos comerciais). Este fato pode ser explicado pela procedência comum da maioria dos acessos obtidos em mercados, que foi a mesma dos locais onde foram feitas as coletas junto aos produtores rurais.

4.4.2 ISSR e divergência genética

Um total de 26 iniciadores foi testado, e destes dezenove foram selecionados e avaliados quanto ao número de bandas geradas e ao polimorfismo verificado para estas bandas (Tabela 8). Os demais iniciadores foram descartados, pois não houve uma eficiente produção de bandas. Foi obtido um total de 146 bandas, sendo 135 polimórficas (92,4 %) e 11 monomórficas (7,6 %). O número médio de fragmentos polimórficos produzidos por iniciador foi de 7,1. O iniciador mais polimórfico foi o (AC)₈CG (Figura 19), gerando onze bandas, seguido pelos iniciadores de sequência (GAGA)₃CC, (CAC)₃GC, (AC)₈YG e (CA)₈RG, gerando cada um dez bandas polimórficas.

Tabela 8. Iniciadores de ISSR utilizados, temperaturas de anelamento otimizadas, número de bandas polimórficas e monomórficas geradas no estudo da diversidade genética entre 81 acessos de *Ipomoea batatas* e um de *Ipomoea pescaprae*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Sequência 5' – 3'	Ta ¹⁾	Bandas Polimórficas	Bandas Monomórficas	Total de Bandas
(GAGA) ₃ CC	40°C	10	0	10
(GT) ₆ CC	45°C	8	0	8
(CAC) ₃ GC	45°C	10	0	10
(AG) ₈ YT	42°C	7	1	8
(AC) ₈ CG	55°C	11	0	11
(AC) ₈ CT	47°C	6	2	8
(AC) ₈ YG	40°C	10	0	10
(CT) ₈ RG	42°C	6	1	7
(GGAT) ₃ GA	41°C	6	0	6
(GAA) ₆ AA	48°C	4	3	7
(AG) ₈ C	45°C	6	1	7
(CT) ₈ G	44°C	5	1	6
(AC) ₈ T	50°C	9	0	9
(AG) ₈ YA	47°C	4	1	5
(GA) ₈ YT	47°C	7	0	7
(CA) ₈ RG	47°C	10	0	10
(GT) ₈ YC	47°C	6	0	6
(AC) ₈ YC	52°C	4	0	4
(ATG) ₆	50°C	6	1	7
Total		135	11	146

R= A,G; Y=C,T

1) Ta= temperatura de anelamento

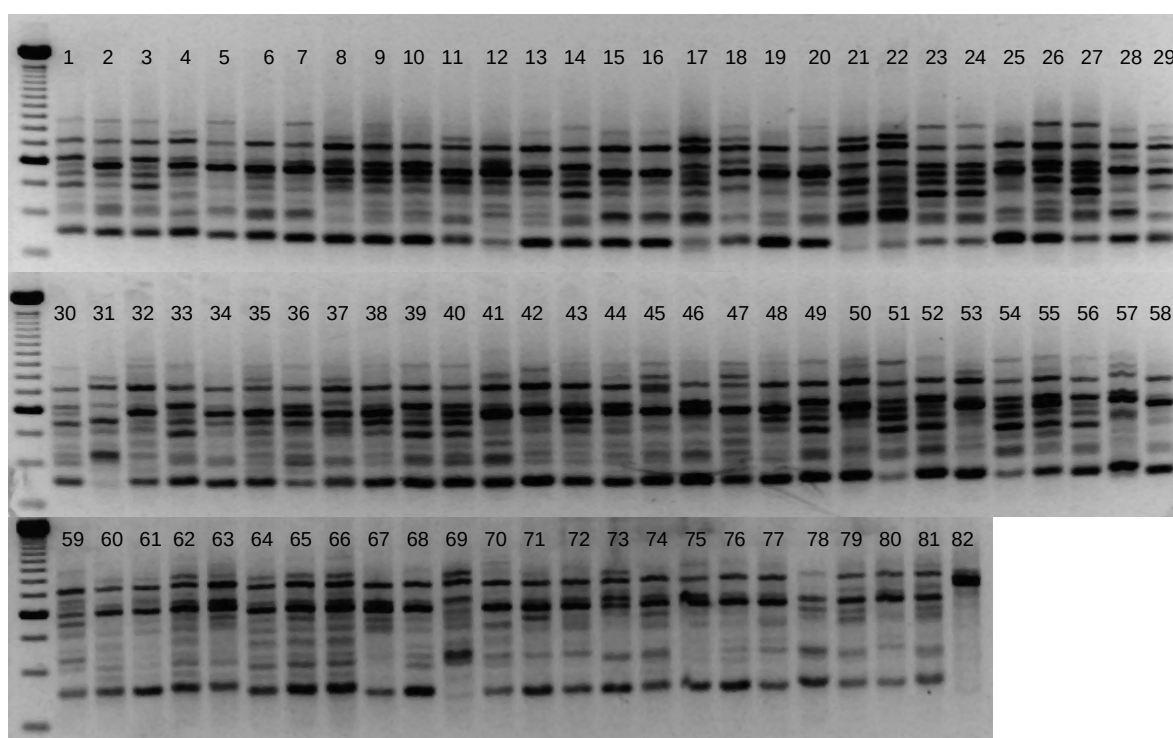


Figura 19 – Perfil de um gel de ISSR utilizando o iniciador de sequência $(AC)_8CG$ para os 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pes-caprae* (representado pelo número 82). Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

O nível de polimorfismo observado para o marcador ISSR neste trabalho foi elevado. Hu et al., (2003) usando oito iniciadores de ISSR previamente selecionados para 34 acessos de *Ipomoea* (28 acessos de batata-doce e seis acessos de espécies silvestres) obtiveram 81 marcas polimórficas, em média, 10 bandas polimórficas por iniciador. Entretanto, neste trabalho o autor obteve uma média para os oito iniciadores mais polimórficos, contabilizando-se para os 24 iniciadores utilizados a média seria de cinco bandas polimórficas por iniciador.

He et al. (2007) trabalhando com 100 acessos de batata-doce, obtiveram 239 marcas polimórficas usando 14 iniciadores de ISSR, com uma média de 17 bandas polimórficas por iniciador. Este elevado polimorfismo pode ser justificado pela procedência dos acessos, que foram coletados na China, Nova Guiné e Indonésia, que são considerados centros secundários de diversidade genética de batata-doce.

A técnica de ISSR foi eficiente para acessar a variabilidade genética da população de batata-doce, conforme já descrito em outros trabalhos com batata-

doce (Hu et al., 2003; Qiang et al., 2008). Os genótipos apresentaram uma distância média de 0,27 ($\pm 0,07$). A matriz de dissimilaridade de Jaccard demonstrou que os acessos UENF 1934 e UENF 1998 são os mais distantes, com distância de 0,69. Por outro lado, UENF 1994 ('Princesa') e UENF 1995 ('Brazlândia Roxa') foram considerados os acessos mais próximos, com uma distância de 0,05. He et al. (2007) obtiveram uma distância genética que variou de 0,17 a 1,48, com uma distância média de 0,57. Qiang et al. (2008) obtiveram uma distância genética que variou de 0,16 a 0,92, com uma distância média de 0,57. A diferença das distâncias genéticas entre os trabalhos é devido principalmente à origem dos acessos estudados. He et al. (2007) e Qiang et al. (2008) trabalharam com acessos de diferentes regiões do mundo.

A elevada variabilidade dos acessos coletados em propriedades rurais observada no dendrograma (Figura 20) mostra a capacidade que os agricultores tradicionais do município de Campos dos Goytacazes e São João da Barra têm de manter altos níveis de diversidade genética de batata-doce em suas pequenas propriedades. Esta pode ser explicada pelo método de propagação assexuada e constantes trocas entre os proprietários rurais (Veasey et al., 2007).

Não houve correlação entre as distâncias geográficas (locais de coleta) e as distâncias genéticas mensuradas pelo índice de dissimilaridade de Jaccard para os dados obtidos com base nos marcadores ISSR, indicando que os acessos coletados não apresentam variabilidade genética relacionada ao espaço. Este fato pode estar associado à prática de trocar materiais entre os produtores vizinhos e parentes, resultando no mesmo genótipo que carrega nomes diferentes em diferentes lugares, além de possibilitar uma ampla distribuição e intercâmbio do genótipo. Veasey et al. (2008) trabalhando com marcadores microsatélites, também não observaram correlação entre as distâncias geográficas e a distância genética dos acessos de batata-doce coletados no Vale do Ribeira, São Paulo. Entretanto, Qiang et al. (2008) utilizando marcadores ISSR constataram associação entre as distâncias genética e geográfica. Contudo, estes autores trabalharam com acessos de diferentes países asiáticos, diferentemente do trabalho de Veasey et al. (2008) e deste, que trabalharam com a grande maioria dos acessos coletados em uma mesma região geográfica.

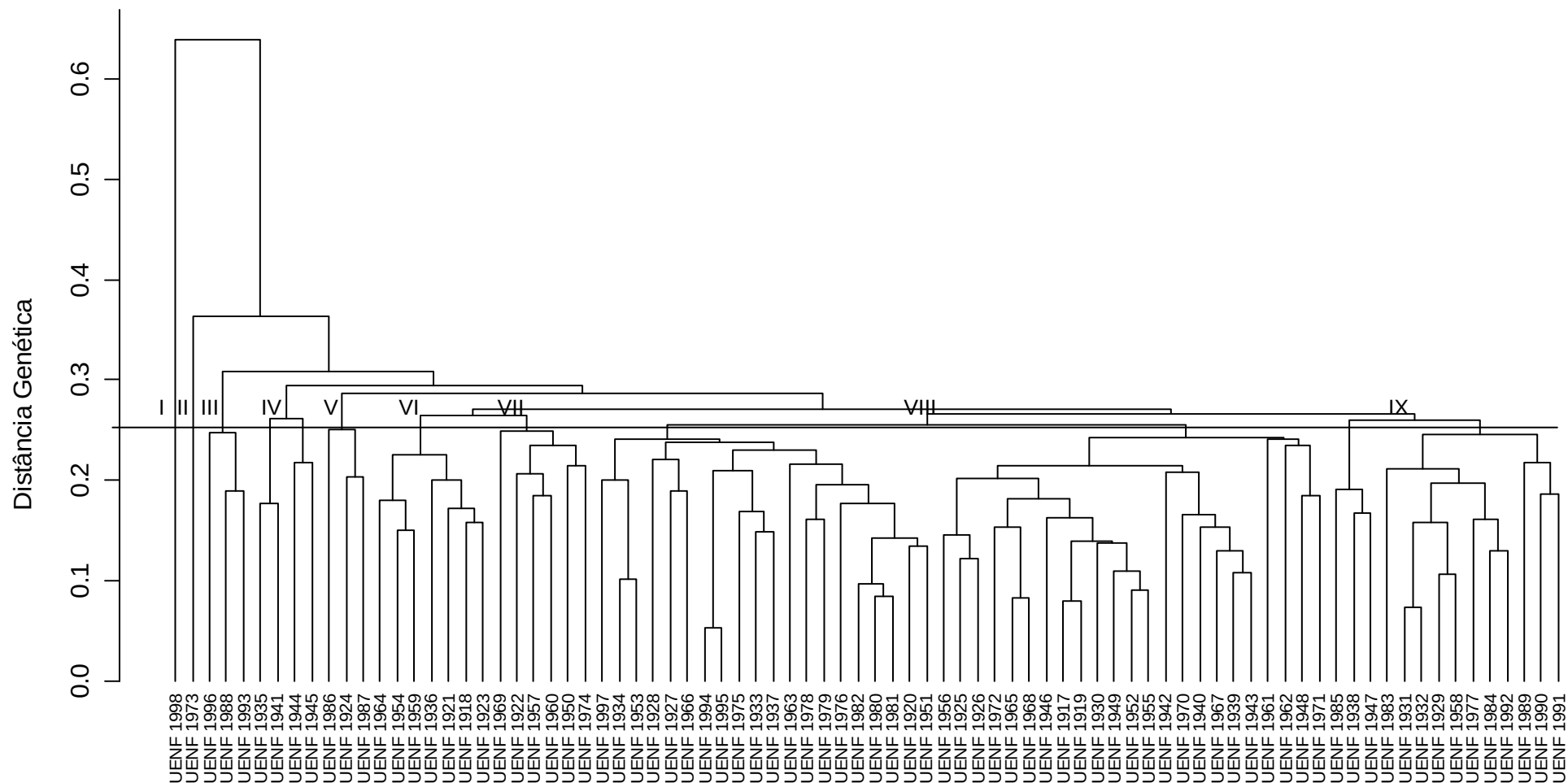


Figura 20. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético de Jaccard entre 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pescaprae* (UENF 1998), com base em 135 fragmentos polimórficos e 11 monomórficos amplificados por marcador ISSR. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Considerando o ponto de mudança abrupta no ponto de distância de 0.27, foram distinguidos nove grupos por UPGMA. Foi possível separar o acesso *Ipomoea pescaprae* (UENF 1998) dos acessos de batata-doce, ficando este acesso alocado em um grupo separado. Para esta espécie todos os iniciadores de ISSR amplificaram fragmentos, muitos deles característicos para o acesso, sendo amplificadas 15 bandas polimórficas específicas, o que corresponde a 11 % do total obtido.

O acesso UENF 1973, coletado em propriedade rural, ficou compreendido no grupo II, e para este acesso todos os iniciadores amplificaram, com exceção de (GA)₈YT. Foram amplificados dois fragmentos específicos para o acesso, observando-se similaridade entre os fragmentos amplificados para este acesso e o UENF 1998 para os diferentes iniciadores utilizados.

O grupo III foi formado pelos acessos UENF 1996 (cultivar da Embrapa), UENF 1988 e UENF 1993, provenientes de propriedades rurais da localidade de Dolores de Macabu, município de Campos dos Goytacazes. Foram contabilizados 38 fragmentos polimórficos. Os acessos UENF 1935, UENF 1941, UENF 1944 e UENF 1945 ficaram dispostos no grupo IV. Todos estes acessos foram obtidos em estabelecimentos comerciais, e provenientes do município de Vitória, o que pode sugerir uma maior uniformidade entre estes. Para este grupo foi obtido um total de 36,2 % de bandas polimórficas e 63,8 % de bandas monomórficas.

O grupo V reuniu os acessos UENF 1986, UENF 1924 e UENF 1987, todos oriundos de propriedades rurais do município de Campos dos Goytacazes. Foram constatados 24 fragmentos polimórficos. No sexto grupo ficaram reunidos sete acessos (UENF 1964, UENF 1954, UENF 1959, UENF 1936, UENF 1921, UENF 1918 e UENF 1923). A maior parte das raízes foi coletada em propriedades rurais, com exceção do acesso UENF 1936. Neste grupo foi obtido um total de 52 bandas polimórficas.

No grupo VII ficaram alocados os acessos UENF 1969, UENF 1922, UENF 1957, UENF 1960, UENF 1950 e UENF 1974, coletados em propriedades rurais, com um total de 31 bandas polimórficas. O grupo VIII foi formado pelo maior número de acessos, totalizando 43 acessos ou 52,4 % do total. Para este grupo foram detectadas 109 marcas polimórficas, compreendendo acessos coletados em propriedades rurais e de estabelecimentos comerciais. Neste grupo foram incluídas as cultivares da Embrapa (UENF 1994, UENF 1995 e UENF

1997), com exceção de UENF 1996, que possui coloração da casca creme, que ficou alocada em outro grupo. O grupo IX foi constituído por 14 acessos, ou seja, 17,0 % da totalidade de acessos, sendo contabilizadas 53 bandas polimórficas.

A maioria dos acessos coletados em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais ficou disposta em vários grupos, sem que houvesse separação destes, o que evidencia uma grande variabilidade. Isto pode ser explicado pelo fato de que muitos dos estabelecimentos comerciais, nos quais foram obtidos os acessos, comprem batatas-doces produzidas na região de Campos dos Goytacazes e São João da Barra, que correspondem aos mesmos locais onde foram coletados os acessos junto aos produtores rurais neste trabalho.

4.4.3 Comparação entre os marcadores RAPD E ISSR

A matriz obtida para o RAPD resultou em uma correlação cofenética de 0,80, resultados similares foram obtidos para a matriz gerada com base nos marcadores ISSR, com uma correlação cofenética de 0,89. Os dendrogramas construídos utilizando os marcadores RAPD e ISSR foram correlacionados pelo teste de Mantel (Mantel, 1967), significativo a 1 % em 1000 permutações, e revelaram um coeficiente de 0,54 (Tabela 9), mostrando uma moderada correlação genética entre os resultados obtidos com o estudo dos dois marcadores. Em estudo com outra espécie de raiz tuberosa, a mandioca (*Manihot esculenta*), foi constatada uma correlação mais elevada ($r = 0,75$), obtida a partir da comparação de dados dos marcadores RAPD e AFLP (Colombo et al., 2000). Entretanto, baixos valores de correlação ($r = 0,11$) foram observados por Hou et al., (2005) quando compararam as matrizes obtidas por dados oriundos dos marcadores do tipo RAPD e ISSR para variedades locais de trigo.

Tabela 9. Quadro comparativo entre os marcadores RAPD e ISSR na análise da diversidade genética entre 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pescaprae*. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

	Marcadores	
	RAPD	ISSR
Número de iniciadores	18	19
Número total de bandas	150	146
Bandas polimórficas	145	135
Bandas monomórficas	5	11
Média de bandas polimórficas por iniciador	8,0	7,1
Maior distância	0,77 (UENF 1953 e UENF 1998)	0,69 (UENF 1934 e UENF 1998)
Menor distância	0,21 (UENF 1942 e UENF 1943)	0,05 (UENF 1994 e UENF 1995)
Distância média	0,49 ($\pm 0,07$)	0,27 ($\pm 0,07$)
Correlação cofenética	0,80	0,89
Correlação de Pearson entre as duas matrizes	0,54	

Foi obtido um dendrograma da análise conjunta dos dados gerados pelos marcadores RAPD e ISSR, que revelou um coeficiente de correlação cofenética de 0,88 (Figura 21). Este valor gerado pela combinação dos dados (RAPD + ISSR) foi maior do que o encontrado para a correlação entre as matrizes geradas por marcadores RAPD e ISSR. Assim, os marcadores RAPD e ISSR combinados foram mais eficientes na determinação das relações genéticas entre os genótipos de batata-doce, mostrando que os dados RAPD se correlacionaram com aqueles gerados para o marcador ISSR. A correlação entre a matriz obtida para o RAPD e a matriz obtida para a combinação dos dados (RAPD+ISSR) resultou em um valor de 0,80, assim como a correlação entre a matriz obtida para ISSR relacionada à matriz de combinação dos dados (RAPD+ISSR) gerou um valor de 0,84, observando-se concordância entre os resultados.

Para o marcador RAPD foi obtida uma frequência de 96,7 % fragmentos polimórficos, enquanto o marcador ISSR gerou 92,4 % fragmentos polimórficos, sendo, portanto, um pouco menos polimórfico. Ressalta-se que tanto o marcador RAPD quanto o ISSR possibilitaram separar os acessos de batata-doce do acesso de outra espécie, *Ipomoea pescaprae* (UENF 1998), observando-se para este último, marcas polimórficas específicas, confirmando a divergência genética entre estes acessos.

Observou-se a separação do acesso UENF 1973, ficando este alocado em um grupo específico tanto para os marcadores RAPD quanto para o ISSR, o que caracteriza uma boa correspondência entre as análises dos dois marcadores. Foi também constatado que as cultivares da Embrapa (UENF 1994, UENF 1995 e UENF 1997) foram reunidas em um mesmo grupo, para os dois marcadores, com exceção da 'Brazlândia Branca' (UENF 1996), que ficou alocada em um grupo distinto tanto na análise para o marcador RAPD quanto ISSR.

Muitos dos acessos coletados em propriedades agrícolas e estabelecimentos comerciais ficaram agrupados de forma semelhante com a utilização das duas técnicas. Entretanto, não foi possível separar os genótipos de acordo com a sua distribuição geográfica por intermédio dos dois marcadores. Uma possível explicação para a ausência de grupos definidos de acordo com o espaço geográfico seria o intenso intercâmbio de variedades locais de batata-doce entre os produtores rurais. Veasey et al. (2008), trabalhando com marcadores microssatélites em variedades locais de batata-doce também

observaram falta de correlação entre as distâncias genéticas mensuradas pelo Índice de dissimilaridade de Jaccard e a distância geográfica.

Foi constatada uma alta variabilidade de genótipos de batata-doce mantida pelos agricultores da região Norte Fluminense. Na caracterização molecular, tanto o marcador RAPD quanto o ISSR demonstraram diferenças marcantes e polimorfismo entre os acessos estudados, não sendo detectadas duplicatas.

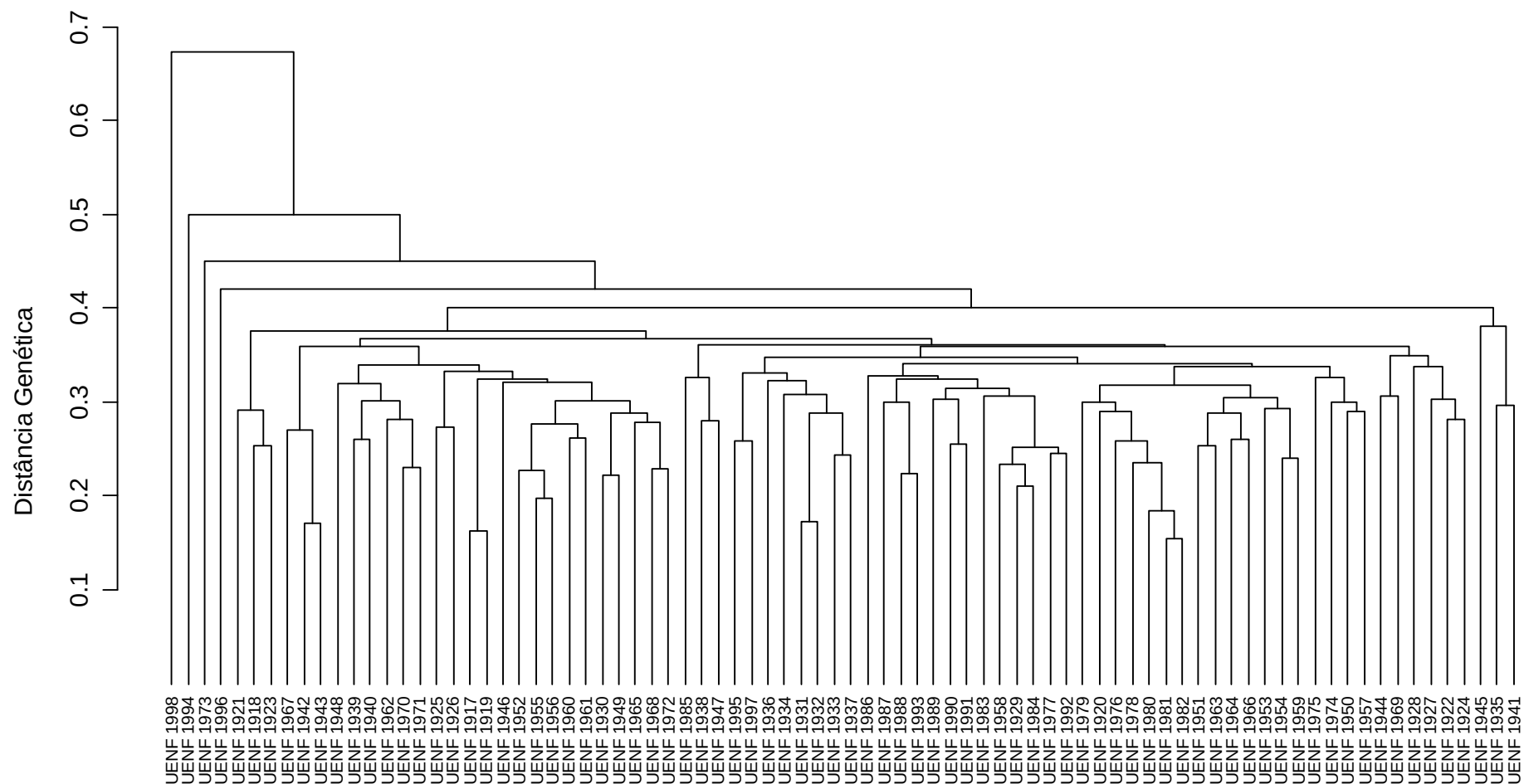


Figura 21. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético de Jaccard entre 81 acessos de batata-doce e um de *Ipomoea pescaprae* (UENF 1998), com base na combinação entre a matriz obtida para o marcador RAPD e ISSR. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

4.5 Conservação do germoplasma

Os acessos estão sendo mantidos em campo, e devido ao grande número de acessos coletados apenas parte destes está *in vitro* até o momento.

No ensaio 1 para estabelecimento da coleção *in vitro* constatou-se uma alta taxa de infestação por fungos, o que evidenciou a condição fitossanitária precária das matrizes, que foram coletadas nas propriedades rurais com uma série de doenças, e apesar do tratamento com fungicidas a eficácia para redução da contaminação *in vitro* foi baixa. A maior fonte de contaminação primária na cultura de tecidos vegetais provém da planta-matriz, por isso sua condição fitossanitária é muito importante (Montarroyos, 2000; Souza et al., 2007).

O ensaio 2 mostrou-se eficiente para a conservação do germoplasma de batata-doce. No meio contendo apenas água desionizada estéril e ágar foi verificada a contaminação, e os explantes contaminados foram descartados. Para aqueles que enraizaram (Figura 22) foi observado o máximo de tempo para o esgotamento do meio, e após seis meses foi realizada a transferência dos acessos para o meio MS, constatando-se que 100 % destes tiveram um bom desenvolvimento (Figura 23). Para conservação de germoplasma *in vitro* é necessário um período prolongado para resultados mais precisos. A continuidade e novos ensaios visando avaliar a estabilidade desses clones *in vitro* deverão ser realizados.

De todo modo, foi estabelecido um protocolo padrão para estabelecimento da coleção *in vitro* de batata-doce, a partir do material propagativo coletado no campo para as condições laboratoriais vigentes na UENF.



Figura 22 – Formação de primórdios radiculares em explantes de batata-doce em meio de cultura contendo apenas água desionizada estéril e ágar, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UENF. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

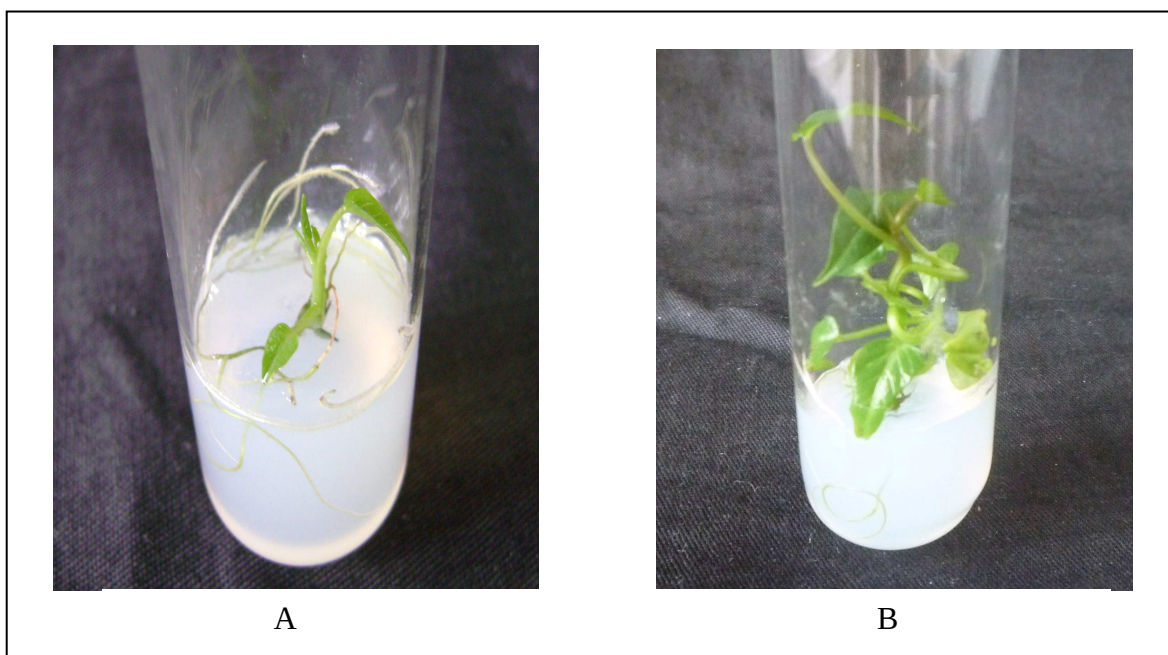


Figura 23 – Estádios da conservação *in vitro* em meio de cultura MS. A – plântulas após 7 dias de cultivo; B – plântulas após 30 dias de cultivo, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UENF. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Os agricultores tradicionais têm um papel fundamental na conservação e geração da variabilidade genética da espécie cultivada. As atividades de coleta e caracterização do germoplasma permitem conhecer as variedades tradicionais de uma determinada região e evita a perda da diversidade genética de batata-doce. Este trabalho teve como objetivos: coletar raízes e ramas de batata-doce em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais da região Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro; levantar informações quanto ao perfil dos produtores rurais entrevistados e quanto à procedência das raízes comercializadas nos estabelecimentos comerciais; caracterizar os acessos coletados com base em marcadores morfoagronômicos e moleculares do tipo RAPD e ISSR, comparando a eficiência de discriminação entre os acessos por estes dois tipos de marcadores moleculares utilizados; estimar a divergência genética da população estudada e implantar uma coleção de germoplasma de batata-doce na UENF.

Em função dos resultados obtidos pôde-se concluir que:

- As coletas possibilitaram constatar de forma mais efetiva o abandono da agricultura familiar, da tradição e cultura de cultivo da batata-doce na região Norte Fluminense, indicando a perda deste recurso genético. Entretanto 72 % dos produtores entrevistados cultivam em suas pequenas propriedades a batata-doce há mais de uma década. Nas entrevistas realizadas nos estabelecimentos comerciais foi constatado que a batata-doce comercializada em Campos dos

Goytacazes é proveniente principalmente dos municípios de Vitória – ES (37 %) e São João da Barra (37 %);

- A caracterização morfoagronômica e molecular foram eficientes para estimar a diversidade genética entre os acessos, evidenciando significativa divergência, sendo importantes ferramentas para o conhecimento e uso dos acessos;

- Marcadores RAPD e ISSR foram eficientes métodos para acessar a variabilidade genética da população de batata-doce. Os resultados obtidos com marcador RAPD se correlacionaram bem com os obtidos para marcador ISSR, observando-se uma boa correspondência entre eles;

- O estudo da diversidade por intermédio de características morfoagronômicas possibilitou a identificação de materiais muito próximos, sugerindo a existência de duplicatas no germoplasma. O mesmo não foi constatado pela análise com marcadores RAPD e ISSR, na qual todos os acessos foram considerados distintos, o que permitiu desconsiderar a hipótese de duplicatas;

- Não foi observada correlação entre distância genética e distância geográfica, o que pode ser reflexo da prática comum de trocas de batata-doce entre os produtores rurais ou da de mutações somáticas espontâneas, configurando uma ampla variabilidade mantida pelos agricultores tradicionais da região Norte Fluminense; ocorrência

- Foi definido um protocolo para o estabelecimento inicial de uma coleção *in vitro*;

- Foi implantada uma coleção de batata-doce com 81 acessos na UENF, que estão sendo mantidos *in vivo* e parte deles *in vitro*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albagli, S., Maciel, M.L. (2004) Informação e conhecimento na inovação e no desenvolvimento local. *Ciência da Informação*, Brasília. 33:9-16.

Almekinders, C.J.M., Elings, A. (2001) Collaboration of farmers and breeders: participatory crop improvement in perspective. *Euphytica*, Wageningen, 122:425-438.

Alzate-Marin, A.L., Cervigni, G.D.L., Moreira, M.A. e Barros, E.G. (2005) Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. *Fitopatologia Brasileira* 30: 333-342.

Augustin, E., Garcia, A., Rocha, B.H.G. (2000) Caracterização de variedades de batata doce (*Ipomoea batatas*) através de descritores morfológicos e isoenzimáticos. *Ciência Rural*, Santa Maria, 30:49-53.

Austin, D.F. (1988) The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweet potatoes and related wild species, in: Exploration, maintenance and utilization of sweet potato genetic resources, in: Proceedings of the First Planning Conference, Lima, Peru, International Potato Center (CIP), p. 27–59.

Beuselinck, P.R., Steiner, J.J. (1992) A proposed framework for identifying, quantifying and utilizing plant germplasm resources. *Field Crops Research*, Amsterdam, 29:261-272.

Bittencourt, G.A., Castilho, D.S.B., Bianchini, V., Silva, H.B.C. (1999) Principais fatores que afetam o desenvolvimento dos assentamentos de reforma agrária no Brasil. Brasília: Coordenação de Comunicação Social do Ministério do Desenvolvimento Agrário.

Borges, A., Rosa, M.S., Recchia, G.H., Queiroz-Silva, J.R., Bressan, E.A., Veasey, E. A. (2009) CTAB methods for DNA extraction of sweetpotato for microsatellite analysis. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 64:529-534.

Brasil, E.R.F. (2009) Produção rural familiar em Jataí: permanência e resistência no contexto da modernização agrícola (2007). Dissertação de Mestrado, p. 54.

Caixeta, E.T., Oliveira, A.C.B., Brito, G.G., Sakiyama, N.S. (2006) Tipos de Marcadores Moleculares. In: Borém, A.; Caixeta, E. T. Marcadores Moleculares. Viçosa, MG, cap 1, p. 9-78.

Carvalho, A. (2006) *Frutas legumes e verduras: FLV. Revista Supermercado Moderno*. São Paulo: Lund.

Carvalho, M.F. de., Crestani, M., Farias, F.L., Meirelles, J.L., Bogo, A., Guidolin, A.F. (2008) Caracterização da diversidade genética entre acessos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) coletados em Santa Catarina por marcadores RAPD. *Ciência Rural*, Santa Maria, 38:1522-1528

Cavalcante, M. (2008) Caracterização morfológica, desempenho produtivo e divergência genética de genótipos de batata-doce. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Alagoas. 61p.

Cavalcante, M., Ferreira, P.V., Paixão, S.L., Costa, J.G. da, Pereira, R.G., Madalena, J.A.S. (2009) Potenciais produtivo e genético de clones de batata-doce. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 31:421-426.

Cavalcante, J.T., Ferreira, P.V., Soares, L. (2003) Avaliação de clones de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), em Rio Largo - Alagoas. *Magistra*, Cruz das Almas, 15: 13-17.

Chávez, R., Sánchez, T., Iglesias, C.C. (2006) Caracterización morfológica y molecular de genótipos mejorados de camote (*Ipomoea batatas*) para ecosistemas Árido-Salino-Bórico. *Ciencia e Desarrollo*, 8:84-115.

Cid, L.P.B. (2001) A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso?. *Biotecnologia*. 19: 16-21.

CIP (2009) Disponível em: <<http://www.cipotato.org/sweetpotato/>>. Acesso em: 20 de setembro de 2009.

Cole-Rodgers, P., Smith, D.W., Bosland, P.W. (1997) A novel statistical approach to analyse genetic resource evaluations using *Capsicum* as an example. *Crop Science*. 37(3):1000(3).

Colombo, C., Second, G., Charries, A. (2000) Genetic relatedness between cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and *M. flabellifolia* and *M. Peruviana* based on both RAPD and AFLP markers. *Genet. Mol. Biol.* [online], 23:417-423.

Costa, F.R., Pereira, T.N.S., Vitória, A.P., Campos, K.P., Rodrigues, R., Silva, D.H.da, Pereira, M.G. (2006) Genetic diversity among *Capsicum* accession using RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 6:18-23

Cruz, C.D. (2006) *Programa GENES: estatística experimental e matrizes*. Viçosa: UFV. 285p.

Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v. 2, 359p.

Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (2004) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 2ª edição revisada, 390p.

Daros, M., Amaral Jr., A.T., Pereira, T.N.S., Leal, N.R., Freitas, S.P., Sediyaama, T. (2002) Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. *Horticultura Brasileira*, 20:43-47.

Dagnino, D.S., Carelli, M.L.D., Arrabal, R.F. (1991) Efeito do ácido giberélico sobre a regeneração de *Ipomoea batatas* a partir da cultura de meristema. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 26: 259-262.

Dodds, J. H., Roberts, L. W. (1993) Experiments in plant tissue culture. 2. ed. Cambridge, Estados Unidos: Cambridge University Press. p. 172-179.

Elameen, A., Fjellheim, S., Larsen, A., Rognli. O. A., Sundheim, L., Msolla, S., Masumba, E., Mtunda, K., Klemsdal, S.S. (2008) Analysis of genetic diversity in a sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) germplasm collection from Tanzania as revealed by AFLP. *Genet Resour Crop Evol*, 55:397–408.

Elliott, R.F. (1969) Growth of excised meristems-tips of Kumura (*Ipomoea batatas*) in anenic culture. *New Zealand Journal of Botany*, Wellington, 7:158-166.

Falconer, D. S. (1987) Introdução à genética quantitativa. Trad. Martinho Almeida Silva; José Carlos da Silva. Viçosa: UFV, 279p.

Fao (2007) Disponível em: < <http://www.fao.org>>. Acesso em: 27 de agosto de 2009.

Ferreira M.A.J. da F., Melo A.M.T., Carmo C.A.S., Silva, D.J.H., Lopes J.F., Assis, J.G.A., Queiróz, M.A. de, Moura, M. Dias R. de C.S., Romão, R.L., Barbieri, R.L., Ramos, S.R.R., Noronha, S.E. de. (2007) Diagnóstico sobre as condições de

conservação *ex situ* de *Cucurbita* spp. no Brasil. *Horticultura Brasileira*, 25 (1) (Suplemento).

Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 220p.

Fonseca, M.J.O., Soares, A.G., Freire Junior M., Almeida D.J., Ascheri J.L.R. (2008) Effect of extrusion-cooking in total carotenoids content in cream and orange flesh sweet potato cultivars. *Horticultura Brasileira*, 26:112-115.

Fonseca, F.A.F., Sediyaama, T., Cruz, C.D., Sakaiyama, N.S., Ferrão, M.A.G., Ferrão, R.G., Bragança, S.M. (2006) *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 41:599-605.

Freyre, R., Iwanaga, M., Orjeda, G. (1991) Use of *Ipomoea trifida* (HBK.) G. Don germplasm for sweet potato improvement. Part 2. Fertility of synthetic hexaploids and triploids with 2n gametes of *I. trifida*, and their interspecific crossability with sweet potato, *Genome*, 34:209–214.

Fuglie, K., Liming Z.L., Salazar, T. (1999) Economic Impact of Virus- Free Sweet Potato Planting Material in Shandong Province, China. International Potato Center: Lima, Peru, 23:219-224.

Gallo, L.A., Crocomo, O.J. (1995) A cultura de tecidos em fitopatologia. In: Filho AB; Kimati H; Amorim L. (eds). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres. p.495-505.

George, E.F. (1993) The components of culture media. In: George EF; Sherrington PD. (eds). Plant propagation by tissue culture. Great Britain: Exegetice Limited. p. 273-343.

Gichuki, S.T., Gichuki, M., Zhang, D., Hermann, M., Schmidt, J., Glossl, J., Burg, K. (2003) Genetic diversity in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] in relationship to geographic sources as assessed with RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50:429–437.

Gonçalves, L.S.A., Rodrigues, R., Sudré, C.P., Bento, C.S., Moulin, M.M., Araújo, M.L., Daher, R.F., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G. (2008) Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. *Horticultura Brasileira* 26:362-368.

Grattapaglia, D., Machado, M.A. (1998) Micropropagação. In: Caldas, L.S.; Torres, A.C.; Buso, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH. p. 183-260.

Guanziroli, C., Cardim, S.E. (2000) Novo Retrato da Agricultura Familiar: O Brasil redescoberto. Brasília: Projeto de Cooperação Técnica FAO/INCRA. 74 p. Disponível em: <http://www.incra.gov.br/fao/pub3.html>. Acesso em: 03 de outubro de 2009.

Guarino, L., Ramantha, V., Reid, R. (1995) Collecting plant genetic diversity: Technical Guidelines. CAB International/IPGRI, Wallingford, 784 p.

Guedes, M. C. do. (2004) Antocianinas: pigmento natural ou remédio? *Revista Científica do IMAPES*, p. 71-73.

Haley, S.D., Miklas, P. N., Afanador, L., Kelly, J. D. (1994) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker variability between and within gene pools of common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119:122-125.

Haung, J.C., Sun, M. (2000) Genetic diversity and relationship of sweet potato and its wild relatives in *Ipomoea* series Batatas (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA, *Theor. Appl. Genet*, 100:1050–1060.

Hawkes, J. G. (1982) Germplasm collection, preservation, and use. In: Frey, K. J. *Plant Breeding II*. Ludhiana: Kalyani Publishers: New Delhi, p. 57-83.

He, X., Liu, Q., Ishiki, K., Zhai, H., Wang, Y. (2006) Genetic Diversity and genetic relationships among Chinese Sweetpotato landraces revealed by RAPD and AFLP markers. *Breeding Science*, 56:201-207.

He, X., Liu, Q., Ishiki, K., Zhai, H., Wang, Y. (2007) ISSR analysis of genetic diversity and relationships among sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces in China. *Plant Genetics and Breeding*.150:35-41.

Horton, D., Prain, G., Gregory, P. (1989) High level investment return for global sweet potato research and development. CIP circular, 17:1-11.

Hu, J., Nakatanl, M., Lalusin, A.G., Kuranouch, T., Fujimura, T. (2003) Genetic Analysis of sweetpotato and wild relatives using inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Breeding Science*, 53:297-304.

Huamán, Z. (1992) Systematic botany and morfology of the sweetpotato plant. Lima: CIP, 22p. (CIP. Technical Information Bulletin, 25).

Huamán, Z. (1991) Descriptors for sweet potato. Rome: International Board for Genetic Resources/Centro Inter- nacional de la Papa/Asian Vegetable Research and Development Center, 134 p.

Huamán, Z., De La Puente, F. (1988) Development of a sweet potato gene bank at CIP. *CIP Circular*, 16:1-10.

Huang, J.C., Sun, M. (2000) Fluorescein PAGE analysis of microsatellite-primed PCR: a fast and efficient approach for genomic fingerprinting. *Biotechniques*,28: 1069–1072.

IBGE. (2007) Histórico – São João da Barra – Rio de Janeiro/RJ. Disponível em:<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/historicos_cidades/historico_conteudo.php?codmun=330500> Acesso em: 20 de outubro de 2009.

IBGE. (2008) Censo agropecuário 1995/1996. Rio de Janeiro: IBGE. 1998. Disponível em:

<www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/efalt.shtm>. Acesso em: 18 de agosto de 2009.

Jones, A., P. D., Dukes, J. M. S. (1986) Sweet potato breeding, pp. 1-35. In M. J. Bassett (ed.). *Breeding Vegetable Crops*. AVI. Westport, CN.

Jones, A. (1967) Should Nishiyama's K_{123} (*Ipomoea trifida*) be designated I. Batatas? *Econ. Bot.*, 21(2):163-166.

Joshi S.P., Gupta, V.S., Aggarwal R.K., Ranjekar P.K., Brar D.S. (2000) Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100:1311–1320.

Kerbaudy, G. B. (1997) Clonagem de plantas in vitro. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*. Brasília, 1:30-33.

Kim, S. H., Hamada, T. (2005) Rapid and reliable method of extracting DNA and RNA from sweetpotato, *Ipomoea batatas* (L). *Lam. Biotechnology Letters* 27:1841–1845.

La Rovere, R.L., Carvalho, R.L. (2003) Estudo de Configurações Produtivas Locais: o caso de Campos dos Goytacazes. IE/UFRJ, p. 1-16.

Magalhães, J.S., Santos, M.D.M., Cunha Filho, F.N., Blumer, L., Guerra, M.P., Torres, A.C. (2006) Indução de embriogênese somática em genótipos de batata-doce. *Horticultura Brasileira*, 24:79-83.

Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27:209-220.

Mariot, A., Reis, M.S. (2006) Biodiversidade e sua importância. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 5:53 – 61.

Martin, F.W. (1970) Sterility in some species related to the sweetpotato. *Euphytica*, 19:459-464.

Melo, A. S., Costa, B. C., Brito, M. E. B., Aguiar Netto, A. O., Viégas, P. R. A. (2009) Custo e rentabilidade na produção de batata-doce nos perímetros irrigados de Itabaiana, Sergipe. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 39:119-123.

Miranda, J.E.C. (1982) Batata-doce. Evolução e Melhoramento. Piracicaba, USP/ESALQ, 139p.

Miranda, J.E.C., França, H. F., Carrijo, O. A., Souza, A.F., Pereira, W., Lopes, C.A. (1989) Circular técnico de CNP Hortalíça, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Hortalíças.

Montes, S.M.N.M., Firetti, R., Golla, A.R., Tarsitano, M.A.A. (2008) Custos e rentabilidade da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) na região oeste do estado de São Paulo: estudo de caso. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/batata/index.htm>. Acesso em: 10 de agosto de 2009.

Montarroyos, A.V.V. (2000) Contaminação *in vitro*. ABCTP. Notícias, Brasília, n.36 37:5-10.

Murashige, T., Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497.

Murilo, D.V. (1990) Aspectos econômicos da batata-doce. In: Encontro de professores, pesquisadores e extensionistas do Rio Grande do Norte, 4., Mossoró, RN: Escola Superior de Agricultura de Mossoró – ESAM, p.21-28.

Naskar, S.K. (1996) Genetic divergence for yield contributing traits in sweet potato (*Ipomoea batatas*). In: Kurup, G.T.; Palaniswami, M.S.; Potty, V.P.; Padmaja, G.; Labeerathumma, S.; Pillai, S.V. (Ed.). Tropical tuber crops: problems, prospects and future strategies. New Hampshire: Science Publishers, p.133-136.

Nass, L., Paterniani, E. (2000) Pré-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Scientia Agricola*, 57:581-587.

Nielsen, L.W. (1960) Elimination of the internal cork virus by culturing apical meristems of the infected sweet potato. *Phytopathology*. St. Paul, 50:840-841.

Nishiyama, I. (1971) Evaluation and domestication of sweet potato, *Bot. Mag. Tokyo* 84:377-387.

Oliveira, A.C.B., Sedyama, M.A.N., Sedyama, T., Cruz, C.D. (2000) Avaliação da divergência genética em batata-doce por procedimentos multivariados. *Acta Scientiarum*, 22:895-900.

Oliveira, A.C.B., Sedyama, M.A.N., Sedyama, T., Finger, F.L., Cruz, C.D. (2002) Variabilidade genética em batata-doce com base em marcadores isoenzimáticos. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 20:576-582.

Oliveira, H.S., Santana, W.R., Magalhaes, K.A.B., Vidal, A.S.C., Souza, R.C., Tavares, I.B., Cardoso, L.M., Magalhaes-Filho, L.N.L. (2006) Avaliação da produtividade agrícola de cinco clones de batata-doce para obtenção de álcool combustível em escala laboratorial (*Ipomoea batatas*(L.).

Painting, K.A., Perry, M.C., Denning, R.A., Ayad, W.G. (1995) Guidebook for genetic resources documentation. Rome: IPGRI, 317 p.

Pasqual, M., Santos, F.C., Figueiredo, M.A., Junqueira, K.P., Rezende, J.C., Ferreira, E.A. (2008) Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. *Horticultura Brasileira* 26:45-49.

Pereira, J.E.S., Fortes, G.R.L. (2004) Organogênese de ápices meristemáticos de batata em meios de isolamento e multiplicação *in vitro*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 22:197-201.

Peres, F., Lucca, S.R., Ponte, L.M. (2004) Percepção das condições de trabalho em uma tradicional comunidade agrícola em Boa Esperança, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública* [online]. 20:1059-1068.

Picha, D. H. (1985) Crude protein, minerals and carotenoids in sweet potatoes. *Journal Food Science*, 50:1768-1769.

Porebski S., Balley L.G., Baum B.R. (1997) Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharides and polyphenols component. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 15: 8-15.

Qiang, L., Qing-Chang. L., Hong, Z., Dai-Fu, M., Xin, W., Xue-Qin, L., Yu-Ping, W. (2008) Genetic Diversity in Main Parents of Sweetpotato in China as Revealed by ISSR Markers. *Acta Agron Sin*, 34:972–977.

Queiroga, R.C.F., Santos, M.A., Menezes, M.A., Vieira, C.P.G., Silva, M.C. (2007) Fisiologia e produção de cultivares de batata-doce em função da época de colheita. *Horticultura Brasileira* 25:371-374.

Rabbani, M.A., Iwabuchi, A., Murakami, Y., Suzuki, T., Takayanashi, K. (1998) Variation and the relationship among mustard (*Brassica juncea*) germplasm from Pakistan. *Euphytica*, Dordrecht, 101:357-366.

Rajapakse, S., Nilmalgoda, S.D., Molnar, M., Ballard, R.E., Austin, D.F., Bohac, J.R. (2004) Phylogenetic relationships of the sweet potato in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) based on nuclear beta-amylase gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Elsevier, 30:623-632.

Ramalho, M.A.P., Santos, J.B., Pinto, C.A.B (2008) Genética na Agropecuária. Lavras: UFLA, 4º edição, p. 24-25.

Ratnaparkhe, M.B., Tekeoglu, M., Muehbauer, F.J. (1998) Inter-simple- sequence-repeat (ISSR) polymorphisms are useful for finding markers associated with disease resistance gene clusters. *Theor. Appl. Genet.* 97:515-519.

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.

Ribeiro, E.M., Ângulo, J.L., Noronha, A.B., Castro, B.S., Galizoni, F.M. (2003) A feira e o trabalho rural no Alto Jequitinhonha: um estudo de caso em Turmalina, Minas Gerais. *Unimontes Científica*, Montes Claros, 1:1-20.

Ritschel, P.S., Huamán, Z., Lopes, C.A., Menezes, J.E. (2000) Catálogo de germoplasma de batata-doce I. Coleção mantida pela Embrapa Hortaliças Brasília: Embrapa-CNPq. Submetido ao Comitê de Publicações.

Ritschel, P.S., Huáman, Z. (2002) Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata-doce da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 37:485-492.

Roca, W.M., Arias, D.I., Chaves, R. (1991) Métodos de conservación *in vitro* del germoplasma. In: Roca, W. M., Mroginski, L. A. (Ed.). Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, p. 697-714.

Roesler, P.V.S.de, Gomes, S.D., Moro, E., Kummer, A.C.B., Cereda, M.P., (2008) Produção e qualidade de raiz tuberosa de cultivares de batata batata-doce no oeste do Paraná. *Acta Scientia Agronômica*, Maringá, 30:117-122.

Rossel, G., Kriegner, A., Zhang, D. P. (2000) From Latin America to Oceania: The historic dispersal of sweet potato re-examined using AFLP, CIP Program Report, p. 315–321.

Sagredo B., Hinrichsen P., López H., Cubillos A., Muñoz C. (1998) Genetic variation of sweet potatoes *Ipomoea batatas* L. cultivated in Chile determined by RAPDs. *Euphytica*, 101:193–198.

Scapim, C.A., Pires, I.E., Cruz, C.D., Amaral Júnior, A.T., Braccini, A.L., Oliveira, V.R. (1999) Avaliação da diversidade genética em *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, por meio da análise multivariada. *Rev. Ceres*, 46(266):347-356.

Sefc, K.M., Regner, F., Glossl, J., Steinkellner, H. (1998) Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis*, 37:15-20.

Sharma, K., Mishra, A. K., Misra, R. S. (2008) A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. *African Journal of Biotechnology* 7:1018-1022.

Shiotani, I (1987) Genomic structure and the gene flow in sweet potato and related species, in: P. Gregory, (Ed.), Exploration, Maintenance and Utilization of Sweet Potato Genetic Resources. Rep 1st Sweet Potato Planning Conference CIP, Lima, Peru, p. 61–73.

Silva, D.S.O., Costa, C.C., Ribeiro, G.N., Araújo, P.L., Sousa, V.L.B., Oliveira, E.M. (2009) Perfil dos Consumidores de Hortaliças na Feira de Pombal-PB. *Horticultura Brasileira* 27:3250-3255.

Silva, J.B.C., Lopes, C.A., Magalhães, J.S. (2004) Cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.). Brasília: Embrapa-CNPq. (Sistema de produção, n. 6). Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/batatadoce>>. Acesso em: 5 de outubro de 2008.

Silva, J.B.C., Lopes, C.A., Magalhães, J.S. (2002) Cultura da batata-doce. In: Cereda, M. P. Agricultura: tuberosas amiláceas latino americanas. São Paulo: Cargill. 2:449-503.

Soares, K.T. (2002) A cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). João Pessoa: EMEPA-PB. 26p.

Soares, K.T., Melo, A.S., Matias, E.C. (2008) A cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Disponível em: <http://www.emepa.org.br/batata_doce.php/>. Acesso em: 2 de outubro de 2009.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1995) Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. WH Freeman and Company. New York. USA, 3ª edição.

Souza, A.B. de. (2000) Avaliação de cultivares de batata-doce quanto a atributos agronômicos desejáveis. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, 24:841-845.

Souza, P.M. de., Ferreira, V.R., Ponciano, N.J., Brito, M.N. (2008) Otimização econômica, sob condições de risco, para agricultores familiares das regiões Norte e Noroeste do estado do Rio de Janeiro. *Revista Pesquisa Operacional* (ISSN 0101-7438), 28:123-139.

Souza, J.A. de., Schuch, M.W., Silva, L.C. da., Ferri, J., Soares, G. C. (2007) Solidificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento na propagação in vitro de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, 13:115-118.

Souza, E.L.S. Conservação de germoplasma *in vitro*. (1988) In: Araújo, S.M.C., Osuna, J.A. (Ed.). In: Encontro sobre recursos genéticos, Jaboticabal. Anais. Jaboticabal: Unesp. p. 96-101.

Spooner, D., Van Treuren, R., De Vicente, M.C. (2005) Molecular markers for genebank management. IPGRI. Technical Bulletin nº 10. Disponível em: www.ipgri.cgiar.org/publications/pdf/1082.pdf. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy.

Srisuwan, S., Sihachakr, D., Yakovlev, S.S. (2006) The origin and evolution of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches. *Plant Science*, Elsevier, Paris, 171:424-433.

Tardin, F.D., Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G., Vidigal, M.C.G., Daher, R.F., Scapim, C.A. (2003) Genetic diversity and determination of the optimum number of RAPD markers in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Acta Scientiarum: Agronomy*, Maringá, 25:1-5.

Tavares, A.R., Giampaoli, P., Kanashiro, S., Aguiar, F.F.A., Chu, E.P. (2008) Efeito da adubação foliar com KNO₃ na aclimatização de bromélia cultivada *in vitro*. *Horticultura Brasileira* 26:175-179.

Targino, I., Couto, A.I. (2007) Política de créditos e endividamento de trabalhadores assentados: o caso da Zona da Mata Paraibana. *emancipação*, 7: 135-164.

Teixeira, D.M.C., Nascimento, A.S. (1999) Redução do crescimento *in vitro* de batata-doce pela diminuição da disponibilidade de sacarose. *Boletim Técnico da Embrapa*, nº23.

Thompson, P.G., Hong, L.L., Ukoskit, K., Zhu, Z. (1997) Genetic linkage of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in sweet potato. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 122:79-82.

Torres, A.C., Ferreira, A.T., Sá, F.G., Buso, J.A., Caldas, L.S., Nascimento, A.S., Brígido, M.M., Romano, E. (2000) *Glossário de Biotecnologia Vegetal*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 128 p.

Valois, A.C.C., Nass, L.L., Góes, M. (2001) Conservação ex situ de recursos genéticos vegetais. In: Nass, L.L., Valois, A.C.C., Melo, I. S., Valadares-Inglis, M.C. *Recursos genéticos e melhoramento de plantas*. Rondonópolis, MT. Fundação MT. Cap 6, p. 123-149.

Veasey, E.A., Silva, J. R. Q. de., Rosa, M. S., Borges, A., Bressan, E.A. de, Peroni, N. (2007) Phenology and morphological diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces of the Vale do Ribeira. *Scientia Agrícola*, 64:416-427.

Veasey, E.A., Borges, A., Rosa, M.S., Silva, J.R.Q. de, Bressan, E.A. de, Peroni, N. (2008) Genetic diversity in Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Solanales, Convolvulaceae) landraces assessed with microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*, 31:725-733.

Vilas boas, B.M., Okumura, H.H., Maluf, W.R. (1999) Cultura da batata-doce. Boletim técnico de hortaliças. Lavras, n. 42, p.1-3. Disponível em: <http://www2.ufla.br/~wrmaluf/bth042/bth042.html>. Acesso em: 3 de agosto de 2008.

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.

Withers, L.A., Williams J.T. (1998) Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: Torres, C.A.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. (Ed). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa – SPI: Embrapa, CNPH, 1:297-329.

Wolfe, A.D., Xiang, Q-Y., Kephart, S.R. (1998) Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology*. 7:1107–1125.

Zee, F.T., Munekata, M. (1992) *In vitro* storage of pineapple (*Ananas* spp.) germplasm. *HortScience*, Alexandria, 27:57-58.

Zero. V.M., Lima, S.L.de. (2005) Manejo e Produtividade da batata-doce (*Ipomoea batatas*) no Município de Presidente Prudente – SP. *Energ. Agric.*, Botucatu, 20:94-117.

Zhang, D., Cervantes, J., Huamán, Z., Carey, E., Ghislain, M. (2000) Assessing genetic diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from tropical America using AFLP. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47:659-665.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994) Genome fingerprint by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20:176-183.

APÊNDICE

Tabela 1. Identificação dos acessos de batata-doce, com a respectiva numeração na coleção, nome comum, município de procedência, local de coleta, e valores de latitude e longitude dos pontos de coleta. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009.

Acesso	Nome comum	Procedência	Localidade	Latitude	Longitude
UENF 1917	Três meses	Campos dos Goytacazes	Bajuru	21°54'27.3"	41°02'30.2"
UENF 1918	Comum	Campos dos Goytacazes	Marrecas	21°57'04.9"	41°03'46.9"
UENF 1919	Comum	Campos dos Goytacazes	São Martinho	21°57'57.5"	41°14'34.8"
UENF 1920	Comum	Campos dos Goytacazes	Baixa Grande	21°57'08.5"	41°08'19.2"
UENF 1921	Rosa	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'06.1"	41°13'20.1"
UENF 1922	Branca	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'21.4"	41°13'12.2"
UENF 1923	Marron	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'21.4"	41°13'12.2"
UENF 1924	Comum	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'21.4"	41°13'12.2"
UENF 1925	Banha de Galinha	Campos dos Goytacazes	Campelo	21°39'01.7"	41°11'20.2"
UENF 1926	Comum	Campos dos Goytacazes	Campelo	21°39'01.7"	41°11'20.2"
UENF 1927	Comum	Espírito Santo	Rive	Desconhecida	Desconhecida
UENF 1928	Comum	Espírito Santo	Pedra Lisa	Desconhecida	Desconhecida
UENF 1929	Comum	Seropédica	Pesagro-Rio	22°45'28.4"	43°40'54.1 "
UENF 1930	Rosada	São João da Barra	Feira da roça da Record	21°46'30.8"	41°18'35.2"

Tabela 1, Cont.

UENF 1931	Comum	Campos dos Goytacazes	Feira da roça da Record	21°46'30.8"	41°18'35.2"
UENF 1932	Comum	São João da Barra	Feira da roça da UENF	21°45'41.2"	41°17'26.7"
UENF 1933	Comum	Campos dos Goytacazes	Supermercado Superbom	21°45'38.2"	41°18'15.7"
UENF 1934	Comum	Espírito Santo	Hortifruti Frutas e Cia	21°45'37.6"	41°18'23.1"
UENF 1935	Comum	São João da Barra	Mercado Municipal	21°45'29.3"	41°19'33.6"
UENF 1936	Comum	Campos dos Goytacazes	Hortifruti da Palmeira	21°46'07.3"	41°19'44.1"
UENF 1937	Comum	São João da Barra	Hortifruti João e Maria	21°46'31.6"	41°19'11.1"
UENF 1938	Comum	Cabo Frio	Supermercado ABC Compre Bem	21°46'11.3"	41°18'51.9"
UENF 1939	Comum	Cabo Frio	Supermercado Esperança	21°45'38.8"	41°19'41.5"
UENF 1940	Comum	Espírito Santo	Hortifruti Campos	21°44'23.6"	41°21'04.4"
UENF 1941	Comum	São João da Barra	Hortifruti das Palmeiras	21°44'56.7"	41°19'34.3"
UENF 1942	Comum	Espírito Santo	Supermercado Super Romão	21°43'25.5"	41°19'15.8"
UENF 1943	Comum	Espírito Santo	Hortifruti e Abatedouro Campos III	21°43'25.8"	41°18'37.8"
UENF 1944	Comum	Espírito Santo	Supermercado Top de Linha	21°42'58.4"	41°19'26.9"
UENF 1945	Comum	Espírito Santo	Supermercado Super Líder	21°35'59.4"	41°19'01.2"
UENF 1946	Comum	São João da Barra	Feira da roça da Rodoviária	21°45'43.2"	41°19'34.3"
UENF 1947	Comum	Espírito Santo	Feira da roça da Rodoviária	21°45'43.2"	41°19'34.3"

Tabela 1, Cont.

UENF 1948	Comum	São João da Barra	Feira da roça da EMATER	21°45'29.4"	41°20'25.6"
UENF 1949	Vermelha	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Che Guevara	21°57'05.1"	41°03'45.7"
UENF 1950	Penquinha	Campos dos Goytacazes	Azeitona	21°56'13.4"	41°00'24.0"
UENF 1951	Comum	Campos dos Goytacazes	Azeitona	21°56'31.1"	41°00'13.8"
UENF 1952	Vermelha	São João da Barra	Barra do Açú	21°56'00.0"	40°59'53.4"
UENF 1953	Três meses	São João da Barra	Barra do Açú	21°56'03.2"	40°59'28.0"
UENF 1954	Comum	Campos dos Goytacazes	Caboios	21°49'24.7"	41°17'45.2"
UENF 1955	Rosada	Campos dos Goytacazes	Tócos	21°54'31.8"	41°16'32.4"
UENF 1956	Branca	Campos dos Goytacazes	Marcelo	21°57'41.0"	41°14'17.7"
UENF 1957	Comum	Campos dos Goytacazes	Marcelo	21°57'58.2"	41°14'35.5"
UENF 1958	Roxa	Campos dos Goytacazes	Retiro	22°05'09.2"	41°10'09.7"
UENF 1959	Dr. Ney	Campos dos Goytacazes	Alto de Areia	22°05'00.7"	41°10'07.5"
UENF 1960	Rainha	Campos dos Goytacazes	Matutu	21°36'33.6"	41°18'59.2"
UENF 1961	Rainha	Campos dos Goytacazes	Matutu	21°38'26.4"	41°16'55.4"
UENF 1962	Comum	Campos dos Goytacazes	Caixeta	21°38'08.6"	41°16'32.3"
UENF 1963	Branca	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'06.1"	41°13'20.1"

Tabela 1, Cont.

UENF 1964	Rosada	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'06.1"	41°13'20.1"
UENF 1965	Penquinha	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'07.4"	41°13'23.4"
UENF 1966	Roxa	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'09.4"	41°13'23.4"
UENF 1967	Graúda	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°36'42.8"	41°13'11.4"
UENF 1968	Vermelha	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Zumbi IV	21°37'11.4"	41°14'15.7"
UENF 1969	Costa	São João da Barra	Rua Nova	21°43'48.1"	41°07'48.8"
UENF 1970	Penquinha	São João da Barra	Campo de Areia	21°54'28.8"	41°05'46.6"
UENF 1971	Vermelha	São João da Barra	Campo de Areia	21°53'53.9"	41°05'40.5"
UENF 1972	Rosada	São João da Barra	Campo de Areia	21°53'53.9"	41°05'40.5"
UENF 1973	Comum	Campos dos Goytacazes	Vila Nova de Campos	21°26'46.2"	41°23'59.9"
UENF 1974	Graúda	Campos dos Goytacazes	Vila Nova de Campos	21°25'17.8"	41°23'52.3"
UENF 1975	Comum	Campos dos Goytacazes	São Luiz de Mutuca	21°52'07.7"	41°06'15.3"
UENF 1976	Pele de jacaré	Campos dos Goytacazes	São Luiz de Mutuca	21°52'07.7"	41°06'15.3"
UENF 1977	Comum	Campos dos Goytacazes	São Luiz de Mutuca	21°23'01.0"	41°20'57.2"
UENF 1978	Vermelha	Campos dos Goytacazes	São Luiz de Mutuca	21°19'57.5"	41°17'09.6"

Tabela 1, Cont.

UENF 1979	Comum	Campos dos Goytacazes	São Luiz de Mutuca	21°19'58.8"	41°16'58.1"
UENF 1980	Comum	Campos dos Goytacazes	Morro do Coco	21°23'01.1"	41°20'57.2"
UENF 1981	Comum	Campos dos Goytacazes	Santo Eduardo	21°20'09.4"	41°23'08.9"
UENF 1982	Vermelha	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	21°19'56.4"	41°22'21.7"
UENF 1983	Comum	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	21°19'56.4"	41°22'21.7"
UENF 1984	Rosada	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	21°46'06.2"	41°27'51.4"
UENF 1985	Comum	Campos dos Goytacazes	Projeto de Assentamento Antônio de Faria	21°46'06.2"	41°27'51.4"
UENF 1986	Rainha	Campos dos Goytacazes	Guriri	21°53'39.7"	41°27'55.8"
UENF 1987	Rosada	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°58'43.6"	41°29'42.2"
UENF 1988	Comum	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°58'43.6"	41°29'42.2"
UENF 1989	Rosada	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°58'28.8"	41°29'19.0"
UENF 1990	Comum	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°58'28.8"	41°29'19.0"
UENF 1991	Comum	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°50'25.6"	41°25'39.1"
UENF 1992	Comum	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°50'26.4"	41°25'39.1"

Tabela 1, Cont.

UENF 1993	Comum	Campos dos Goytacazes	Dores de Macabu	21°50'28.3"	41°25'42.6"
UENF 1994	'Princesa'	Brasília	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida
UENF 1995	'Brazlândia Roxa'	Brasília	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida
UENF 1996	'Brazlândia Branca'	Brasília	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida
UENF 1997	'Brazlândia Rosada'	Brasília	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida
UENF 1998	Salsinha da praia	São João da Barra	Barra do Açu	21°38'25.3"	41°03'04.2"

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)