



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
MESTRADO EM FITOTECNIA**

LAURA RAISSA FAGUNDES COSTA BEZERRA

**VARIABILIDADE EM GERMOPLASMAS DE BUCHA VEGETAL POR
DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MOLECULAR**

MOSSORÓ

2024

LAURA RAISSA FAGUNDES COSTA BEZERRA

**VARIABILIDADE EM GERMOPLASMAS DE BUCHA VEGETAL POR
DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Práticas Culturais

Orientador: Aurélio Paes Barros Júnior, Prof. Dr.

Co-orientador: Lindomar Maria da Silveira, Prof^a. Dra.

MOSSORÓ

2024

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

BB574 Bezerra, Laura Raissa Fagundes Costa.

v Variabilidade em germoplasmas de bucha vegetal por descritores morfológicos e molecular / Laura Raissa Fagundes Costa Bezerra. - 2024.

50 f. : il.

Orientador: Aurélio Paes Barros Júnior .

Coorientadora: Lindomar Maria da Silveira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal

Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2024.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).

Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

LAURA RAISSA FAGUNDES COSTA BEZERRA

**VARIABILIDADE EM GERMOPLASMAS DE BUCHA VEGETAL POR
DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Práticas Culturais

Defendida em: 22/Março/2024.

BANCA EXAMINADORA

Aurélio Paes Barros Júnior, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente

Lindomar Maria da Silveira, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

Ioná Santos Araújo Holanda, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

Rayanne Maria Paula Ribeiro, Prof. Dr. (CENTEC)
Membro Examinador

Edicleide Macedo da Silva, Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar oportunidade de chegar aonde cheguei na caminhada acadêmica, e por me dar coragem, determinação e sabedoria para trilhar esse caminho até aqui;

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e ao Programa de Pós Graduação em Fitotecnia (PPGFITO), pela estrutura e oportunidades oferecidas durante o período do mestrado;

À CAPES, pela concessão da bolsa e apoio à pesquisa;

À minha família, em especial a minha mãe Rozineide, meu pai Luciano por todo o ensinamento, por sempre fazerem de tudo para nos proporcionar o melhor possível, pelo apoio, incentivo e por estarem junto comigo ao longo de toda a minha jornada acadêmica, sendo sempre os meus alicerces;

Às minhas irmãs Larissa e Letícia, por estarem sempre comigo, por me acompanharem para ligar o sistema de irrigação aos fins de semana e por estarem sempre disponíveis para me ajudar quando preciso fosse;

Ao meu esposo, Rubens, pelo companheirismo e apoio em todos os momentos e por sempre acreditar em mim e me incentivar;

Ao meu orientador, Professor Dr. Aurélio Paes Barros Júnior, pela disponibilidade em ajudar, por toda a contribuição no trabalho e por ser um grande profissional;

À minha coorientadora, Professora Dr. Lindomar Maria da Silveira, por toda a atenção prestada desde a graduação até aqui, por estar sempre disponível para atender e ajudar no que for preciso da melhor forma.

Ao Professor Dr. Glauber Henrique de Sousa Nunes, pela atenção, paciência, realização e ajuda prestada em relação à estatística do trabalho;

Ao Grupo de Estudos e Pesquisa em Produção Agrícola e Recursos Genéticos e Vegetais (GEPPARG), do qual faço parte, pelo apoio prestado;

À professora Dra. Ioná Santos Araújo Holanda e ao grupo de pesquisa do Laboratório de Biotecnologia Vegetal por toda a orientação e auxílio prestado nas análises moleculares, essenciais para a condução desta etapa do trabalho. Agradecimento especial a Maria de Fátima, Isma, Karem e Deyse, sempre presentes e dispostas a ajudar no que fosse necessário e ao seu orientador, Thalisson, pela realização e ajuda na estatística desta parte do trabalho;

Aos servidores da Horta Didática, pela ajuda durante o experimento de campo, em especial ao Sr. Naná e Josimar, por sempre nos receberem da melhor forma;

Por fim, agradeço a cada um que de forma direta ou indireta contribuíram para a minha formação.

RESUMO

A *Luffa cylindrica* (L.) Roem., também conhecida como esponja vegetal ou bucha, tem origem na Ásia e é amplamente distribuída nos trópicos e subtropicais. Embora tenha significativa importância comercial, as informações disponíveis sobre sua variabilidade genética e suas propriedades no Brasil são limitadas, evidenciando a necessidade de expandir os estudos de mensuração de variabilidade, favorecendo a exploração do seu potencial nas diversas áreas de uso. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar morfológicamente 13 acessos e molecularmente 24 acessos de bucha vegetal da coleção de germoplasma de cucurbitáceas do Centro de Ciências agrárias/Universidade Federal Rural do Semiárido, por meio de descritores morfológicos e marcadores *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). O experimento para caracterização morfológica foi conduzido na horta didática da UFERSA, em espaldeiras, com 2,0m entre linhas e 4,20m entre plantas. Foram mensurados descritores de frutos e fibras (15 morfológicos, sete qualitativos e oito quantitativos). Para caracterização molecular, o DNA foi extraído pelo método CTAB a partir de folhas frescas das plantas, e as amostras foram amplificadas via PCR, utilizando 23 iniciadores ISSR. Os dados obtidos a nível morfológico e molecular resultaram em diferentes configurações de agrupamento, com ampla variabilidade genética entre eles. Com relação aos descritores morfológicos quantitativos e qualitativos, os resultados mostram que os acessos são fenotipicamente diferentes em relação às características apresentadas pelos frutos e fibras. Existe correlação positiva entre as variáveis massa da fibra, diâmetro medial do fruto, circunferência basal, circunferência medial, circunferência apical, espessura mínima da fibra, espessura máxima da fibra, comprimento do fruto. A circunferência medial do fruto (26,7%) foi o que mais contribuiu para a divergência encontrada. Com relação aos dados moleculares, foram amplificadas 103 bandas, sendo 80% destas polimórficas, e o conteúdo de informação polimórfica apresentou média de 0,28, sendo classificados como medianamente informativos. A técnica molecular foi eficiente para estimar a variabilidade genética entre os acessos, com correlação cofenética de 0,774. Os acessos foram considerados distintos, o que indica que a coleção de germoplasma de cucurbitácea do CCA/UFERSA detém genótipos de bucha vegetal com expressiva diversidade genética.

Palavras-chave: *Luffa cylindrica*; Genética; Melhoramento; Potencialidades.

ABSTRACT

Luffa cylindrica (L.) Roem., also known as vegetable sponge or loofah, originates in Asia and is widely distributed in the tropics and subtropics. Although it has significant commercial importance, the information available about its genetic variability and its properties in Brazil is limited, making it clear that there is a need to expand studies measuring variability, favoring the exploration of its potential in different areas of use. Thus, the objective of the present work was to characterize morphologically 13 accessions and molecularly 24 *Luffa* accessions from the cucurbit germplasm collection of the Center for Agricultural Sciences/Universidade Federal Rural do Semiárido, through morphological descriptors and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. The experiment for morphological characterization was conducted in the UFERSA teaching garden, in espaliers, with 2.0m between rows and 4.20m between plants. Fruit and fiber descriptors were measured (15 morphological, 07 qualitative and 08 quantitative). For molecular characterization, DNA were extracted by the CTAB method from fresh plant leaves, and the samples were amplified via PCR, using 23 ISSR primers. The data obtained at the morphological and molecular level resulted in different grouping configurations, with wide genetic variability between them. Regarding quantitative and qualitative morphological descriptors, the results show that the accessions are phenotypically different in relation to the characteristics presented by the fruits and fibers. There is a positive correlation between the variables fiber mass, medial diameter of the fruit, basal circumference, medial circumference, apical circumference, minimum fiber thickness, maximum fiber thickness, and fruit length. The medial circumference of the fruit (26.7%) was what most contributed to the divergence found. Regarding molecular data, 103 bands were amplified, 80% of which were polymorphic, and the polymorphic information content presented an average of 0.28, being classified as moderately informative. The molecular technique was efficient in estimating genetic variability between accessions, with a cophenetic correlation of 0.774. The accessions were considered distinct, which indicates that the CCA/UFERSA cucurbit germplasm collection contains loofah genotypes with significant genetic diversity.

Keywords: *Luffa cylindrica*; Genetics; Breeding; Potentialities.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Caracterização dos frutos quanto ao seu formato apical, formato basal e sua forma, extraído do “Descriptors for Sponge Gourd [<i>Luffa cylindrica</i> (L.) Roem.]”, conforme sugestão de Joshi <i>et al.</i> (2004).....	24
Figura 2. Quantificação do DNA dos 24 acessos de <i>Luffa</i> spp. visualizados em fotodocumentador.....	26
Figura 3. Teste preliminar utilizando os 28 primer ISSR com o DNA do Acesso 20. M= marcador de peso.	28
Figura 4. Diferença morfológica entre os frutos coletados dos diferentes acessos. Foto: Arquivo próprio, 2023.....	32
Figura 5. Variação entre os caracteres casca do fruto (a) e forma do fruto (b) observada nos diferentes acessos. Fonte: Arquivo próprio, 2023.	32
Figura 6. Dendrograma UPGMA a partir da matriz de distâncias euclidianas obtidas de variáveis morfológicas qualitativas avaliadas em acessos de bucha. (Correlação cofenética = 0,71, $p < 0,05$).....	33
Figura 7. Dendrograma UPGMA a partir da matriz de distâncias euclidianas obtidas de variáveis morfológicas quantitativas avaliadas em acessos de bucha. (Correlação cofenética = 0,92, $p < 0,05$).....	35
Figura 8. Correlações entre oito variáveis morfológicas medidas em acessos de bucha.	36
Figura 9. Contribuição das oito variáveis morfológicas medidas em acessos de bucha para os dois primeiros componentes principais.	37
Figura 10. Distribuição de acessos de bucha em função dos dois primeiros componentes principais obtidos partir de variáveis morfológicas.....	37
Figura 11. Contribuição das oito variáveis morfológicas medidas em acessos de bucha para a divergência genética.	38
Figura 12. Gel de agarose 2% demonstrando os produtos da amplificação da PCR com 24 acessos de bucha vegetal utilizando o marcador UBC-866. M= Marcador 100 pb (DNA Ladder Plus).....	39
Figura 13. Dendrograma obtido pelo método UPGMA e complemento aritmético do índice de Jaccard como média de similaridade, em 24 acessos de bucha vegetal com base em 21 primers ISSR. Ponto de corte = 0,66%.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Acessos de bucha vegetal <i>Luffa</i> spp. caracterizados morfológica e molecularmente.	22
Tabela 2. Lista dos descritores quantitativos e qualitativos de fruto de bucha vegetal.	23
Tabela 3. Primers ISSR polimórficos com suas respectivas sequências de bases.	26
Tabela 4. Características qualitativas do fruto (5 por acesso) e da fibra avaliadas em acessos de buchas.	30
Tabela 5. Médias das características quantitativas do fruto e da fibra avaliadas em acessos de bucha vegetal.	34
Tabela 6. Primers ISSR utilizados, número total de fragmentos amplificados (NTF), número de fragmentos polimórficos (NFP), porcentagem de polimorfismo (%P), índice de conteúdo polimórfico (PIC), relação múltipla efetiva (EMR) e índice do marcador (MI).	39
Tabela 7. Similaridade genética entre os quatro pares de acessos de bucha vegetal que apresentam menor distância genética.	40
Tabela 8. Similaridade genética entre os quatro pares de acessos de bucha vegetal que apresentam maior distância genética.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%P	Porcentagem de polimorfismo
AMOVA	Análise de variância molecular
BSA	Albumina sérica bovina
CAF	Circunferência apical do fruto
CBF	Circunferência Basal do fruto
CCC	Coefficiente de correlação cofenética
CE	Ceará
CF	Casca do fruto
CIA	Clorofórmio-álcool-isoamílico
CMF	Circunferência medial do fruto
CNF	Cor natural da fibra
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
DMF	Diâmetro medial do fruto
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	desoxirribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido etileno diamono tetracético
EMR	Relação múltipla efetica
ENF	Espessura mínima da fibra
EXF	Espessura máxima da fibra
FA	Formato apical do fruto
FB	Formato basal do fruto
FF	Forma do fruto
HCL	Ácido clorídrico
ISSR	<i>Inter Simple Sequence Repeat</i>
L	<i>Luffa</i>
LabBV	Laboratório de biotecnologia vegetal
M	Marcador
MF	Maciez da fibra
MI	Índice do marcador
MSF	Massa da fibra
NF	Número de fragmentos
NFP	Número de fragmentos polimórficos
pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PE	Pernambuco
pH	Potencial hidrogeniônico
PIC	Índice de conteúdo polimórfico
PVP	Polovinilpirrolidona
RN	Rio Grande do Norte
RNAse	Ribonuclease
TF	Tipo de fruto
UPGMA	<i>Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages</i>
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

Cm	Centímetro
m	Metro
g	Gramma
mL	Mililitro
μL	Microlitro
°C	Celcius
mM	Milimolar
ng	Nanograma
p/v	Peso por volume
μg	Micrograma
μ	Micro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Aspectos botânicos e agronômicos da bucha	17
2.2 Importância e utilização da bucha	18
2.3 Diversidade genética e caracterização morfológica	20
2.4 Marcadores moleculares ISSR	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Origem dos acessos	22
3.2 Caracterização morfológica	23
3.3 Caracterização molecular	25
3.3.1 Extração de DNA	25
3.3.2 Seleção de <i>primers</i> ISSR e reação de amplificação via PCR.....	26
3.4 Análises estatísticas	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Morfológicos	30
4.2 Molecular	38
5 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

A *Luffa cylindrica* (L.) Roem., comumente denominada bucha, pertence à família cucurbitaceae, mesma do pepino, abóbora, melão, dentre outras. A sua origem é apontada nas regiões tropicais da Ásia e dispersa em vários territórios. É uma espécie alógama, domesticada, muito distribuída nos trópicos e subtropicais como planta cultivada e naturalizada (Snafi, 2019). É bastante cultivada na Ásia, Índia, Brasil e EUA. No Brasil, é observada variabilidade de espécies em seu território (Bisogni, 2002; Azeez *et al.*, 2013).

É uma planta subtropical bastante exigente em temperatura com desenvolvimento pleno entre 20 e 30°C, e luz de no mínimo oito horas por dia. Seu cultivo necessita de baixo nível tecnológico, além da sua rusticidade a condições edafoclimáticas, dispensando a utilização de fertilizantes e defensivos. Geralmente suas plantas são conduzidas em forma de caramanchão ou latada, sendo a etapa que mais sobrecarrega os custos de produção (Ferreira *et al.*, 2010; Da Eira Aguiar *et al.*, 2014; Blind, 2016).

A cultura da bucha é amplamente cultivada por agricultores familiares em pequenas propriedades, devido à sua facilidade de cultivo, desempenhando importante papel socioeconômico para essas comunidades. Além de manter as famílias no campo, ela contribui significativamente para a geração de emprego e renda nas áreas rurais (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014).

Os frutos da bucha são do tipo baga, fibrosos, lisos, com formato cilíndrico, grossos e alongados, com coloração geralmente amarelo pálido quando maduro, com variações de acordo com o genótipo. Sua fibra é composta de um material lignocelulósico, constituída por 60% de celulose, 30% de hemicelulose e 10% de lignina (Mazali *et al.*, 2005; Oboh *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2010; Blind, 2016). Sua esponja fibrosa é muito utilizada na indústria por ser um material natural, biodegradável e atóxico, quando tratado, além de oferecer baixo custo de produção (Davis, 1994; Siqueira *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2012; Azeez *et al.*, 2013). Vale ressaltar que os dados apresentados são referentes a um número limitado de genótipos, podendo-se inferir que, com base na variabilidade já descrita para a espécie, pode ocorrer variação de qualidade dessa esponja.

Vários estudos apontam a utilização das fibras da bucha para diversas aplicações, como higiene corporal, limpeza doméstica (Ferreira *et al.*, 2012; Blind, 2016; Blind *et al.*, 2018); artesanato, palmilhas de calçado (Blind, 2016; Blind *et al.*, 2018); produtos farmacêuticos e dermocosméticos, com constituintes antioxidantes, antifúngicos e

antibacterianos (Devi *et al.*, 2009; Partap *et al.*, 2012; Azeez *et al.*, 2013.); isolamento térmico, mecânico e acústico de ambientes (Oliveira; Teodoro, 2005); filtro de óleo, embalagens, materiais de enchimento (Mazali *et al.*, 2005); estofamento automotivo e industrial (Costa, 2018); adesão e compatibilidade com polímeros, absorção de metais pesados (Paula, 2022); além do uso da planta como porta enxerto (Galatti *et al.*, 2013; Ito *et al.*, 2014), dentre outros (Oboh *et al.*, 2009). O uso mais comum da bucha vegetal produzida no Brasil é como esponja de banho (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014).

Apesar da sua significativa importância comercial, uma das limitações para explorar novas utilizações e potencialidades da fibra natural da bucha é a escassez de dados relacionados à diversidade genética da cultura, suas estruturas e propriedades. A falta de informações abrangentes sobre esses aspectos dificulta a realização de pesquisas e o desenvolvimento de novas aplicações para essa fibra. Portanto, investimentos em estudos genéticos e análises das características da bucha podem abrir caminho para uma utilização mais ampla e eficiente desse recurso natural (Blind, 2016).

De acordo com Nass (2007), o conhecimento da variabilidade genética de espécies e de como ela se apresenta é fundamental para que se possa fazer uso destas de forma racional e sustentável. Atualmente existem diversas técnicas da biologia molecular que são utilizadas com o objetivo de identificar a variabilidade genética de indivíduos ou grupos de indivíduos em nível de DNA. Os marcadores moleculares têm sido bastante utilizados em programas de melhoramento, pois são capazes de distinguir a divergência genética, gerando grande quantidade de informações, de diferentes indivíduos, de forma fiel (Bered *et al.*, 1997; Ferreira; Grattapaglia, 1996; Faleiro, 2007; Zhang *et al.*, 2008).

A caracterização morfológica, juntamente com a molecular, proporciona amplo conhecimento genético, ajudando na escolha de indivíduos ou populações com características desejáveis para determinada finalidade (Fonseca *et al.*, 1992). A bucha apresenta diversidade genética entre as espécies e dentro das próprias espécies, o que pode ser explicado com base em sua característica de planta alógama com poucos trabalhos de seleção e melhoramento. A caracterização de acessos de bucha em bancos de germoplasma oferece informações úteis, como exemplares com diferentes potenciais e aplicações para a indústria ou genes de interesse para subsidiar pesquisas de melhoramento genético para a cultura, abrindo novas oportunidades comerciais e contribuindo para uma utilização mais eficiente.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar morfológicamente 13 acessos e molecularmente 24 acessos de bucha vegetal da coleção de germoplasma de cucurbitáceas do CCA/UFERSA.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos botânicos e agronômicos da bucha

O gênero *Luffa* é composto por sete espécies: *L. echinata* Roxb., *L. acutângula*., *L. aegyptiaca*., *L. graveolens* Roxb., *L. quinquefida* (Hook. & Arn.) Seem., *L. operculata* (L.) Cogn., e *L. astorii* Svens. (Bisognin, 2002). Dentre as espécies citadas, a *Luffa Cylindrica* (L.) Roem, que possui sinonímia botânica com a *Luffa aegyptiaca* Mill (Partap *et al.*, 2012; Bisognin, 2002), se destaca por sua ampla utilização. É uma espécie alógama, domesticada, muito distribuída nos trópicos e subtropicais como planta cultivada e naturalizada (Snafi, 2019).

A origem mais aceita é asiática, mais precisamente na Índia, embora ocorra de forma selvagem na África (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014). De acordo com Blind (2016; 2019), a bucha (*L. Cylindrica*) atualmente encontra-se dispersa no mundo todo com grande variabilidade genética. No Brasil, seu surgimento ocorreu após a colonização dos portugueses, sendo conhecida em todas as regiões, com grande variabilidade morfoagronômica da espécie, além de ser comum sua ocorrência como planta invasora. Pertence à família das cucurbitáceas, mesma família do pepino, melão, melancia, dentre outras.

Suas folhas são palmadas e alternadas, com 13 cm de comprimento e 30 cm de largura; pecíolo com 5 a 15 cm de comprimento; caule angular, fino e peludo; sistema radicular muito ramificado e superficial; flores amarelas brilhantes, monoicas, com inflorescência de flor macho racemosa e flores femininas na mesma axila da masculina. As sementes possuem coloração branca e preta, com formato elipsoides e achatadas (Snafi, 2019; Oboh; Aluyor, 2019).

Os frutos da bucha são do tipo baga, fibrosos, lisos, com formato cilíndrico, grossos e alongados, com coloração geralmente amarelo pálido quando maduro, com variações de acordo com o genótipo. Sua fibra é composta por 60% de celulose, 30% de hemicelulose e 10% de lignina (Ferreira *et al.*, 2010; Blind, 2016).

Da semente até a primeira colheita, compreende-se 120 dias em média, podendo viver até três anos, entretanto, em cultivo comercial o ideal é explorar por dez meses sem que ocorram perdas significativas de produção (Ferreira *et al.*, 2010; Blind, 2016).

O cultivo da bucha necessita de baixo nível tecnológico a ser aplicado, além de ser uma cultura de fácil cultivo devido à sua rusticidade a condições edafoclimáticas, dispensando a utilização de fertilizantes e defensivos. Geralmente suas plantas são conduzidas em forma

de caramanchão ou latada, sendo a etapa que mais sobrecarrega os custos de produção.

É uma planta subtropical bastante exigente em temperatura, com desenvolvimento pleno entre 20 e 30°C, e luz de no mínimo oito horas por dia. É um vegetal de temporada de verão. Sua exigência por água é maior nos primeiros estádios de desenvolvimento, pois suas raízes são superficiais com armazenamento de água quase nulo. No sudeste brasileiro é comum seu plantio entre setembro e outubro, pois coincide com o começo das chuvas e aumento das temperaturas (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014; Blind, 2016; Ferreira *et al.*, 2010).

2.2 Importância e utilização da bucha

A bucha tem grande importância socioeconômica, pois é um produto típico da agricultura familiar, cultivado em pequenas áreas devido à sua facilidade de cultivo e rusticidade, contribuindo para a permanência do homem no campo, gerando emprego, renda e destacando a atividade feminina (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014; Carmo *et al.*, 2007).

No Brasil, a bucha teve papel significativo na década de 1960. Contudo, com a introdução de produtos derivados do petróleo, como as esponjas sintéticas, que eram menos onerosas, menos perecíveis, porém difíceis de degradar, a bucha perdeu sua relevância (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014). Foi somente no fim do século XX que o Brasil começou a adotar uma abordagem mais sustentável em um cenário de consciência ecológica, e devido à sua natureza natural e biodegradável, a bucha recuperou seu valor econômico. De acordo com Oboh; Aluyor, (2009) é crescente a substituição de produtos sintéticos, sobretudo os derivados de petróleo, por produtos naturais, devido aos pensamentos ambientais e sustentáveis do mundo.

As fibras do fruto da bucha, por serem naturais, biodegradáveis e atóxicas quando tratadas, apresentam potencial de utilização na área industrial, medicinal ou do agroturismo, como confecção de artesanato, devido a fatores como alta área superficial por volume, estrutura forte e durável e baixa gravidade específica. A utilização da bucha para finalidade doméstica, dermocosmética e industrial da sua fibra é comprovada por vários estudos (Carmo *et al.*, 2007; Oboh *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2010; Da Eira Aguiar *et al.*, 2014).

O uso mais comum da bucha vegetal produzida no Brasil é como esponja de banho (Da Eira Aguiar *et al.*, 2014). De acordo com Davis e colaboradores (1993), citado por Siqueira e colaboradores (2010), um dos principais mercados da bucha é para a indústria cosmética, sendo usada em produtos como sabonetes e esfoliantes, bem como para cuidados com a pele, como é citado por Davis (1994), que diz que nos EUA a demanda para esta finalidade tem aumentado.

As plantas geralmente produzem alguns metabólitos secundários, que são usados em produtos farmacêuticos, aromatizantes, agroquímicos, e na medicina tradicional à base de plantas, denominada fitoterapia, que é base de 75-80% da população quando se fala de cuidados primários com a saúde, pois culturalmente é um tratamento de melhor aceitação, com menores efeitos colaterais ao corpo humano (Parpat *et al.*, 2012).

As folhas, frutos e flores da *Luffa cylindrica* são bastante utilizadas como plantas medicinais. A planta é usada tradicionalmente para o tratamento de asma, vermes intestinais, inflamação, sinusite, dentre outras finalidades (Parpat *et al.*, 2012). As sementes e a esponja dos frutos mais velhos são bastante utilizadas na medicina chinesa tradicional como medicamento fitoterápico, anti-reumático, estomacal e antipirético (DU *et al.*, 2006).

Snafi em 2019 discutiu os constituintes químicos, os efeitos farmacológicos e a importância terapêutica da *Luffa cylindrica*. Seu estudo fitoquímico revelou que a planta continha antocianinas, glicosídeos, flavonoides, triterpenoides, glicosídeos cardíacos, saponinas, carboidratos, proteínas, alcaloides e taninos. Além disso, o estudo farmacológico revelou que a planta possui ação anti-inflamatória, analgésica, antipirética, hipoglicemiante, antibacteriana, antifúngica, antiviral, anti-helmíntica, antioxidante, anticancerígena, hepatoprotetora, antiemética, cicatrizante, imunológica, broncodilatadora, efeito reprodutivo e no tratamento de catarata. Segundo Azeez *et al.* (2013), a semente da *Luffa* contém uma proteína inativadora de ribossomos denominada luffin, que se mostrou eficiente contra o crescimento de parasitas, protozoários, insetos, fungos e até mesmo HIV.

A bucha consumida como hortaliça é comum nas regiões subtropicais da Ásia, onde o vegetal é descascado para consumo *in natura* (Du *et al.*, 2006). Os frutos verdes são consumidos cozidos. Das sementes pode-se extrair óleo comestível que também apresenta propriedades medicinais antifúngicas e antibacterianas. Além disso, também é bastante consumida torrada, como aperitivo (Blind, 2016; Da Eira Aguiar *et al.*, 2014).

Alguns estudos foram realizados utilizando a *luffa cylindrica* como porta-enxerto para cucurbitáceas, apresentando resultados satisfatórios. De acordo com Ito (2012) e Ito e colaboradores (2014), em experimento utilizando a bucha como porta-enxerto para pragas que atacam a cultura do melão, a *Luffa cylindrica* é indicada como porta-enxerto para o controle de *Meloidogyne javanica*. Por sua vez, Galatti *et al.* (2013), também em experimento com porta-enxerto para o melão, viram que a *Luffa cylindrica* é considerada resistente a *Meloidogyne incognita*. Os nematoides do grupo *meloidogyne* são espécies de nematoides de galhas que atacam a cultura do meloeiro e provocam ruptura das células do sistema radicular, prejudicando a produção e desenvolvimento da cultura.

Em estudo realizado por Pérez Bejerano *et al.* (2010), a bucha vegetal utilizada como escova de dente para remoção de placa supragengival apresentou a mesma eficiência que produtos convencionais com a mesma finalidade, se tornando uma boa opção biodegradável ‘ecologicamente correta’.

Além disso, as plantas de bucha podem ser utilizadas na produção de produtos artesanais ou industriais, como artigos decorativos, tapetes, luminárias, sandálias, bolsas, forros à prova de som, estofamento de banco automotivo, enchimento de travesseiro, substituir a espuma no derramamento de óleo, adubo, matéria prima para o biodiesel, além da sua ampla aplicação em meio de embalagens (Da Silva *et al.*, 2007; Azeez *et al.*, 2013; Da Eira Aguiar *et al.*, 2014; Snafi, 2019).

Diante dos diferentes potenciais de utilização, nota-se a necessidade de identificação de genótipos e do conhecimento de suas características específicas, permitindo sua utilização no meio industrial e em programas de melhoramento e garantindo uso mais eficiente da espécie. A qualidade e durabilidade de fibra da bucha contribuem para uma elevada demanda no setor industrial. Uma das limitações para se encontrar novas utilizações e potencialidade para a fibra natural da bucha é a escassez de dados relacionados à diversidade genética da cultura, suas estruturas e propriedades (Blind, 2016).

2.3 Diversidade genética e caracterização morfológica

De acordo com Nass (2007), o conhecimento da variabilidade genética de espécies e de como ela se apresenta é fundamental para que se possa fazer uso destas de forma racional e sustentável. A bucha apresenta grande diversidade genética entre as espécies e dentro das próprias espécies, o que pode ser explicado porque é uma planta alógama com poucos trabalhos de seleção e melhoramento (Ferreira *et al.*, 2010).

Devido à falta de informações referentes às culturas agrônômicas em um banco de germoplasma, ocorre uma limitação do uso destes materiais, de tal forma que a caracterização é uma etapa fundamental para viabilizar o germoplasma e favorecer sua utilização em programas de melhoramento (Silva, 2010).

A caracterização dos acessos permite a definição dos fenótipos por meio de descritores quantitativos e qualitativos, que são características que permitem identificar e diferenciar os acessos (Silva, 2010).

A caracterização morfológica, juntamente com a molecular, proporciona melhor conhecimento dos recursos genéticos, favorecendo a seleção de indivíduos ou grupos de indivíduos que apresentam características desejáveis para determinadas utilidades (Fonseca;

Ribeiro, 1992).

A exploração comercial da bucha pode ser mais favorável quando se conhece melhor sua variabilidade, permitindo classificação de acordo com relações de parentesco, além de amostras com potencial para agroindústria e fontes de genes de interesse para programas de melhoramento.

2.4 Marcadores moleculares ISSR

A caracterização molecular permite a avaliação de grande número de acessos, em pouco tempo, sem sofrer ação do meio ambiente (Silva *et al.*, 2012). Atualmente diversas técnicas da biologia molecular são utilizadas com o objetivo de identificar a variabilidade genética de indivíduos ou grupo de indivíduos em nível de DNA (Ferreira; Grattapaglia, 1996; Bered *et al.*, 1997; Faleiro, 2007).

Entre os principais marcadores moleculares utilizados para detectar polimorfismo genético está o ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), que é baseado em PCR (Reação em cadeia de polimerase) e se mostra eficiente para a caracterização de genomas complexos, se destacando devido a características como alta eficiência na detecção de polimorfismo, reprodutibilidade e rapidez na obtenção dos resultados (Silva, 2010).

A reação de PCR utilizando os marcadores moleculares ISSR é uma técnica de baixo custo, simples, rápida e eficiente, que não requer o conhecimento prévio da sequência de DNA para a construção do primer, além de gerar grande número de bandas informativas por reação. Utiliza iniciadores longos com 16 a 25 pares de base, capazes de reconhecer vários *loci* no genoma para amplificar, em uma só reação de PCR (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Faleiro, 2007).

Levi *et al.* (2004), em experimento com variedades americanas de melancia, perceberam que os marcadores ISSR e AFLP foram mais informativos do que os RAPD quando utilizados para diferenciação das cultivares de melancia.

Os marcadores moleculares *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) são regiões genômicas de 100 a 3000 pb amplificadas via PCR. Estes se baseiam em sequências de microssatélites e amplificam sequências que estão internamente a estas. Estes marcadores permitem a identificação de ampla variabilidade intra e interespecíficas, com elevado grau de polimorfismo e baixo custo (Faleiro, 2007; Lorenzoni *et al.*, 2014; LEMOS *et al.*, 2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Origem dos acessos

Foram caracterizados 24 acessos de bucha vegetal da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Departamento de Ciências Agrônômicas e Florestais CCA/UFERSA (Tabela 1).

Tabela 1. Acessos de bucha vegetal *Luffa spp.* caracterizados morfológica e molecularmente.

Acesso ¹	Data de Coleta	Local da Coleta
A1	- ²	Mossoró/RN
A2	Dez/2015	Mossoró/RN
A5	Nov/2012	Governador Dix-Sept Rosado/RN
A6	-	Mossoró/RN
A7	Fev/2012	Petrolina/PE
A8	Set/2012	Mossoró/RN
A9	Fev/2012	Santa Maria da Boa Vista/PE
A10	Out/2012	Apodi/RN
A11	Out/2013	Mon Senhor Tabosa/CE
A12	Out/2012	Apodi/RN
A13	Nov/2012	São José do Belmonte/PE
A14	Set/2013	Oroco/PE
A16	Jan/2010	Apodi/RN
A18	Out/2006	Mossoró/RN
A19	-	Apodi/RN
A20	Out/2008	Mossoró/RN
A21	Out/2006	Mossoró/RN
A22	2010	Apodi/RN
A23	2010	Apodi/RN
A25	Out/2008	Mossoró/RN
A26	Out/2008	Mossoró/RN
A27	-	Serra Talhada/PE

¹ Número dos acessos faz referência à identificação original no Banco de Germoplasmas.

² Data de coleta desconhecida.

A31	-	Apodi/RN
A32	Dez/2014	Serra Talhada/PE

Fonte: A autora (2024).

Foi feita a separação de 20 sementes de cada um dos acessos e realizada a superação de dormência das sementes antes de semeá-las, fazendo um pequeno corte do lado oposto ao hilo, para favorecer absorção de água. As sementes dos acessos foram semeadas em bandejas de polietileno, uma semente por célula, totalizando 20 sementes por acesso.

As mudas foram transplantadas para campo após o surgimento da segunda folha definitiva. O experimento foi instalado e conduzido na Horta didática do Departamento de Ciências Agrônômicas e Florestais do CCA/UFERSA. Foram plantadas 24 linhas com cinco plantas, sendo um acesso por linha. As plantas foram conduzidas em espaldeiras com o espaçamento de 2,00 m entre linhas e 4,20 m entre plantas.

A irrigação foi realizada por gotejamento, uma a duas vezes ao dia, a depender da umidade presente no solo. A colheita foi realizada 140 dias após o transplântio, com os frutos secos. As plantas que não foram transplantadas para campo foram conduzidas em vasos para posterior extração de DNA das suas folhas.

3.2 Caracterização morfológica

Após a colheita dos frutos secos dos 13 acessos que frutificaram, foram mensurados os seguintes descritores de fruto e fibras (Tabela 2), sendo sete qualitativos e oito quantitativos (Joshi *et al.*, 2004; Ferreira *et al.* 2010). Foram caracterizados até cinco frutos por acesso, um de cada planta.

Tabela 2. Lista dos descritores quantitativos e qualitativos de fruto de bucha vegetal.

Descritores	Escala avaliada			
Tipo do fruto	Cilíndrico	Achatado	Triangular	-
Casca do fruto	Liso	Rugoso	Deprimido	-
Formato apical do fruto	Deprimido	Pontudo	Oval	-
Formato basal do fruto	Deprimido	Pontudo	Oval	-
Forma do fruto	Alongado	Piriforme	Redondo	Elipsoide
Cor natural da fibra	Cristalina	Creme	Amarela	-
Maciez da fibra	muito dura	Dura	Macia	Muito macia

Diâmetro do fruto (cm)	-	-	-	-
Comprimento do fruto (cm)	-	-	-	-
Circunferência apical do fruto (cm)	-	-	-	-
Circunferência medial do fruto (cm)	-	-	-	-
Circunferência basal do fruto (cm)	-	-	-	-
Massa seca da fibra do fruto (g)	-	-	-	-
Espessuras mínima da fibra (cm)	-	-	-	-
Espessura máxima da fibra (cm)	-	-	-	-

Fonte: Joshi *et al* (2004)

Para a caracterização das variáveis qualitativas, procedeu-se à análise visual (Blind, 2016; Joshi *et al.*, 2004). Para as variáveis quantitativas, utilizou-se paquímetro e fita métrica para mensuração da circunferência, diâmetro, espessura e comprimento, ao passo que a balança digital foi utilizada para determinar a massa da fibra do fruto, após a remoção de sementes e casca.

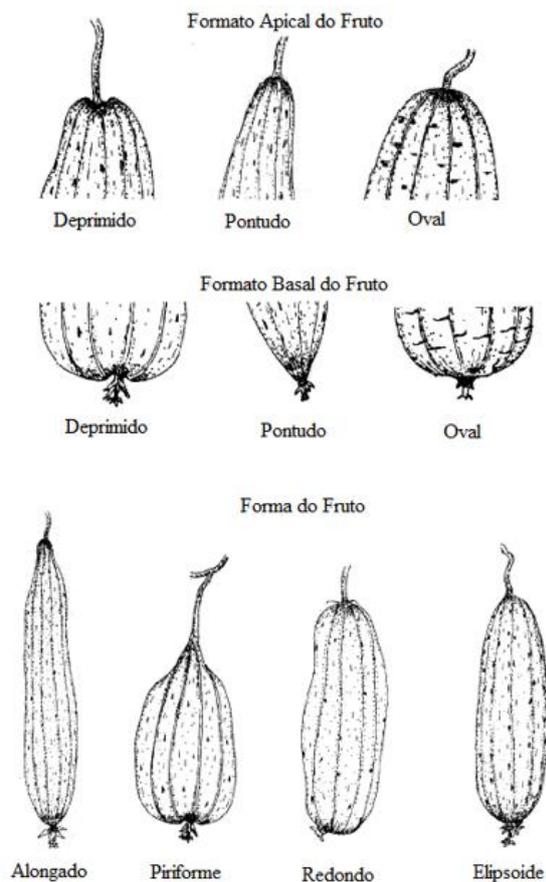


Figura 1. Caracterização dos frutos quanto ao seu formato apical, formato basal e sua forma, extraído do “Descriptors for Sponge Gourd [*Luffa cylindrica* (L.) Roem.]”. Fonte: Joshi *et al.* (2004).

3.3 Caracterização molecular

3.3.1 Extração de DNA

Foram coletadas folhas jovens e sem danos, de até dez plantas de cada acesso de *Luffa spp.*, de acordo com a disponibilidade em campo, e levadas imediatamente ao Laboratório De Biotecnologia Vegetal da UFERSA (LabBV), em seguida lavadas com água destilada e secas, para extração de DNA e posterior análise utilizando os marcadores ISSR.

O DNA de cada planta foi extraído individualmente em duplicata, conforme metodologia descrita por Doyle; Doyle (1990), com modificações baseadas em Faleiro *et al.* (2002). Foram maceradas folhas jovens em cadinho na presença de nitrogênio líquido, formando um pó, colocado em microtubos de 2ml, preparada a solução tampão com volume fina de 800µl contendo 80ul Tris-HCL 100mM pH 8,0; 32ul EDTA 25mM; 320ul CTAB; 280ul Nacl 250 mM; 0,016g PVP 2%; 16ul 2-β-mercaptoetanol; 72ul água ultrapura, e adicionado imediatamente aos microtubos. As amostras foram incubadas em banho termostático a 70°C por 60 minutos, sendo homogeneizadas a cada dez minutos. Após o tempo de incubação, foram adicionados 700 ul de clorofórmio-álcool-isoamílico 24:1 (CIA), homogeneizadas manualmente e levadas a centrífuga por dez minutos em rotação de 10.000 rpm e 4°C. O sobrenadante das amostras foi transferido para um novo microtubo, sendo adicionados 55 ul de CTAB 7%, mais 700 ul de CIA, homogeneizado e levado para centrifugar novamente com as mesmas condições citadas anteriormente. Após a centrifugação, o sobrenadante foi passado para mais um novo microtubo, adicionado 700ul de álcool isopropanol gelado e incubados por 12h a -20°C para que fosse formado o pallet de DNA no fundo do tubo. Decorrido o tempo de incubação, os tubos foram centrifugados e deu-se início à etapa de lavagem.

Foram adicionados aos tubos 1000 ul de álcool 70%, centrifugado e desprezada a parte líquida, permanecendo o pallet ao fundo do tubo, em seguida repetiu-se o processo com álcool 90%. Para o DNA da *Luffa*, foi necessária mais uma etapa de lavagem devido às imagens obtidas na quantificação, então foi repetido o protocolo desde a etapa em que se adicionam 700 ul de álcool isopropanol, mas agora incubados por 1h e repetidas as etapas seguintes. Depois de desprezar a parte líquida do álcool 90%, os DNAs foram postos para secar em estufa por um tempo de aproximadamente 2h ou até sair o cheiro de álcool presente no tubo. Com o DNA seco, o pallet foi ressuscitado com solução de RNase (10ug/mL). Foram adicionados 5ul da enzima RNase aos tubos, mais 45ul de água ultrapura, e incubados em banho termostático a 37°C por 30 minutos. A quantidade e qualidade do DNA isolado foram

reveladas por meio de eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio, visualizados em fotodocumentador (Proteinsimple, Alphaimager HP) na presença de luz UV.

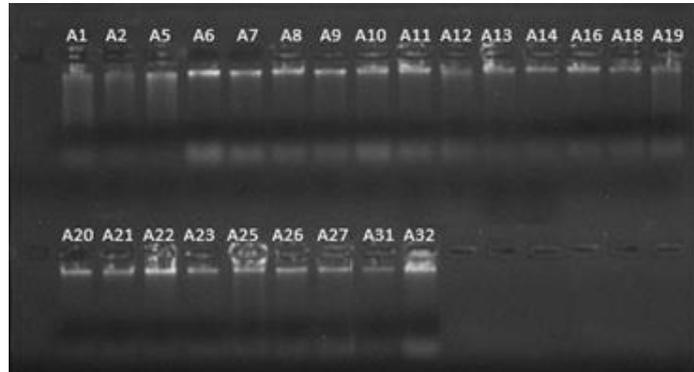


Figura 2. Quantificação do DNA dos 24 acessos de *Luffa* spp. visualizados em fotodocumentador. Fonte: A autora (2024).

Depois de quantificar o DNA de cada planta individualmente, foram preparados os bulks de DNA para cada acesso. Para isso, em microtubos identificados para cada acesso, foram adicionados 10 μ L de DNA de cada planta que compunha esse acesso específico. Esse procedimento foi repetido para os 24 acessos trabalhados molecularmente, resultando na formação dos bulks. Em seguida, foi realizada nova quantificação, desta vez utilizando as 24 amostras em bulk.

3.3.2 Seleção de *primers* ISSR e reação de amplificação via PCR

Para a análise com os marcadores ISSR, foi realizado teste preliminar de amplificação com 28 primers (Tabela 3) por meio de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Os marcadores ISSR selecionados no teste de amplificação (Figura 3) foram utilizados para amplificação do DNA de todos os acessos.

Tabela 3. *Primers* ISSR polimórficos com suas respectivas seqüências de bases.

	Nome do <i>primer</i>	Seqüência do <i>primer</i> (5'....3')
1	UBC-808	AGAGAGAGAGAGAGAGC
2	UBC-810	GAGAGAGAGAGAGAGAT
3	UBC-811	GAGAGAGAGAGAGAGAC
4	UBC-12	GAGAGAGAGAGAGAGAA
5	UBC-23	TCTCTCTCTCTCTCC
6	UBC-825	ACACACACACACACT
7	UBC-826	ACACACACACACACC

8	UBC-828	TGTGTGTGTGTGTGTGA
9	UBC-834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT
10	UBC-835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC
11	UBC-836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA
12	UBC-840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT
13	UBC-841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC
14	UBC-842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG
15	UBC-846	GAGAGAGAGAGAGAGAA
16	UBC-847	CACACACACACACARC
17	UBC-848	CACACACACACACARG
18	UBC-850	GTGTGTGTGTGTGTGYC
19	UBC-852	TCTCTCTCTCTCTCCRA
20	UBC-855	ACACACACACACACACYT
21	UBC-856	ACACACACACACACACYA
22	UBC-857	ACACACACACACACACYG
23	UBC-858	TGTGTGTGTGTGTGTGRT
24	UBC-861	ACCACCACCACCACCACC
25	UBC-866	CTCCTCCTCCTCCTCCT
26	UBC-868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA
27	UBC-888	DBBCACCACACACACA
28	UBC-889	DBDACACACACACACAC

As reações de amplificação compreenderam um volume final de 12 μL , sendo compostas por 1,2 μL de tampão 10x (100 mM Tris-HCl (pH 8,8), 500mMMKCl, 1% Triton-X-100, 16mM MgCl_2), 2,5 μL de BSA, 1 μL de desoxirribonucleotídeos (dNTPs) (0,25 mM), 1 μL de DNA (10 ng/ μL), 1 μL de primer (0,2 μM), 0,2 μL de Taq DNA Polymerase (5U/ μL) e 4,1 μL de água milli-Q. As amostras foram submetidas a amplificação em termociclador (Nexux, Eppendorf) com a seguinte programação: quatro minutos a 94 °C para desnaturação inicial, seguindo-se de 35 ciclos de desnaturação (94 °C por 30 segundos), anelamento por 45 s, de 46 a 50°C, dependendo do *primer*, dois minutos a 72 °C (extensão) e extensão final a 72 °C por dez minutos.

Ao fim da programação, foram adicionados 2 μL de corante azul de bromofenol aos poços e os produtos da amplificação (bandas) puderam ser visualizados por meio da

eletroforese em tampão TBE 1X (Tris 89mM, ácido bórico 89mM, EDTA 2,5 mM, pH 8,3), em gel de agarose a 2,0% (p/v), corado com brometo de etídeo (0,5 ug.mL⁻¹) e submetidos a 150 Volts por aproximadamente duas horas. Posteriormente, os géis foram visualizados sob luz UV em fotodocumentador (Proteinsimple, Alphaimager HP). Como padrão de peso molecular, foi utilizado o marcador 100 pb “DNA Ladder Plus” (Sinapse Biotecnologia)

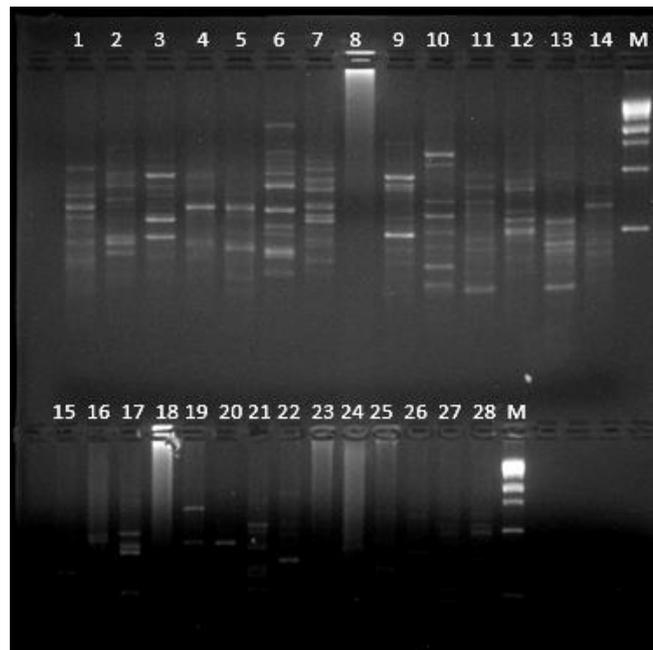


Figura 3. Teste preliminar utilizando os 28 primer ISSR com o DNA do Acesso 20. M= marcador de peso. Fonte: A autora (2024).

3.4 Análises estatísticas

A análise estatística foi feita separadamente para os dados morfológicos qualitativos e quantitativos. Para as análises dos caracteres morfológicos qualitativos, foram feitos os agrupamentos hierárquicos dos acessos pelo método de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*).

Para as análises quantitativas, os dados foram padronizados por meio da correlação de Pearson. Foi feita análise dos componentes principais com os valores médios; o resultado dessas análises também foi expresso em forma de dispersão gráfica, apresentando a distribuição dos acessos em função dos dois componentes principais. Foi calculada a contribuição de cada caractere e os agrupamentos hierárquicos dos acessos foram obtidos pelo método de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*).

Todas as análises morfológicas foram feitas por meio do *software* estatístico R (R Development Core Team v. 2024).

Para as análises moleculares, baseando-se na interpretação dos géis, foi feita uma

matriz binária com os dados moleculares, descritos conforme ausência (0) e presença (1) dos fragmentos específicos de DNA que amplificaram, em uma planilha no *software* Microsoft Excel, e as análises de variância foram realizadas por meio de AMOVA.

O *software* NTSYS-pc 2.1 (Rolfh, 2000) foi utilizado para calcular o coeficiente de Jaccard (1901), para analisar a similaridade dos diferentes acessos de bucha vegetal, construindo uma matriz de dissimilaridade.

Os dados gerados pela matriz de dissimilaridade foram empregados na obtenção do dendograma, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*) e, a partir da matriz, foi obtido o coeficiente de correlação cofenética.

Considerando a inexistência de delineamento experimental, as análises estatísticas foram descritivas, permitindo apenas o agrupamento com base na distância euclidiana média padronizada por UPGMA e a dispersão pelo método de componentes principais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Morfológicos

O conhecimento dos caracteres morfológicos é fundamental, pois possibilita a identificação de características relevantes em acessos, as quais podem ser utilizadas por produtores ou programas de melhoramento. Isso é especialmente importante porque a maioria dos materiais cultivados não apresenta nenhum nível de melhoramento, resultando em limitações como desuniformidade no padrão dos frutos em relação a tamanho, coloração, diâmetro, espessura, dentre outras características importantes para a comercialização (Lira *et al.*, 2012; Blind, 2016; Blind *et al.*, 2018).

Tabela 4. Características qualitativas de fruto e da fibra avaliadas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

ACESSO	TF	CF	FA	FB	FF	CNF	MF
A1	Cilíndrico	Rugoso	Deprimido	Deprimido ou Oval	Redondo	Creme	Macia ou Dura
A2	Cilíndrico	Liso	Oval	Oval	Redondo	Creme	Macia ou Dura
A12	Cilíndrico	Liso	Pontudo	Pontudo	Elipsoide	Amarela	Mto Macia
A18	Cilíndrico	Liso	Pontudo	Oval	Alongado	Creme	Dura
A19	Cilíndrico	Liso	Pontudo	Pontudo	Elipsoide ou Alongado	Creme ou Amarela	Macia ou Mto Macia
A20	Cilíndrico	Deprimido	Pontudo ou Oval	Oval	Elipsoide ou Redondo	Creme	Macia ou Dura
A21	Cilíndrico	Liso	Pontudo	Pontudo	Elipsoide ou Piriforme	Creme ou Amarela	Macia ou Dura
A22	Cilíndrico	Liso ou Deprimido	Pontudo	Pontudo	Elipsoide ou Alongado	Creme ou Amarela	Macia, Mto Macia ou Dura
A23	Cilíndrico	Rugoso	Pontudo	Pontudo	Elipsoide	Creme	Mto Macia
A24	Cilíndrico	Deprimido	Pontudo	Pontudo	Elipsoide	Amarela	Mto Macia
A25	Cilíndrico ou Triangular	Deprimido ou rugoso	Oval	Deprimido	Elipsoide ou Redondo	Creme ou Amarela	Macia, Mto Macia ou Dura
A31	Cilíndrico	Liso	Pontudo	Pontudo	Elipsoide	Creme	Dura
A32	Cilíndrico	Deprimido	Pontudo	Oval	Elipsoide	Creme	Dura

Fonte: A autora (2024). TF: tipo de fruto; CF: Casca do fruto; FA: Formato apical do fruto; FB: Formato basal do fruto; FF: Forma do fruto; CNF: Cor natural da fibra; MF: Maciez da fibra.

Algumas características das plantas de bucha são de interesse em qualquer setor de produção, como maior produção de frutos e fibras, entretanto a definição do caractere ideal a ser apresentado pelo fruto dependerá do setor ao qual será destinado (Ghali *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2012).

Para a produção de esponja de banho, os frutos devem apresentar fibra macia e

coloração clara (Tabela 4), além do tipo cilíndrico, com maior comprimento e uniformidade, evitando desperdícios, sendo os acessos A19 e A23 os mais indicados, ao passo que para limpeza doméstica os frutos devem apresentar fibras duras (Tabela 4), sendo indicados os acessos A31 e A32 (Ferreira *et al.*, 2012; Blind, 2016; Blind *et al.*, 2018).

Em relação à casca do fruto, foi observado que os frutos que possuíam casca do tipo liso (Tabela 4) apresentaram maior facilidade de serem descascados. Para a maciez da fibra, apesar de não ter sido avaliada por meio de método específico (foi avaliada sensitivamente), foi observado que quando classificada como macia ou muito macia, suas fibrilas se apresentavam relativamente finas, ao passo que as classificadas como duras as tinham mais espessas (Tabela 4), corroborando o observado por Blind (2016).

As fibras mais duras (Tabela 4) são comumente utilizadas em confecções de artesanato, para que apresentem maior firmeza e durabilidade, além de serem sugestivamente indicadas para utilização em compósitos industriais como palmilhas e filtros de óleo, portanto os acessos A18, A31 e A32 seriam os mais indicados. Por sua vez, as fibras macias (Tabela 4) são comercializadas para uso dermocosmético e outros, acessos A12, A19, A23, A24 (Blind, 2016; Blind *et al.*, 2018).

Em estudo da *luffa cylindrica* em assento e encosto (Costa, 2018), visando a identificar o conforto térmico, foi constatado que para proporcionar maior conforto, são preferidas fibras mais macias, já que, de acordo com Medeiros (2015), o excesso de dureza aumenta a pressão, comprimindo os vasos sanguíneos e dificultando a circulação. Os assentos confeccionados com a fibra vegetal proporcionaram maior desconforto, resultado associado à não homogeneidade da manta confeccionada com a fibra. Diante disso, o estudo do melhoramento genético se faz necessário para promover homogeneidade aos frutos.

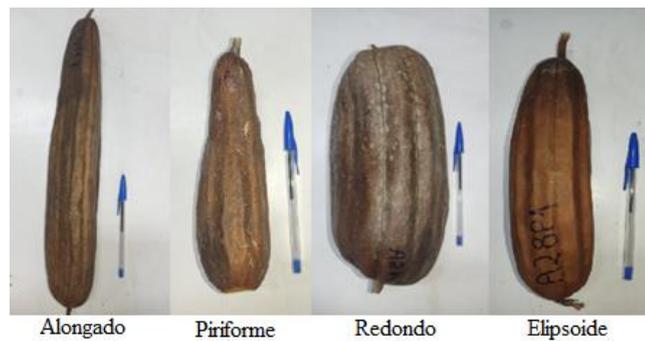
A figura 4 evidencia a diferença morfológica em relação aos frutos coletados, sendo possível observar a ocorrência de frutos de diferentes tipos e formas. Além disso, também foi capturada a diferença quanto à casca do fruto e formato do fruto, na figura 5.



Figura 4. Variabilidade entre frutos coletados dos diferentes acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*), da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Foto: Arquivo próprio, 2023



Casca do fruto (A).



Forma do fruto (B).

Figura 5. Variabilidade entre os descritores casca do fruto (a) e forma do fruto (b) observada em diferentes acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Fonte: Arquivo próprio, 2023.

Visando a ampliar a diversidade genética e as possibilidades hereditárias entre os acessos estudados, é possível estabelecer grupos com base em uma simples inspeção visual, a partir de combinações fenotípicas e biométricas (Blind, 2016; Ramos *et al.*, 2000).

Considerando ainda os caracteres qualitativos, foi possível agrupar os acessos em dois grupos (Figura 6). O primeiro grupo foi formado pelos acessos A1, A2, A18, A20, A25 e A32, e o segundo grupo foi formado pelos acessos A12, A19, A21, A22, A23, A24 e A31. A elevada estimativa de correlação cofenética (0,71, $p < 0,05$) sugere que as matrizes de distâncias original e final são semelhantes.

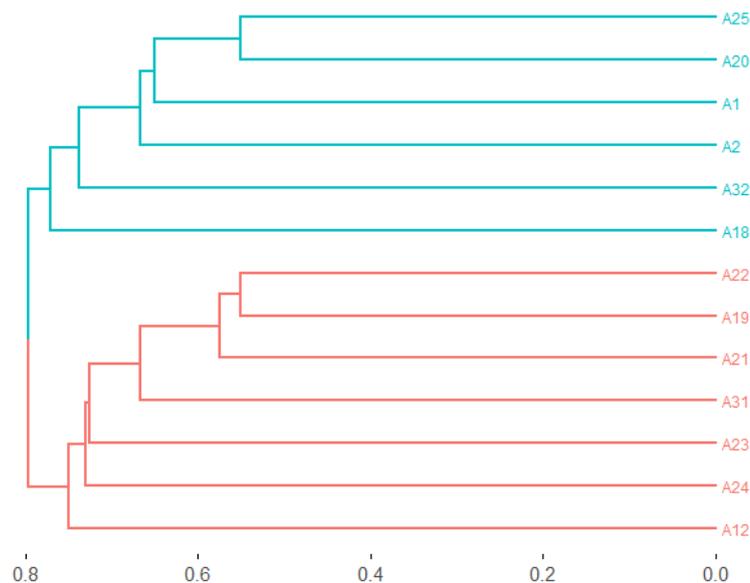


Figura 6. Dendrograma UPGMA a partir da matriz de distâncias euclidianas obtidas de variáveis morfológicas qualitativas avaliadas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). (Correlação cofenética = 0,71, $p < 0,05$). Fonte: A autora (2024).

No grupo 1 (Figura 6), dos seis acessos agrupados, cinco são provenientes da cidade de Mossoró/RN, e apenas um de Serra Talhada/PE, ao passo que no grupo 2 (Figura 6), dos sete acessos agrupados, cinco são provenientes da cidade de Apodi/RN, sendo todos do estado do RN. Verifica-se, portanto, um fluxo gênico das áreas de plantio de bucha vegetal.

Pode-se perceber que os acessos que apresentaram tanto o formato apical quanto o formato basal classificados como pontudo foram agrupados no grupo 2 (Figura 6). Ambos os grupos apresentaram subgrupos em sua formação, indicando que, apesar da variação em caracteres, há semelhança genética entre os acessos agrupados.

Em relação às cucurbitáceas, a forma de cultivo também pode estar associada. Para atender às necessidades dos agricultores em escala não comercial, geralmente são cultivadas poucas plantas. Isso resulta na fixação do conjunto gênico das espécies e na redução das alterações adaptativas devido à influência do meio ambiente (Ramos *et al.*, 2000).

Na tabela 5, são encontradas as médias das características quantitativas do fruto e fibra, referentes à massa da fibra, diâmetro medial do fruto, circunferência medial do fruto,

circunferência basal do fruto, circunferência apical do fruto, espessura mínima e máxima da fibra e comprimento do fruto.

Tabela 5. Médias das características quantitativas de fruto e fibra avaliadas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Acessos	MSF	DMF	CBF	CMF	CAF	ENF	EXF	CF
A1	15,11	10,25	29,25	32,50	26,95	0,60	0,95	18,50
A2	18,45	11,20	27,25	32,50	27,25	0,90	1,10	24,50
A12	2,73	3,90	10,50	11,50	7,50	0,10	0,20	14,00
A18	11,31	5,70	16,00	17,50	9,50	0,30	0,40	26,60
A19	11,17	6,55	16,00	18,25	12,25	0,20	0,50	27,00
A20	15,68	7,73	21,33	23,17	16,00	0,43	0,67	26,17
A21	7,74	5,33	13,83	15,83	10,67	0,30	0,40	19,83
A22	9,17	5,18	13,25	16,38	9,75	0,13	0,23	27,00
A23	5,98	5,80	15,00	17,00	17,00	0,10	0,10	20,50
A24	7,01	4,30	11,50	12,00	8,50	0,10	0,30	18,00
A25	11,02	7,27	18,17	21,17	18,00	0,33	0,47	21,00
A31	7,74	5,60	13,50	16,00	9,00	0,20	0,30	20,50
A32	16,42	7,20	18,00	22,50	13,00	0,50	0,60	27,50

Fonte: A autora (2024). MSF: Massa da Fibra (g); DMF: Diâmetro medial do fruto (cm); CBF: Circunferência Basal (cm); CMF: Circunferência Medial (cm); CAF: Circunferência Apical (cm); ENF: Espessura Mínima da Fibra (cm); EXF: Espessura Máxima da Fibra (cm); CF: Comprimento do Fruto.

Os frutos e fibras avaliados apresentaram grande variabilidade quanto às características quantitativas (Tabela 5). Os acessos A2 e A32 apresentaram os maiores valores para massa da fibra. Em relação ao diâmetro medial, circunferências apical, medial e basal, e espessuras máxima e mínima, os acessos que se mostraram superiores foram A1 e A2, que apresentaram frutos no formato redondo. Para o comprimento do fruto, o acesso A32 foi superior, seguido dos acessos A19 e A22, ambos com o mesmo comprimento médio (Tabela 5).

O agrupamento UPGMA (Figura 7), a partir das distâncias euclidianas padronizadas, gerou dois grupos de acessos: grupo 1 (Figura 7), contendo os acessos A1 e A2; e grupo 2 (Figura 7), contendo os 11 demais acessos caracterizados morfologicamente, sendo eles A12, A18, A19, A20, A21, A22, A23, A24, A25, A31, A32. A elevada estimativa de correlação cofenética (0,92, $p < 0,05$) indica que as matrizes de distâncias original e final são semelhantes.

O grupo 1 (Figura 7) foi composto pelos acessos que apresentaram os frutos com maiores circunferências, diâmetro e espessuras (Tabela 5), ao passo que o grupo 2 (Figura 7) foi formado por dois subgrupos, indicando que apesar da variação genética há semelhança entre os acessos agrupados. O primeiro subgrupo do grupo 2 (Figura 7) é composto pelos acessos que apresentaram as menores médias para as variáveis comprimento do fruto e massa

das fibras (Tabela 5), sendo eles A12, A21, A23, A24 e A31, ao passo que o segundo subgrupo apresentou valores superiores para estas variáveis, com os acessos A18, A19, A20, A22, A25, A32.

Os acessos mais semelhantes, de acordo com o dendrograma (figura 7), são A21 e A31, e na tabela 5 verifica-se que apresentaram médias semelhantes para todas as variáveis trabalhadas.

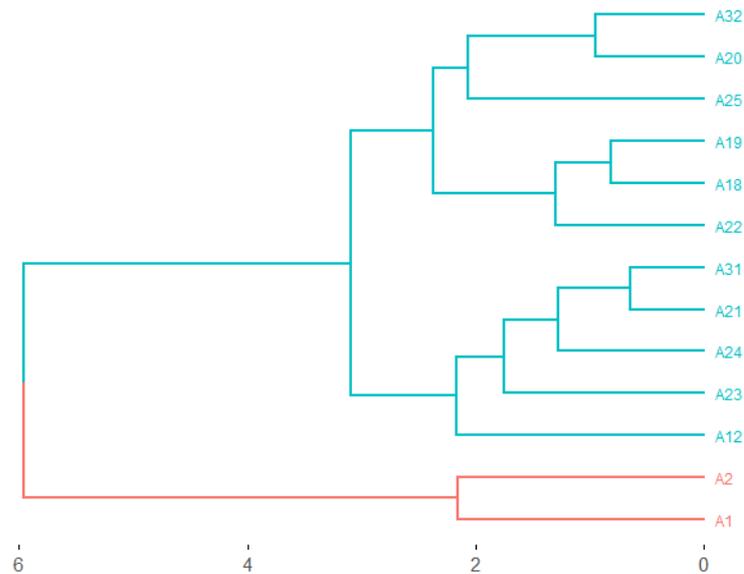


Figura 7. Dendrograma UPGMA a partir da matriz de distâncias euclidianas obtidas de variáveis morfológicas quantitativas avaliadas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). (Correlação cofenética = 0,92, $p < 0,05$). Fonte: A autora (2024).

As estimativas da correlação de Pearson (Figura 8) foram positivas, com valores entre 0,219 (CF x CBF) a 0,991 (CMF x DMF), entre as variáveis estudadas. A variável comprimento do fruto foi a única que não apresentou significância para a maioria das variáveis avaliadas, sendo elas diâmetro medial do fruto, circunferência medial, apical e basal do fruto, além de espessura máxima e mínima da fibra (Figura 8). Blind *et al.* (2018) também não obtiveram significância entre comprimento e espessura máxima e mínima em frutos de *luffa cylindrica*.

Houve significância entre as variáveis comprimento do fruto e massa da fibra (Figura 8), com valor igual a 0,622 (Figura 8). Esta correlação é comum em espécies agrônômicas, já que quanto maior for o fruto, maior será a massa. Além disso, é uma característica importantes em diferentes setores da agroindústria, o que favorece a utilização destas em seleção indireta (Blind, 2016; Blind *et al.*, 2018).

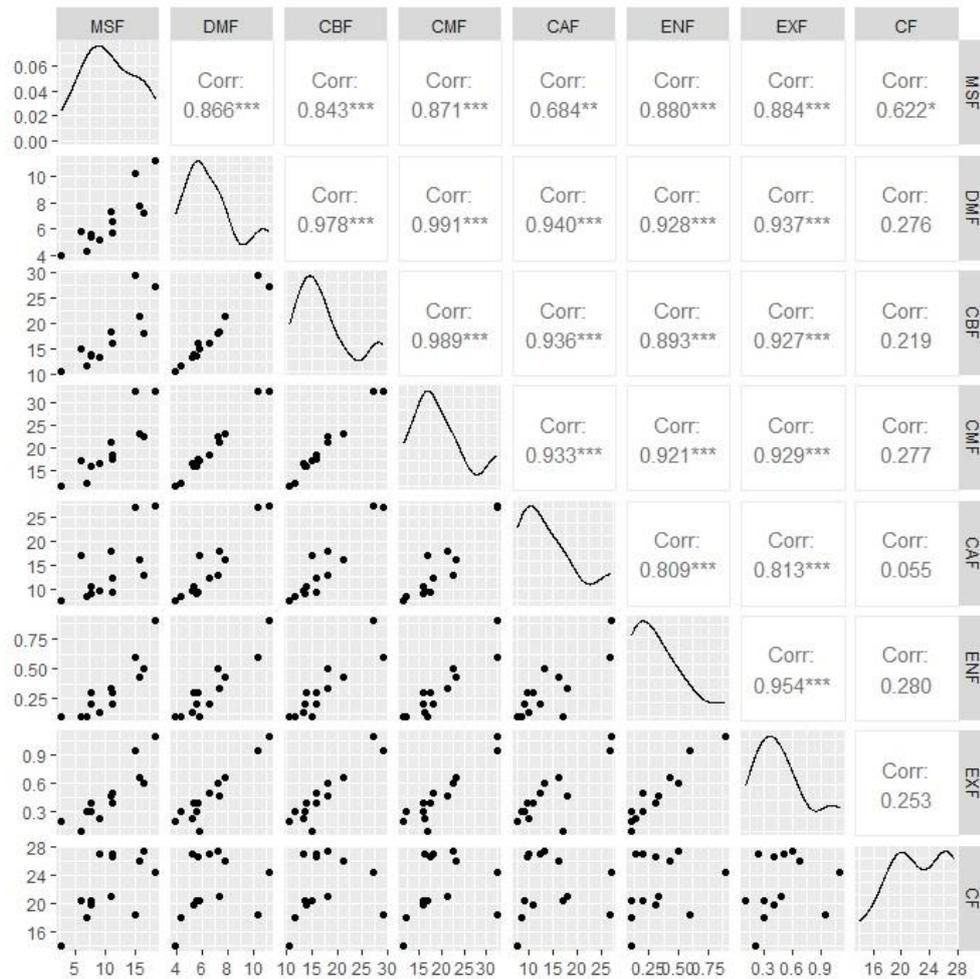


Figura 8. Correlações entre oito variáveis morfológicas medidas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Fonte: A autora (2024).

Na análise de componentes principais, os dois primeiros autovalores explicaram 77,90% e 15,10% da variação (Figura 9), totalizando 93% da variação total, adequando-se a uma representação bidimensional, já que Cruz *et al.* (2011) recomendam que uma discriminação confiável dos acessos é possível quando as duas primeiras variáveis canônicas explicam ao menos 80% da variação total.

Resultado de variação inferior foi encontrado por Blind (2016), que, estudando a caracterização de diversidade genética de bucha vegetal, encontraram variação total de 81,12% utilizando dois componentes principais.

O estudo dos componentes principais foi utilizado com o objetivo de manusear os acessos do banco de germoplasma, identificar parentais diferentes, estimar a variabilidade dos grupos geneticamente relacionados e avaliar a importância de cada caractere estudado (Cruz *et al.*, 2011). As variáveis circunferência apical, medial e basal do fruto, diâmetro medial do fruto, espessura máxima e mínima da fibra foram as que mais contribuíram para o primeiro

componente principal, ao passo que o comprimento do fruto e a massa da fibra foram as que mais contribuíram para o segundo componente principal (Figura 9).

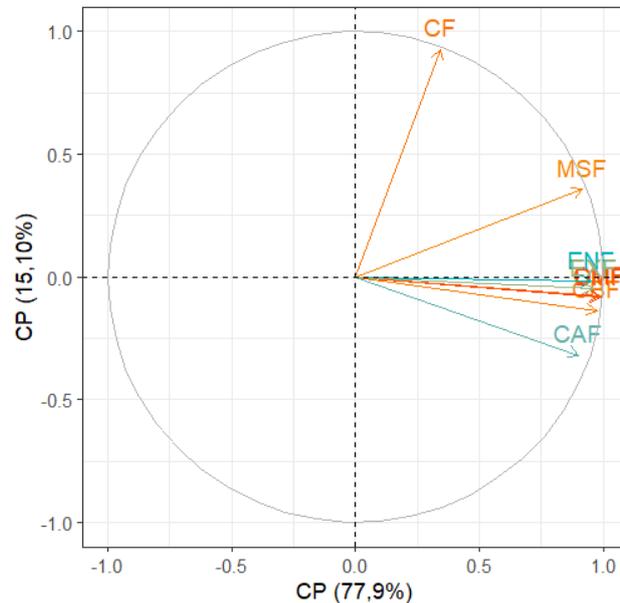


Figura 9. Contribuição das oito variáveis morfológicas medidas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), para os dois primeiros componentes principais. Fonte: A autora (2024).

A partir dos escores dos dois primeiros componentes principais, os acessos foram distribuídos em dois grupos (Figura 10). O primeiro grupo foi formado pelos acessos A1 e A2, e o segundo grupo foi formado pelos demais acessos, confirmando o resultado obtido pelo agrupamento UPGMA.

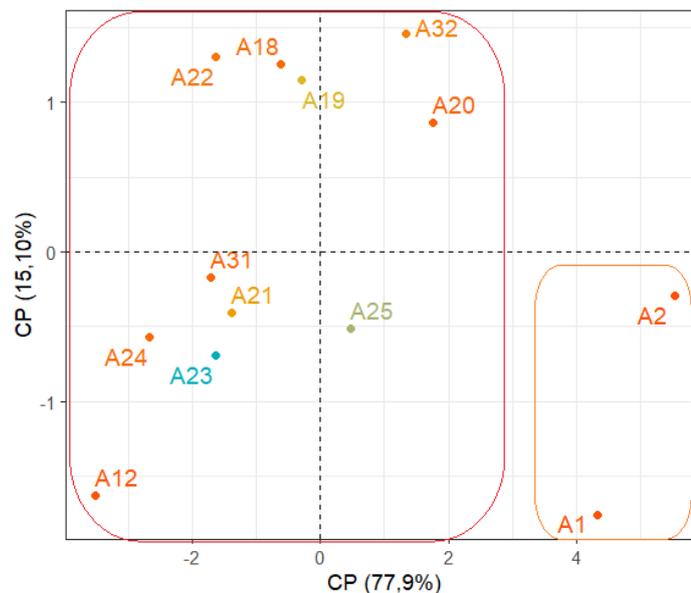


Figura 10. Distribuição de acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em função dos dois primeiros componentes principais obtidos partir de variáveis morfológicas. Fonte: A autora (2024).

Foi avaliada a contribuição das características estudadas (Figura 11), observando-se que a variável que mais contribuiu para a divergência genética foi a circunferência medial do fruto (26,6%), seguida pela circunferência apical do fruto (26,3%), circunferência basal do fruto (19,7%), massa da fibra (13%), comprimento do fruto (11,4%), diâmetro medial do fruto (2,8%), espessura máxima do fruto (0,1%) e, por fim, a espessura mínima do fruto (0%).

Os resultados obtidos discordaram dos encontrados na literatura, tendo Medeiros (2015) e Blind *et al.* (2020) obtido maior contribuição do caractere comprimento do fruto, com 18,09% e 62,32% de influência, respectivamente, em estudos com bucha vegetal.

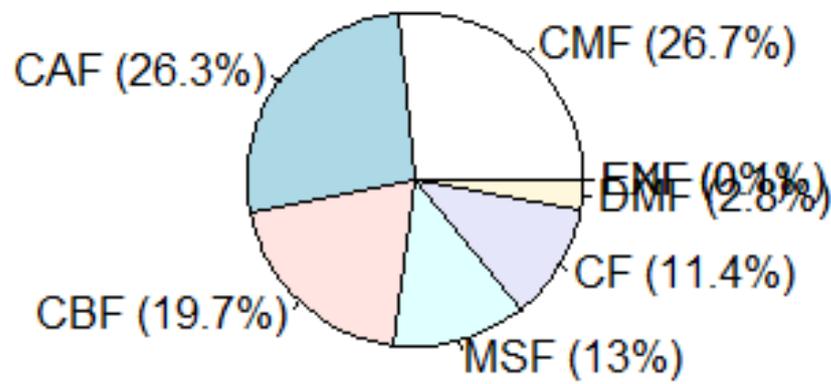


Figura 11. Contribuição de oito variáveis morfológicas medidas em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) para a divergência genética. Fonte: A autora (2024).

4.2 Molecular

Os 23 *primers* apresentaram bom padrão de amplificação (Figura 12) e geraram um total de 103 fragmentos (Tabela 6), com aproximadamente 77% destes compostos por bandas polimórficas. O número de fragmentos totais (Tabela 6) variou de um (UBC-12; UBC-840; UBC-841; UBC-846) a nove (UBC-888), e o número de fragmentos polimórficos (Tabela 6) variou de um (UBC-12; UBC-25; UBC-840; UBC-841; UBC-846; UBC868) a sete (UBC-825; UBC-889), tendo percentual médio de 80% de polimorfismo (P%) (Tabela 6), confirmando que os marcadores ISSR apresentam capacidade de identificar polimorfismo e diversidade genética entre acessos de bucha vegetal.

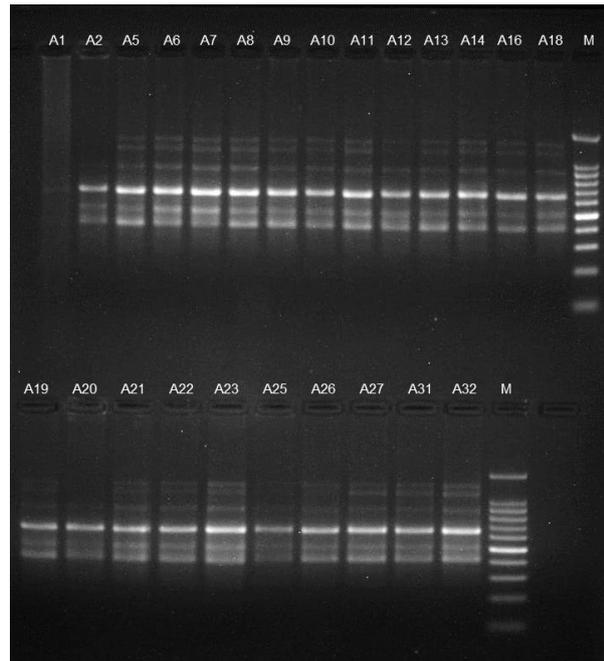


Figura 12. Produtos da amplificação em gel de agarose da PCR com 24 acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) utilizando o marcador UBC-866. M= Marcador 100 pb (DNA Ladder Plus). Fonte: A autora (2024).

Este resultado é superior ao encontrado por Tyagi *et al.* (2015), que estudaram 45 acessos de *L. cylindrica* presentes em diferentes regiões geográficas da Índia a partir de marcadores SRAP, obtendo 72,8% de polimorfismo. Também se superou Blind (2016), que, ao estudar a diversidade de acessos de bucha provenientes de sete estados do Brasil a partir de marcadores AFLP, obteve 66,8% de polimorfismo total.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC), que indica o grau de polimorfismo de um marcador genético em uma população, ou seja, a existência de variabilidade, variou entre 0,15 (UBC-826; UBC-846; UBC-855; UBC-857) e 0,41 (UBC-834) (Tabela 6).

Tabela 6. Primers ISSR utilizados em acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

	NF	NFP	%P	PIC	EMR	MI
UBC-808	4	3	75	0,35	2,25	0,79
UBC-810	5	3	60	0,38	1,80	0,68
UBC-811	4	3	75	0,33	2,25	0,74
UBC-12	1	1	100	0,22	1,00	0,22
UBC-23	2	1	50	0,28	0,50	0,14
UBC-825	7	7	100	0,28	7,00	1,94
UBC-826	7	4	57	0,15	2,29	0,35
UBC-834	5	5	100	0,41	5,00	2,07
UBC-835	5	4	80	0,33	3,20	1,06

UBC-836	3	2	67	0,25	1,33	0,33
UBC-840	1	1	100	0,28	1,00	0,28
UBC-841	1	1	100	0,22	1,00	0,22
UBC-842	3	2	67	0,33	1,33	0,44
UBC-846	1	1	100	0,15	1,00	0,15
UBC-847	6	5	83	0,37	4,17	1,55
UBC-848	7	5	71	0,33	3,57	1,18
UBC-855	7	6	86	0,15	5,14	0,79
UBC-856	5	4	80	0,22	3,20	0,70
UBC-857	7	6	86	0,15	5,14	0,79
UBC-866	3	2	67	0,33	1,33	0,44
UBC-868	2	1	50	0,27	0,50	0,14
UBC-888	9	5	56	0,22	2,78	0,62
UBC-889	8	7	88	0,32	6,13	1,95
Total	103	79				
Media			80	0,28	2,25	0,68

Fonte: A autora (2024). Número total de fragmentos amplificados (NTF), número de fragmentos polimórficos (NFP), porcentagem de polimorfismo (%P), índice de conteúdo polimórfico (PIC), relação múltipla efetiva (EMR) e índice do marcador (MI).

De acordo com a classificação de Botstein *et al.* (1980), marcadores que apresentam valores de PIC superior a 0,5 são considerados muito informativos, os que apresentam valores entre 0,25 e 0,5 são considerados medianamente informativos, e os que apresentam valores inferiores a 0,25 são considerados pouco informativos. Portanto, no presente trabalho, oito *primers* apresentaram valores de PIC inferior a 0,25 (Tabela 6), sendo considerados pouco informativos, ao passo que os demais quinze *primers* apresentaram PIC entre 0,25 e 0,5 (Tabela 6), sendo considerados medianamente informativos, mais indicados, portanto, para estudos de variabilidade (Ribeiro, 2011).

Os valores de similaridade genética, estimados a partir do coeficiente de Jaccard, variaram de 0,408 a 0,914 (variação de 0,506), como pode ser observado nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Similaridade genética entre os quatro pares de acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) que apresentam menor distância genética.

	A6	A31	A23	A27
A7	0,914			
A32		0,823		
A24			0,821	0,821

Fonte: A autora (2024).

Tabela 8. Similaridade genética entre os quatro pares de acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) que apresentam maior distância genética.

	A1	A25
A26	0,408	
A8	0,415	
A26		0,444
A23	0,465	

Fonte: A autora (2024).

Por meio do *software* NTSYS, o método de agrupamento UPGMA (Figura 13) apresentou Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) de 0,774, o qual permite estimar o ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o agrupamento, resultado inferior aos obtidos por Blind *et al.* (2020), que obtiveram correlação cofenética de 0,9606 em estudo de diversidade genética com *Luffa cylindrica*. À medida que o coeficiente de concordância cofenética aumenta, ocorre diminuição da distorção induzida ao agrupar indivíduos (Cruz *et al.*, 2011). De acordo com Vaz Patto *et al.* (2004), valores de CCC superiores a 0,56 representam bom alinhamento entre as matrizes de dissimilaridade e de agrupamento; por sua vez, Sokal e Rohlf (1995) dizem que o ajuste ideal entre a matriz e o agrupamento é avaliado por valores de CCC superiores a 0,80.

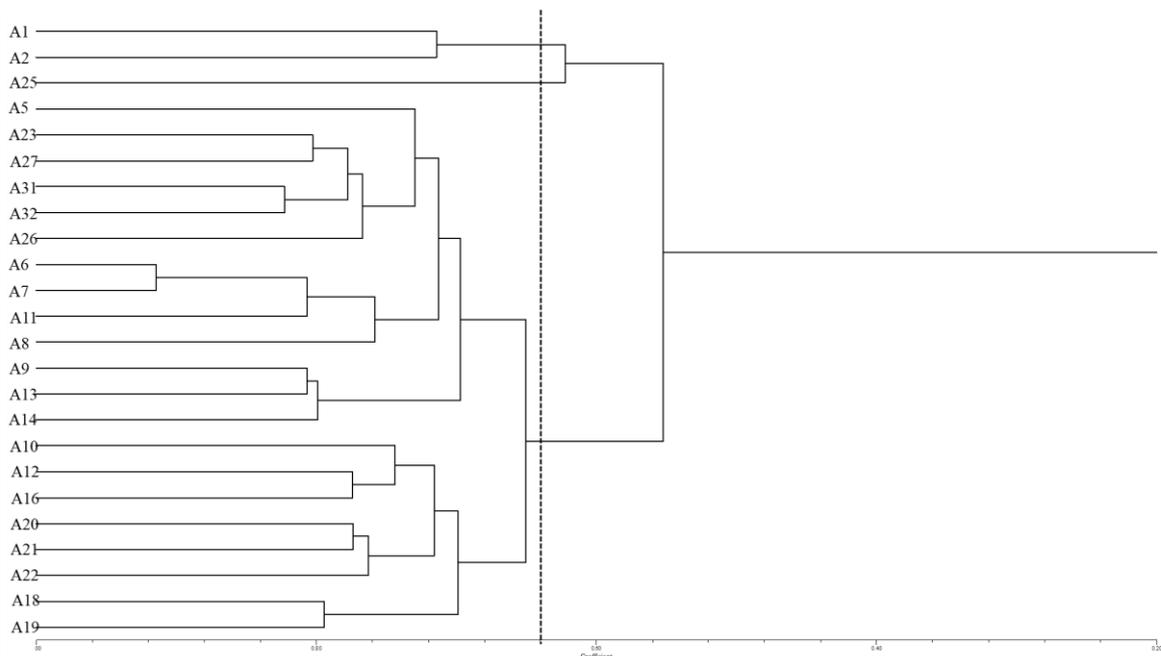


Figura 13. Dendrograma obtido pelo método UPGMA e complemento aritmético do índice de Jaccard como média de similaridade, em 24 acessos de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) da Coleção de Germoplasma de Cucurbitáceas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade

Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) com base em 21 primers ISSR. Ponto de corte = 0,66%. Fonte: A autora (2024).

O dendrograma (Figura 13) representa a relação genética entre os acessos de bucha vegetal, onde foram identificados três diferentes grupos, considerando uma distância média de 0,66 entre os grupos.

O primeiro grupo foi formado por dois acessos (A1 e A2). O segundo grupo foi formado por apenas um acesso (A25), ao passo que o terceiro grupo abrange os demais 21 acessos estudados, representando aproximadamente 83,33% dos acessos: A5; A6; A7; A8; A9; A10; A11; A12; A13; A14; A16; A18; A19; A20; A21; A22; A23; A26; A27; A31; A32 (Figura 13).

Os dois primeiros grupos são provenientes da cidade de Mossoró-RN. O terceiro grupo foi o único que apresentou subgrupos em seu agrupamento (Figura 13). A presença de subgrupos pode indicar heterogeneidade genética dentro das regiões ou grupos específicos. Isso pode ser resultado de interações complexas entre fatores ambientais, fluxo gênico, seleção natural e práticas de manejo específicas.

O primeiro subgrupo do grupo 3 pode ser dividido em dois grupos, um contendo os acessos A9, A13 e A14, todos provenientes do estado de Pernambuco, e outro grupo contendo mais 11 acessos (Figura 13). Entretanto, podemos observar ainda a formação de mais dois grupos diminuindo o ponto de corte, são os grupos dos acessos A6, A7, A11 e A8, que apresentam acessos de variadas origens agrupados (PE; CE; RN), e o grupo contendo os acessos A5, A23, A27, A31, A32 e A26, que apresentam acessos de dois estados, sendo 33,3% provenientes do Pernambuco e 66,6% provenientes do Rio Grande do Norte (Figura 13).

O segundo subgrupo do grupo 3 apresentou sua totalidade de acessos provenientes de um mesmo estado (Rio Grande do Norte), com cinco dos oito acessos (62,5%) da cidade de Apodi, e os outros 3 (37,5%) da cidade de Mossoró (Figura 13).

Resultado semelhante foi obtido por Blind (2016), que verificou resultado positivo à expectativa de que a dispersão e o agrupamento dos acessos de bucha vegetal correspondiam à procedência destes. A tendência desse agrupamento sugere que a estrutura genética desses acessos pode ter sido influenciada pela distância geográfica e pela limitação do fluxo gênico entre diferentes áreas, possivelmente em virtude do compartilhamento de materiais genéticos graças a interações sociais e práticas agrícolas em comum.

Entretanto, observando o subgrupo contendo diferentes estados (Figura 13), isto pode ter ocorrido devido à dispersão e fluxo de cultivo, já que a bucha é uma espécie com modo de

reprodução por alogamia, cultivada de forma incipiente, sem triagem prévia para uso de acessos, além de sua ocorrência ser predominantemente espontânea. Estes resultados corroboram os obtidos por Zhang *et al.* (2008) e Silva *et al.* (2012), que verificaram alto grau de parentesco em acessos de bucha vegetal presentes em diferentes regiões da Ásia.

Os acessos A2 e A18 (Tabela 1), segundo informações da coleção de germoplasmas, foram coletados na mesma propriedade, em anos diferentes, entretanto não estão no mesmo grupo, não sendo o par com maior similaridade (0,706) representado no dendrograma (Figura 13), o que pode estar relacionado à alogamia da cultura, podendo a troca de genes ter ocorrido em algum momento.

O acesso A1 destacou-se como o menos similar aos demais acessos, conforme evidenciado na Tabela 1. O acesso A25 apresentou perfil genético singular (Figura 13), conforme indicado pelo dendrograma. Estes resultados sugerem que ambos os acessos podem desempenhar papel crucial na preservação da diversidade genética. Além disso, por serem genitores distantes, sugere-se a possibilidade de efeito heterótico significativo em suas progênes. Portanto, esses acessos específicos podem ser considerados importantes em estratégias futuras de melhoramento genético (Cruz *et al.*, 2011).

5 CONCLUSÃO

Os descritores morfológicos utilizados neste trabalho se mostraram confiáveis para identificar variabilidade fenotípica entre os acessos estudados.

O marcador ISSR se mostrou eficiente para estimar a diversidade genética presente nos acessos de *luffa cylindrica* da coleção de germoplasma de cucurbitáceas.

Os acessos mais divergentes são A1 e A25.

Os acessos A19, A20, A22 e A32 foram os que apresentaram melhores médias e melhores rendimentos, sendo os mais indicados para o mercado cosmético, doméstico e industrial.

Para o mercado de esponja vegetal, destino da maior parte da produção brasileira, são indicados os acessos A19 e A23.

REFERÊNCIAS

- AZEEZ, Musibau Adewuyi; BELLO, Olugbenga Solomon; ADEDEJI, Adewumi Omobola. Traditional and medicinal uses of *Luffa cylindrica*: a review. **J. Med. Plants**, v. 1, n. 5, p. 102-111, 2013. Disponível em: https://www.plantsjournal.com/vol1Issue1/Issue_sep_2013/12.1..pdf. Acesso em: 27 jun. 2022.
- BERED, Fernanda; BARBOSA NETO, José Fernandes; CARVALHO, Fernando Irajá Félix de. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, v. 27, p. 513-520, 1997. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/dqRw9QJjFNKrR8gb8gKzDMr/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 13 dez. 2022.
- BISOGNIN, Dilson Antônio. Origin and evolution of cultivated cucurbits. **Ciência Rural**, v. 32, p. 715-723, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/hNHHTjndYZR4bbTkVn7Hx4C/?format=html&lang=en>. Acesso em: 20 jun. 2022
- BLIND, A. D. **Diversidade genética em acessos de *Luffa cylindrica* baseado em análise molecular e caracteres morfo-agronômicos**. 2016. 95f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus-AM, 2016.
- BLIND, Ariel Dotto *et al.* Estimativa de parâmetros genéticos, análise de trilha e seleção em bucha vegetal para caracteres agrônômicos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, n. 2, p. 1-8, 2018.
- BLIND, Ariel Dotto *et al.* Marcadores moleculares e descritores morfo-agronômicos na avaliação da diversidade genética de bucha (*Luffa cylindrica*). In: **Colloquium Agrariae**. 2020. p. 66-76. Disponível em: <https://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/3157>. Acesso em: 16 jul. 2022.
- BOTSTEIN, D. *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686077/>. Acesso em: 17 out. 2023.
- CARMO, C. A *et al.* **Caracterização morfológica de acessos de bucha vegetal no estado do Espírito Santo**. Dossiê Técnico-INCAPER-ES 6p. 2007.
- Costa. D. C. W. **Estudo da *Luffa Cylindrica* em assento e encosto**. 2018. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2018.
- CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. 1 ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011.
- DA EIRA AGUIAR, A. T. *et al.* **Boletim N° 200: Instruções Agrícolas para as Principais Culturas Econômicas**. 7° ed. Campinas, SP: Instituto Agrônômico, 2014.
- DA SILVA, H. A. *et al.* Seleção de primers RAPD em germoplasma de abóbora e bucha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 47, 2007, Porto Seguro. SIMPÓSIO

BRASILEIRO SOBRE CUCURBITÁCEAS, **Anais...** 4., 2007, Porto Seguro: Associação Brasileira de Horticultura, 2007.

DAVIS, Jeanine M. Luffa sponge gourd production practices for temperate climates. **HortScience**, v. 29, n. 4, p. 263-266, 1994.

DEVI, G. Sashikala *et al.* Studies on the antibacterial and antifungal activities of the ethanolic extracts of *Luffa cylindrica* (Linn) fruit. **Int. J. Drug. Dev. Res.**, v. 1, p. 105-109, 2009.

DU, Qizhen *et al.* Antioxidant constituents in the fruits of *Luffa cylindrica* (L.) Roem. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4186-4190, 2006.

FALEIRO, F. G. *et al.* Otimização da extração e amplificação de DNA de *Theobroma cacao* L. visando obtenção de marcadores RAPD. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 14, n. 2, p. 31-34, 2002.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares: aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. 1º ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102p.

FERREIRA, I. C. P. V.; ARAUJO, A. V.; CAVALCANTI, T. F. M.; COSTA, C. A.; FERREIRA, M. A. J. F. Caracterização morfológica de frutos de 17 acessos de bucha vegetal cultivados no Norte de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, S2192-S2198, 2010. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/858951/1/AldeteCBO2010.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2024.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília: Embrapa / Cenargen, 1996.

FERREIRA, MAJF *et al.* Seleção de bucha vegetal para produção de esponjas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2012, Belém, PA. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/941450%3E>. Acesso em: 23 out. 2023.

FONSECA, C. E. L.; RIBEIRO, J. F. Fruteiras do cerrado: estágio atual e perspectivas futuras. **Simpósio Nacional de recursos genéticos de fruteiras nativas**, v. 1, p. 63-75, 1992.

GALATTI, F. S. *et al.* Rootstocks resistant to *Meloidogyne incognita* and compatibility of grafting in net melon. **Revista Ceres**, v. 60, p. 432-436, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/sjNzxcCK7k78rV8QQPGXcGg/?lang=en>. Acesso em: 07 out. 2023.

GHALI, L. *et al.* effect of chemical modification of luffa cylindrica fibers on the mechanical and hygrothermal behaviours of polyester/Luffa composites. **BioResources**, v. 6, n. 4, p. 3836-3849, 2011.

ITO, L. A. *et al.* Resistência de porta-enxertos de cucurbitáceas a nematóides e compatibilidade da enxertia em melão. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 297-302, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/g5D5GCsVZhJFht4F8wdmc5t/?lang=pt>. Acesso em: 15 out. 2023.

ITO, L. A. **Seleção de porta-enxertos resistentes a *Didymella bryoniae*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* e efeitos no desempenho do meloeiro rendilhado**. 2012. 77p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2012.

JOSHI, B. K.; TIWARI, R. K.; GHALE, M.; STHAPIT, B. R.; UPADHYAY, M. P. **Descriptors for sponge gourd (*Luffa cylindrica* L. Roem)**. 1 ed. Kathmandu: Nepal, NARC, LIBIRD and IPGRI, 2004.

LE MOS, M. S. *et al.* Genetical and physicochemical diversity among twelve Brazilian cultivars of cashew (*Anacardium occidentale*). **Act. Bot. Mex.**, Pátzcuaro, n. 128, e1775, 2021. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-71512021000100125&lng=es&nrm=iso. Acesso em: 23 nov. 2023.

LEVI, A. *et al.* Low genetic diversity indicates the need to broaden the genetic base of cultivated watermelon. **HortScience**, v. 36, n. 6, p. 1096-1101, 2001.

LIRA, I. C. S. A. *et al.* Seleção intra-populacional em bucha vegetal. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. S4406-S4413, 2012.

LORENZONI, Rodrigo Monte *et al.* Utilização de marcadores ISSR na avaliação da divergência genética entre acessos de biribazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 251-257, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/xLx4PZF9Mm6sWx6SR8VktJB/>. Acesso em: 27 out. 2023.

SILVA, M. L. **Avaliação molecular da variabilidade genética do banco ativo de germoplasma de melancia do Nordeste brasileiro**. 2010. 161f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife/PE, 2010.

MAZALI, I. O.; ALVES, O. L. Morphosynthesis: high fidelity inorganic replica of the fibrous network of loofa sponge (*Luffa cylindrica*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 1, p. 25-31, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/fPFM4LrBq6QfgGv8ZvwFXSR/?lang=en>. Acesso em: 14 out. 2023.

MEDEIROS, I. L.; BROGIN, B.; MERINO, E. A. D.; BRAVIANO, G.; BATISTA, V. Avaliação Ergonômica do Desconforto Muscular causado pelo uso de Cadeira de Rodas. **Human Factors in Design**, Florianópolis, v. 4, n. 8, p. 095–111, 2015. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/hfd/article/view/6642>. Acesso em: 25 set. 2023.

Medeiros, M. G. **Caracterização e avaliação de acessos de bucha vegetal**. 2015. 75p. Dissertação (Mestre em agronomia: fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2015.

NASS, L. L. (org.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

OBOH, I. O. *et al.* *Luffa cylindrica*-an emerging cash crop. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 8, p. 684-688, 2009. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-full-text-pdf/7F7A6C137750>. Acesso em: 19 jul. 2022.

OLIVEIRA, E. C.; TEODORO, E. B. Avaliação do desempenho acústico da luffa cylindrica (bucha vegetal), por meio de análises experimentais em tubo de impedância. 15° POSMEC-Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica. **Anais...** Universidade Federal de Uberlândia, 7p, 2005.

OLIVEIRA, M. C. S. *et al.* Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase. 1 ed. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007.

PARTAP, Sangh *et al.* Luffa Cylindrica: An important medicinal plant. **Journal of Natural Product and Plant Resources**, v. 2, n. 1, p. 127-134, 2012. Disponível em: https://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture/Culture-plantes-alimentaires/FICHES_PLANTES/luffa/Luffa%20Cylindrica_An%20important%20medicinal%20plant.pdf. Acesso em: 15 set. 2022

PATTO, MC Vaz *et al.* Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, v. 137, p. 63-72, 2004.

PAULA, Edgley Alves de Oliveira. **Uso da bucha vegetal (Luffa cylindrica) como reforço em compósitos com resina de poliéster**. 2022. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró- RN, 2022.

PÉREZ BEJARANO, N. M. *et al.* Effectiveness of the loofa (*Luffa cylindrica*. L Roem) brush in the supragingival plaque removal. Paraguay, 2010. **Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud**, v. 9, n. 2, p. 05-14, 2011. Disponível em: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1812-95282011000200002&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 14 fev. 2023.

RAMOS, Semíramis RR *et al.* Divergência genética em germoplasma de abóbora procedente de diferentes áreas do Nordeste. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 195-199, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/C3bnYMB7PVjKgRd44m6z54L/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 23 nov. 2023.

RIBEIRO, I. C. N. S. **Análise da divergência genética em acessos de *Mangifera indica* com base em descritores agro-morfológicos e marcadores microssatélites**. 2011. 113f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA, 2011.

SILVA, M. W. K. P.; RANIL, R. H. G.; FONSEKA, R. M. *Luffa cylindrica* (L.) M. Roemer (Sponge Gourd-Niyam wetakolu): An emerging high potential underutilized cucurbit. **Tropical Agricultural Research**, v. 23, n. 2, p. 186-191, 2012.

SILVA, M. L.; QUEIROZ, M. A.; FERRERIA, M. A. J. F.; BENKO-ISEPPOM, A. M. Caracterização molecular por ISSR de acessos de melancia do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. S4445-S4451, jul. 2012. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/935172>. Acesso em: 25 jan. 2024.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. *Luffa cylindrica* as a lignocellulosic source of fiber, microfibrillated cellulose and cellulose nanocrystals. **BioResources**, v. 5, n. 2, p. 727-740, 2010.

SNAFI, A. L. Ali Esmail. Constituents and pharmacology of *Luffa cylindrica*-A review. **IOSR Journal of Pharmacy**, v. 9, n. 9, p. 68-79, 2019.

SOKAL, R. R. The principles and practice of statistics in biological research. **Biometry**, p. 451-554, 1995.

TYAGI, R. *et al.* Deciphering population structure and diversity in *Luffa cylindrica* (L.) M. Roem. using morphological and sequence-related amplified polymorphism markers. **Plant Genetic Resources**, v. 14, n. 3, p. 234-237, 2016.

ZHANG, S.; HU, J.; XU, S. Developmental genetic analysis of fruit shape traits under different environmental conditions in sponge gourd (*Luffa cylindrical* (L) Roem. Violales, Cucurbitaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 708-710, 2008. Disponível em: . Acesso em: 23 out. 2023.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n. 2, p. 176-183, 1994.