

Caracterização molecular de etnovariedades de *Manihot esculenta* Crantz com utilização de marcadores moleculares ISSR

Molecular characterization of landraces of *Manihot esculenta* Crantz using ISSR molecular markers

Giovana Cuchi^{1*}, Elisa dos Santos Cardoso¹, Eliane Cristina Moreno de Pedri¹, Auana Vicente Tiago¹, Kelli Évelin Müller Zortéa¹, Ana Aparecida Bandini Rossi¹

RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta*) é amplamente distribuída no Brasil, nas roças encontram-se plantas com características diferentes que são mantidas e propagadas entre os agricultores. Levando em consideração a diversidade de etnovariedades encontrada, esse trabalho teve como objetivo realizar a caracterização molecular de etnovariedades de mandioca cultivadas no município de Paranaíta - MT, utilizando *primers* ISSR. O material foliar foi coletado em oito propriedades de Paranaíta. A extração de DNA foi realizada por meio do método CTAB e as amostras amplificadas via PCR. Foram utilizados 14 *primers* ISSR que após análise estatística foram classificados como moderadamente informativos. A comparação entre as informações cedidas pelos produtores e as distâncias genéticas entre as etnovariedades, permite inferir que a diversidade entre as mesmas está relacionada a história evolutiva da espécie. Os métodos de agrupamento utilizados indicam que dentre as etnovariedades analisadas, duas apresentaram potencial para estudos futuros por serem mais distantes geneticamente entre as demais.

Palavras-chave: Diversidade genética; Mandioca; Marcadores dominantes.

ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta*) is widely distributed in Brazil, there are plants in the farms with different characteristics that are maintained and propagated among farmers. Taking into account the diversity of cassava landraces found in Brazil, this study aimed to perform the molecular characterization of cassava landraces cultivated in the municipality of Paranaíta, Mato Grosso state, Brazil using ISSR primers. Leaf material was collected in eight properties located in the municipality of Paranaíta. DNA extraction was performed using the CTAB method and the samples were amplified by PCR. A total of 14 ISSR primers were used, and after statistical analysis, they were classified as moderately informative. The comparison between the information provided by the farmers and the genetic distances among the landraces, allows us to infer that the diversity among them is related to the evolutionary history of the species. The clustering methods used indicate that two landraces presented potential for future studies, once they were more genetically distant from the others.

Keywords: Genetic diversity; Cassava; Dominant markers.

¹ Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
*E-mail: giovanacuchi@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A espécie *Manihot esculenta* Crantz é um arbusto pertencente à família Euphorbiaceae. Seu nome popular pode variar de acordo com a região brasileira de cultivo, sendo que os principais nomes são: mandioca (centro-oeste, norte e nordeste), macaxeira (norte e nordeste) e aipim (sudeste) (MARTINS et al. 2022; OLIVEIRA; BABINI, 2016). A espécie é nativa da América do Sul (ALLEM, 2002; FUKUDA et al., 1996) e, segundo estudos de Candolle (2012) sobre os locais de origem das plantas cultivadas, o Brasil é, possivelmente, o principal polo de origem da mandioca.

Segundo Cock (1982), a mandioca é facilmente cultivada, sua produção é de baixo custo e proporciona um alto rendimento, o que está relacionado a sua utilização tanto para a nutrição humana quanto de animais. A espécie é comumente cultivada na região sul da Amazônia, não só nas roças, para fins comerciais, mas também em quintais urbanos e rurais, como forma de complementar ou até mesmo assegurar a alimentação do núcleo familiar (DARDENGO et al., 2022; GERVAZIO et al. 2022; ZORTEA et al., 2018).

Segundo dados do IBGE (2022), a produção da mandioca no Brasil, foi de 18.065.373 megagramas até maio de 2022, enquanto que no Mato Grosso, foi de 270.347 megagramas. Ainda de acordo com o IBGE (2022), os cinco estados com maior produção de mandioca nesse mesmo ano foram Pará, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Bahia.

O cultivo da mandioca é realizado, comumente, por agricultores familiares e o material de propagação provém de diferentes regiões, por meio das redes de circulação das manivas nas comunidades (EMPERAIRE; PERONI, 2007). A troca de manivas, a seleção e a reprodução sexuada, ainda presente na mandioca (SILVA et al., 2001), são essenciais na promoção da variabilidade e diversidade genética da espécie, estando, portanto, relacionada aos processos evolutivos (FIGUEREDO et al., 2019; MARTINS, 2005) que dão origem as etnovariedades.

O termo etnovariedades (em inglês, *landraces*), segundo Zeven (1998), se refere às plantas que foram domesticadas, propagadas e selecionadas pelos agricultores por que já apresentavam características de interesse, tanto aquelas presentes na espécie não domesticada quanto as que vieram a surgir naturalmente ao longo dos séculos de cultivo.

Dentre os marcadores moleculares baseados na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), os *primers* do tipo ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) têm sido indicados para

analisar a diversidade genética das etnovariedades de mandioca. Além de possibilitarem a análise de locos múltiplos em uma única reação, promovem a identificação da variação genética entre etnovariedades e apresentam eficácia abrangente na identificação de variabilidade genética intra e interespecífica do gênero *Manihot* (MIRANDA et al., 2015; PRECZENHAK, 2013; SILVA et al., 2011; TIAGO et al., 2016).

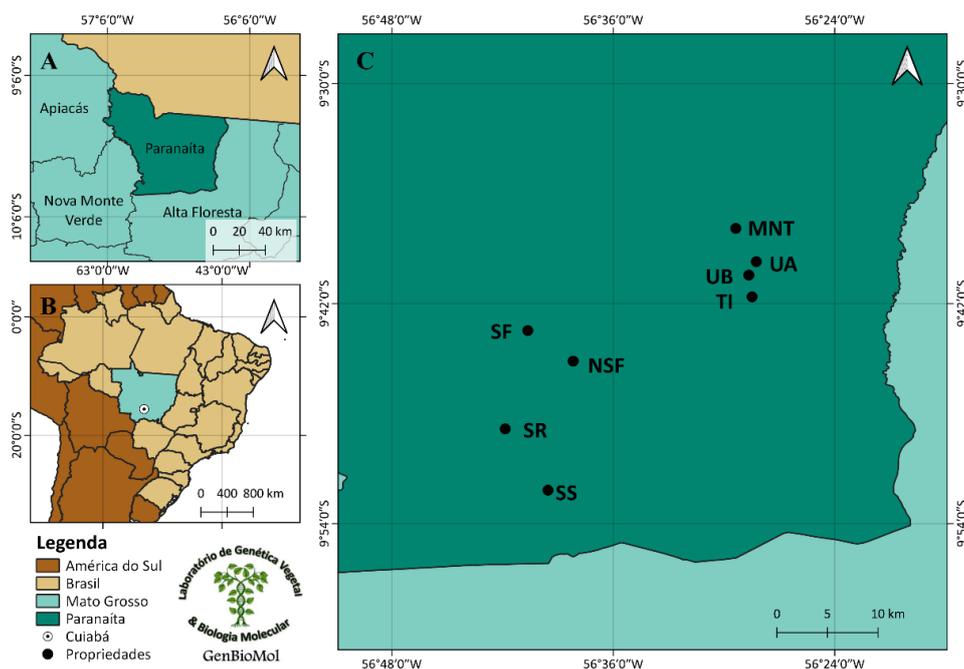
Visto que a espécie *Manihot esculenta* possui uma vasta quantidade de etnovariedades produzidas no território brasileiro, e que, dentre estas, podem haver características de interesse para o melhoramento genético, este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização molecular e avaliar a diversidade genética entre 19 etnovariedades de mandioca coletadas no município de Paranaíta – MT, utilizando *primers* ISSR.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de coleta

A área de estudo é o município de Paranaíta (Figura 1), situado ao extremo norte do estado de Mato Grosso, entre as coordenadas geográficas de 9°40'29.4" S e 56°28'36.0" W, com área de 4.814,149 km² e população estimada em 11.291 habitantes (IBGE, 2021).

Figura 1 - Localização e identificação das oito propriedades de coleta do material foliar das 19 etnovariedades de mandioca no município de Paranaíta, Mato Grosso, Brasil, 2021.



MNT=Maranata; UA=Urbana A; UB= Urbana B; TI= Três Irmãos; SF= São Francisco; NSF= Nossa Senhora de Fátima; SR= Sonho Realizado; SS= São Sebastião.

Fonte: Elaborado pelos autores

Segundo Alvares et al. (2013), a região apresenta clima tropical de monção (Am), alcançando índices pluviométricos de até 3.000 mm anuais e temperatura média anual de 22 a 26 °C. Os tipos de solo predominantes na região são Podzólico Vermelho-Amarelo Álico e Podzólico Vermelho-Amarelo Distrófico (SEPLAN, 2001).

Para realização do estudo, as visitas às propriedades foram realizadas utilizando a amostragem em bola de neve (VINUTO, 2014). Foram visitadas oito propriedades (cinco na região rural e três na região urbana) e, durante as visitas, também foram obtidas algumas informações junto aos produtores, tais como: nome da propriedade, quantas e quais os nomes das etnovariedades produzidas no local e origem das manivas.

Coleta do material botânico

Foram coletadas folhas jovens e saudáveis de 19 etnovariedades de mandioca cultivadas em Paranaíta (Tabela 1), as mesmas foram acondicionadas em envelopes de papel alumínio devidamente identificados, armazenadas e transportadas em caixa térmica com gelo para o Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol) no CEPTAM (Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional), localizado na

Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus Universitário de Alta Floresta, onde foram armazenadas a -20 °C até sua utilização.

As etnovariedades que os produtores não souberam nomear foram rotuladas como “não identificada” e, após triagem do material, foram nomeadas de acordo com características morfológicas de destaque. As etnovariedades inicialmente não identificadas são: PTA03 (Folha fina), PTA05 (Folha larga) e PTA11 (Talo verde).

Tabela 1 - Etnovariedades de mandioca coletadas no município de Paranaíta, Mato Grosso, Brasil.

Sigla	Etnovariedade	Propriedade	Origem das manivas¹
PTA01	<i>Cacau 1</i>	Sonho Realizado (SR)	PTA
PTA02	<i>Amarelinha</i>	Sonho Realizado (SR)	PTA
PTA03	<i>Folha fina</i>	Sonho Realizado (SR)	PTA
PTA04	<i>Vassourinha branca</i>	Nossa Senhora de Fátima (NSF)	PTA
PTA05	<i>Folha larga</i>	Nossa Senhora de Fátima (NSF)	CLD
PTA06	<i>Cacau 2</i>	Nossa Senhora de Fátima (NSF)	DSC
PTA07	<i>Vassourinha amarela</i>	São Sebastião (SS)	PTA
PTA08	<i>Sempre pronta</i>	Três Irmãos (TI)	SC
PTA09	<i>Cacau talo branco</i>	Três Irmãos (TI)	PTA
PTA10	<i>Cacau talo roxo</i>	Três Irmãos (TI)	PTA
PTA11	<i>Talo verde</i>	Três Irmãos (TI)	PR
PTA12	<i>Talo roxo</i>	São Francisco (SF)	PTA
PTA13	<i>Branca</i>	São Francisco (SF)	PTA
PTA14	<i>Cacau legítima</i>	Urbana A (UA)	PTA
PTA15	<i>Talo vermelho</i>	Urbana B (UB)	PTA
PTA16	<i>Talo branco</i>	Urbana B (UB)	DSC
PTA17	<i>Amarela 1</i>	Maranata (MNT)	PR
PTA18	<i>Matrinxã</i>	Maranata (MNT)	PTA
PTA19	<i>Amarela 2</i>	Maranata (MNT)	PTA

¹Local de aquisição das manivas para plantio. PTA=Paranaíta; CLD= Carlinda; DSC= Desconhecida; SC= Santa Catarina; PR= Paraná. Fonte: Elaborado pelos autores.

Extração de DNA

O DNA das folhas de mandioca foi extraído utilizando o método CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*), protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações propostas por Tiago et al. (2016), sendo estas: acréscimo de polivinilpirrolidona (PVP) na concentração de 1%; aumento nas concentrações de CTAB

de 2% para 3%, de β -mercaptoetanol de 0,2% para 2% no tampão de extração e aumento na temperatura de incubação de 60°C para 65°C, por 30 minutos.

A qualidade e integridade do DNA extraído foram avaliadas em eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio (10 mg ml⁻¹), em cuba horizontal de eletroforese contendo solução tampão TBE 1X. Os géis foram visualizados, fotografados e editados em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e software L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®), respectivamente. A quantificação desse mesmo material, por sua vez, foi realizada utilizando Microspectrofotômetro ND-3800-OD Hercuvan®. Posteriormente, foi feita a diluição do DNA extraído para padronização à 10 ng μ l⁻¹.

Seleção de *primers* e reação de amplificação via PCR

Foram testados 15 *primers* ISSR, dos quais foram selecionados para realização das análises posteriores, os 14 *primers* que apresentaram melhores resultados em polimorfismo e número de fragmentos amplificados (Tabela 2).

Tabela 2 - *Primers* ISSR utilizados para a caracterização molecular nas 19 etnovarietades de mandioca coletadas no município de Paranaíta, Mato Grosso, Brasil.

Nome do <i>primer</i>	Sequência do <i>primer</i> (5'----3')	TA (°C) ¹
TriGTG	GTGGTGGTGGTGGTG	58,9
UBC 807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	47,0
UBC 808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	48,8
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52,8
UBC 815	CTCTCTCTCTCTCTG	52,8
UBC 828	TGTGTGTGTGTGTGTGA	51,3
UBC 835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC*	51,0
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT*	47,4
UBC 844	CTCTCTCTCTCTCTRC	48,6
UBC 856	ACACACACACACACACYA*	51,0
UBC 857	ACACACACACACACACYG*	52,0
UBC 868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	50,0
UBC 888	BDBCACACACACACA	49,0
UBC 891	HVHTGTGTGTGTGTGTG	47,0

*Y = C ou T; R = A ou G; V = A, C ou G; H = A, C ou T. ¹Temperatura de Anelamento.

Fonte: Elaborado pelos autores.

As amplificações via PCR foram realizadas conforme proposto por Tiago et al. (2016) em um volume final de 20 µl, contendo: 4,6 µl de H₂O mili-Q®, 2 µl de tampão 10X (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 1M MgCl₂; 10% Tween 20), 4 mM de MgCl₂, 0,3 µM de *primer*, 0,2 mM de cada dNTP, 1 µl DMSO, 1 U de Taq polimerase e 20 ng de DNA.

As reações foram conduzidas em termociclador, utilizando o programa proposto por Silva et al. (2011), com desnaturação inicial a 94 °C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos com desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 47,0 – 58,9 °C (dependendo do *primer* utilizado) por 35 segundos e extensão a 72 °C por 2 minutos, enquanto a extensão final foi realizada à 72°C por 7 minutos.

Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose 1,5%, posteriormente, corado em solução de brometo de etídio (0,6 µg ml⁻¹), visualizado, fotografado e editado em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e software L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®), respectivamente. A identificação dos fragmentos amplificados foi obtida por comparação com o marcador Kappa Universal Ladder, sendo considerados para análise estatística apenas os fragmentos mais consistentes e evidentes.

Análise estatística

A partir da análise visual dos géis de amplificação, foi construída uma matriz binária de presença (1) e ausência (0) dos fragmentos amplificados, sendo esta matriz utilizada para as análises estatísticas posteriores. O percentual de polimorfismo foi obtido com base na equação:

$$P = \frac{nbp}{nbt} \times 100$$

Onde: P = porcentagem de polimorfismo; nbp = número de bandas (fragmentos) polimórficas e nbt = número de bandas (fragmentos) total.

Para determinar a eficiência em detectar polimorfismos, foi calculado o conteúdo de informação polimórfica (PIC - *polymorphism information content*) de cada *primer*, através do número de alelos amplificados e a frequência dos mesmos, conforme proposto por Hoffmann e Barroso (2006), e determinado pela equação:

$$PIC = 1 - \sum_{j=1}^n f_i^2$$

Onde: f_i = frequência do i ésimo alelo.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Genes (CRUZ, 2016), dentre elas, o número mínimo de fragmentos amplificados necessários para o estudo de diversidade genética das etnovariedades. Tal valor foi identificado por meio da análise de correlação entre as matrizes de dissimilaridade genética original e simulada, bem como avaliando o ajuste entre essas matrizes, indicado pelo valor do estresse.

A dissimilaridade genética entre pares de indivíduos foi estimada por meio do coeficiente de Jaccard, utilizando o índice de complemento aritmético. O coeficiente de Jaccard permite a comparação entre o número de presença de fragmentos comuns e o número total de fragmentos envolvidos, excluindo o número de ausência conjunta (MEYER et al., 2004):

$$D_{ij} = 1 - S_{ij} \text{ sendo que } S_{ij} = \frac{a}{a+b+c}$$

Onde: a = número de casos em que ocorre a presença do fragmento em ambos os indivíduos; b = número de casos em que ocorre a presença do fragmento somente no indivíduo i e c = número de casos em que ocorre a presença do fragmento somente no indivíduo j .

A matriz de distância genética gerada pelo complemento de Jaccard, foi utilizada para realizar a análise de agrupamento pelos métodos hierárquicos UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*), Vizinho mais Próximo (VP), WARD e método de otimização de Tocher. Para todos os métodos de agrupamento hierárquico, foram calculados o Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), estresse e distorção, para assim, selecionar o melhor método que melhor explique a divergência genética do material em estudo.

O software Structure (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000), baseado em análise bayesiana, foi utilizado para inferir sobre a estrutura genética entre as etnovariedades avaliadas, sendo estas consideradas uma população. As análises foram realizadas em 20 repetições para cada um dos 4 valores de K , com um burn-in de 200.000 e 500.000 simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC). O melhor K foi identificado utilizando método ΔK (EVANNO; REGNAUT; GOUDET, 2005), com auxílio do programa *web-based* Structure Harvester (EARL; VONHOLDT, 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amplificados um total de 153 fragmentos, dos quais, 92 (60,13%) apresentaram-se polimórficos, com valor médio de 6,57 por *primer* (Tabela 3).

Tabela 3 - *Primers* ISSR utilizados, número total de fragmentos amplificados (NTF), número de fragmentos polimórficos (NFP), percentagem de polimorfismo (%P), índice de conteúdo polimórfico (PIC).

<i>Primer</i>	NTF	NFP	%P	PIC
TriGTG	14	10	71,43	0,51
UBC 807	15	12	80,00	0,52
UBC 808	9	6	66,67	0,47
UBC 811	15	11	73,33	0,42
UBC 815	10	7	70,00	0,39
UBC 828	10	5	50,00	0,34
UBC 835	15	9	60,00	0,34
UBC 840	9	5	55,56	0,39
UBC 844	9	3	33,33	0,20
UBC 856	7	5	71,43	0,17
UBC 857	7	3	42,86	0,13
UBC 868	10	3	30,00	0,14
UBC 888	12	8	66,67	0,27
UBC 891	11	5	45,45	0,30
Total	153	92	60,13	---
Média	10,92	6,57	58,34	0,33

Fonte: Elaborado pelos autores.

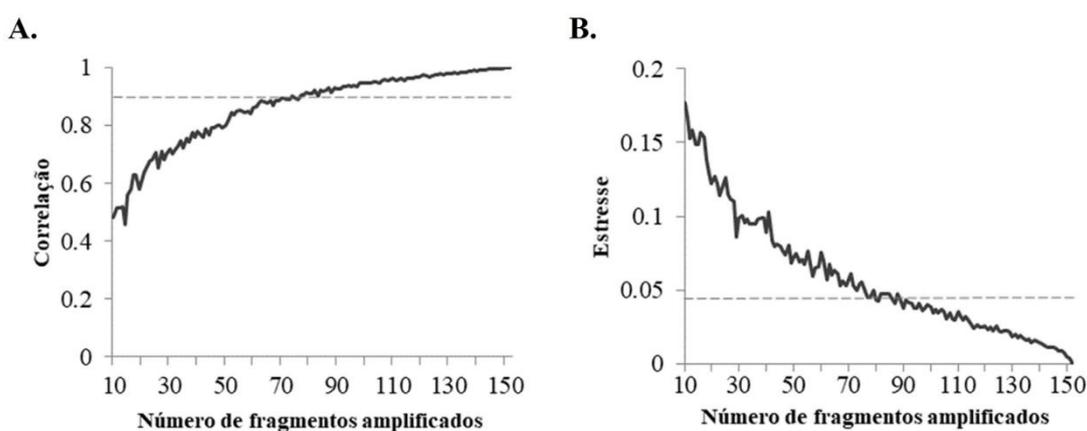
Valores muito semelhantes foram observados por Tiago et al. (2016) que, ao trabalharem com 17 etnovariedades e 15 *primers* ISSR, encontraram um polimorfismo total de 61,67%.

Os *primers* utilizados apresentaram um valor médio de PIC de 0,33, variando entre 0,14 (UBC 868) e 0,52 (UBC 807) (Tabela 3). Segundo Botstein et al. (1980), valores de PIC entre 0,25 e 0,50 classificam os *primers* como moderadamente informativos, enquanto valores acima de 0,50 são classificados como muito informativos e os abaixo de 0,25 como pouco informativos. Considerando os resultados obtidos, é possível afirmar que o conjunto de *primers* testado foi eficiente em detectar polimorfismo entre as etnovariedades estudadas e apresenta potencial para estudos futuros com a espécie, embora os *primers* UBC 844, UBC 856, UBC 857 e UBC 868 tenham sido classificados como pouco informativos.

A eficiência do *primer* UBC 807 em detectar o polimorfismo entre etnovariedades de mandioca também foi verificada por Figueredo et al. (2019) e Tiago et al. (2016), onde os valores de PIC foram, respectivamente, 0,56 e 0,57. Os mesmos autores obtiveram resultados distintos com o *primer* TriGTG, que se apresentou como moderadamente informativo, enquanto neste estudo foi classificado como altamente informativo.

O número mínimo de fragmentos amplificados necessários para realizar, de forma confiável, a análise da diversidade genética entre as etnovariedades estudadas, foi de 80 fragmentos, com valores de correlação e estresse de 0,913 e 0,049, respectivamente. O número de fragmentos amplificados neste estudo (153) está acima do valor mínimo necessário (80) (Figura 2), demonstrando a confiabilidade dos resultados obtidos, uma vez que, segundo Kruskal (1964), se os valores de estresse apresentados são iguais ou menores que 0,05 os dados apresentados são suficientes para as análises.

Figura 2 - Estimativas das correlações entre as similaridades genéticas para números crescentes de *primers* ISSR polimórficos (A) e valores de estresse, que indicam o número mínimo ideal de fragmentos (80 fragmentos) para as análises genéticas das 19 etnovariedades de mandioca (B).



Fonte: Elaborado pelos autores.

A dissimilaridade genética calculada pelo complemento de Jaccard apontou que as etnovariedades mais divergentes entre si foram PTA03 e PTA18 (*Folha fina* e *Matrinxã*, respectivamente), enquanto as com maior similaridade entre si foram PTA17 e PTA19 (*Amarela 1* e *Amarela 2*, respectivamente) (Tabela 4).

Tabela 4 - Separação dos cinco principais pares de etnovariedades com maior e menor similaridade e suas, respectivas, distâncias genéticas.

	Etnovariedades	Distância genética
Menos similares	PTA03 e PTA18	0,399

	PTA03 e PTA07	0,388
	PTA03 e PTA10	0,374
	PTA03 e PTA13	0,370
	PTA03 e PTA15	0,370
Mais similares	PTA17 e PTA19	0,062
	PTA10 e PTA14	0,073
	PTA12 e PTA17	0,076
	PTA12 e PTA19	0,109
	PTA09 e PTA10	0,119

Fonte: Elaborado pelos autores.

Nas análises não foram encontrados dados de dissimilaridade igual a 0, esse resultado indica que não há clones entre o material coletado, ou seja, não foi identificada duplicidade entre o material coletado.

Os valores de CCC, estresse e distorção para os métodos hierárquicos UPGMA, Vizinho mais Próximo e WARD (Tabela 5), indicam que o método UPGMA é o que apresenta melhor ajuste entre a matriz de dissimilaridade (complemento de Jaccard) e a matriz cofenética, sendo, portanto, escolhido para representar os agrupamentos genéticos entre as etnovarietades estudadas.

Tabela 5. Comparação entre os valores de CCC, estresse e distorção para os métodos de agrupamento UPGMA, Vizinho mais próximo e Ward.

Métodos de agrupamento	CCC	Estresse (%)	Distorção (%)
UPGMA	0,8559	11,6847	1,3667
Vizinho mais próximo	0,7818	25,123	38,8551
Ward	0,5228	-	-

Fonte: Elaborado pelos autores.

De acordo com Rohlf (1970), se o CCC for menor que 0,7 há maiores chances de que o método seja inadequado e que quanto mais acima dessa margem o CCC estiver, menores são as chances de que o método cause distorções. Quanto menores os valores para distorção e estresse, maior a consistência dos agrupamentos, sendo que, segundo Kruskal (1964), os valores de estresse que entre 10% e 20% são considerados justos.

Resultados de CCC superiores à 0,80 para o método UPGMA também são apresentados nos trabalhos de Pedri et al. (2019) e Figueredo et al. (2019) para a mesma espécie. Os valores de CCC obtidos por Cardoso et al. (2020) e Zanetti (2020) para as espécies *Zingiber officinale* e *Ochroma pyramidale*, respectivamente, também são favoráveis para UPGMA (0,82 e 0,85) em comparação aos métodos do Vizinho mais

de mandioca segundo bases moleculares com quatorze (14) *primers* ISSR utilizando a análise bayesiana.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Constata-se que, pelo método UPGMA, a maior parte das etnovariedades pertence ao GI, composto por 17 etnovariedades (89,47%). Nesse agrupamento podemos destacar duas etnovariedades, PTA17 (*Amarela 1*) e PTA19 (*Amarela 2*), que, embora cultivadas no mesmo local e com mesma denominação, apresentam locais de origem das manivas diferentes (Tabela 1), o que permite inferir que a dissimilaridade genética entre elas está relacionada à história evolutiva da espécie.

As etnovariedades PTA15 (*Talo vermelho*) e PTA03 (*Folha fina*), por sua vez, formaram os agrupamentos individuais GII e GIII, respectivamente, expressando a dissimilaridade das mesmas entre si. Contudo, conservam certo grau de similaridade para com as etnovariedades do agrupamento GI do mesmo método, uma vez que, pela análise bayesiana, compõem o grupo representado pela cor verde, onde também estão 76,47% das etnovariedades do GI (UPGMA).

Além do agrupamento pelo método UPGMA e a análise bayesiana, os agrupamentos genéticos também foram estimados pelo método de otimização de Tocher (Tabela 6), que confirma os resultados obtidos pelo método UPGMA, apresentando a organização das 19 etnovariedades em 3 grupos, onde PTA15 e PTA03 também estão formando grupos individuais (Grupos II e III) e as 17 outras etnovariedades representam o grupo principal I.

Tabela 6 - Agrupamento pelo método Tocher, baseado na matriz de dissimilaridade de Jaccard a partir da análise molecular por meio dos *primers* ISSR das 19 etnovariedades de mandioca.

Grupos	Etnovariedades
I	PTA17; PTA19; PTA12; PTA06; PTA08; PTA14; PTA10; PTA09; PTA05; PTA13; PTA18; PTA11; PTA07; PTA16; PTA02; PTA01; PTA04
II	PTA15
III	PTA03

Fonte: Elaborado pelos autores.

Mesmo que a propagação da mandioca seja feita de forma vegetativa pelos agricultores familiares, a espécie ainda mantém ativa sua reprodução sexual (MARTINS, 2005). A reprodução sexual favorece o surgimento de mutações que permitem a variabilidade genética o que pode estar associado às diferenças intraespecíficas das etnovariedades de mandioca.

Os resultados apresentados sugerem que a tanto a seleção feita pelos produtores tradicionais quanto a reprodução natural da espécie são de grande importância, já que as etnovariedades são fonte de variabilidade genética, e, conseqüentemente, de características de interesse para o consumo (pelos próprios produtores), interesse econômico e também para estudos de melhoramento genético da espécie.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há diversidade genética entre as etnovariedades de mandioca avaliadas, sendo que dentre elas, PTA03 e PTA15, apresentam maior potencial para estudos futuros, por serem as mais dissimilares geneticamente, demonstrando que tanto a troca de manivas quanto a reprodução sexual estão associadas à origem, aumento e manutenção da diversidade genética entre etnovariedades de mandioca.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol), ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PROBIC) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela bolsa de iniciação científica (PROBIC/UNEMAT 2020/2021) oferecida à primeira autora durante a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEM, A. C. The Origins and Taxonomy of Cassava. In: HILLOCKS, R. J.; THRESH, J. M.; BELLOTTI, A. C. (Eds). **Cassava: Biology, Production and Utilization**. 2002. p. 1–16. DOI: 10.1079/9780851995243.0001

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013. DOI: 10.1127/0941-2948/2013/0507
- BOTSTEIN, D. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p. 314–331, 1980. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686077/>>. Acesso em: 12 jul. 2022.
- CANDOLLE, A. Plants cultivated for their subterranean parts, such as roots, tubercles, or bulbs. In: **The Origin of Cultivated Plants**. Cambridge University Press, 2012. p. 29–82. DOI: 10.1017/CBO9781139107365.004
- CARDOSO, E. S. et al. Genetic diversity of *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) germplasm grown in urban and rural backyards in Mato Grosso, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 2, p. 1–12, 2020. DOI: 10.4238/gmr18576
- COCK, J. H. Cassava: A basic energy source in the tropics. **Science**, v. 218, p. 755–762, 1982. DOI: 10.1126/science.7134971
- CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 547–552, 2016. DOI: 10.4025/actasciagron.v38i4.32629
- DARDENGO, J. et al. Agrobiodiversidade em quintais agroflorestais no norte de Mato Grosso. **Brazilian Journal of Development**, v.8, n.1, p. 2578-2593, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n1-167
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11–15, 1987.
- EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. Structure Harvester: A website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p. 359–361, 2012. DOI: 10.1007/s12686-011-9548-7
- EMPERAIRE, L.; PERONI, N. Traditional management of agrobiodiversity in Brazil: A case study of Manioc. **Human Ecology**, v. 35, n. 6, p. 761–768, 2007. DOI: 10.1007/s10745-007-9121-x
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: A simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611–2620, 2005. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- FIGUEREDO, P. E. et al. Diversidade genética de mandiocas na região periurbana de Sinop, Mato Grosso, Brasil. **Magistra**, v. 30, p. 143–153, 2019. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1113281>>. Acesso em: 12 jul. 2022.
- FUKUDA, W. M. G. et al. **Banco de germoplasma de mandioca: manejo, conservação e caracterização**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP. 1996. p. 103. (Documentos, 68). Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/641470>>. Acesso em: 12 jul. 2022.

GERVAZIO, W. et al. Quintais agroflorestais urbanos no sul da Amazônia: os guardiões da agrobiodiversidade?. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 1, p. 163-186, 2022. DOI: 10.5902/1980509843611

HAIR JUNIOR, J. F. et al. **Análise multivariada de dados**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 688 p. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/9788577805341>>. Acesso em: 11 jul. 2022.

HOFFMANN, L. V.; BARROSO, P. A. V. **Marcadores Moleculares como Ferramentas para Estudos de Genética de Plantas**. Campina Grande: Embrapa Algodão. 2006. p. 35. (Documentos, 147). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/18326/1/DOC147.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cidades: Paranaíta**, 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/paranaita/panorama>>. Acesso em: 12 jun. 2022.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático de Produção Agrícola (SIDRA)**, 2022. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em: 12 jun. 2022.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, n. 1, p. 1–27, 1964. DOI: 10.1007/BF02289565

MARTINS, E.; MACHADO, G. Análise do uso de diversas funções de similaridade no agrupamento de casos de teste baseados em modelos de estado. In: WORKSHOP DE TESTES E TOLERÂNCIA A FALHAS (WTF), 19., 2018, Campos do Jordão. **Anais [...]**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Computação, 2018. Disponível em: <<https://sol.sbc.org.br/index.php/wtf/article/view/2389>>. Acesso em: 11 jul. 2022.

MARTINS, M. L. L. et al. *Manihot* In **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17600>>. Acesso em: 12 jun. 2022.

MARTINS, P. S. Dinâmica evolutiva em roças de caboclos amazônicos. **Estudos avançados**, v. 19, p. 209-220, 2005. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/eav/article/view/10055>>. Acesso em: 23 jun. 2022.

MEYER, A. S. et al. Comparison of similarity coefficients used for cluster analysis with dominant markers in maize (*Zea mays* L). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 83–91, 2004. DOI: 10.1590/S1415-47572004000100014

MIRANDA, C. M. et al. **Fingerprint de Variedades Elites de Mandioca via Marcadores ISSR**. In: Congresso brasileiro de mandioca, 16. Congresso Latino-

- Americano e Caribenho de Mandioca, 2015, Foz do Iguaçu. Integração: segurança alimentar e geração de renda. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBM, 2015. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1038497>>. Acesso em: 24 jun. 2022.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977. DOI: 10.1093/comjnl/20.4.359
- OLIVEIRA, S. C.; BABINI, M. A Terminologia da Macaxeira: Constituição de um *corpus*. v. 15, p. 32–44, 2016. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/riterm/article/download/64323/pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2022.
- PEDRI, E. C. M. et al. Genetic diversity of cassava landraces cultivated in northern Mato Grosso State, Brazil, using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 3, p. 1–11, 2019. DOI: 10.4238/gmr18315
- PRECZENHAK, A. P. **Diversidade Genética Estimada por meio de Marcadores Moleculares e Morfoagronômicos em Acessos de Mini-Tomate**. 2013. 67 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945–959, 2000. DOI: 10.1093/genetics/155.2.945
- ROHLF, F. J. Adaptive Hierarchical Clustering Schemes. **Systematic Zoology**, v. 19, n. 1, p. 58–82, 1970. DOI: 10.2307/2412027
- SEPLAN. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral. **Mapa de Solos do Estado de Mato Grosso**, 2001. 1 mapa. Escala: 1:1.500.000. Disponível em: <<http://geoportal.seplan.mt.gov.br/metadados/srv/api/records/4e880b8e-070e-48d2-8ad4-b97febc4399f/attachments/DSEE-PD-RT-004-A001.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2022.
- SILVA, A. R. da. **Métodos de agrupamento: avaliação e aplicação ao estudo de divergência genética em acessos de alho**. 2012. 67 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.
- SILVA, K. V. P. et al. Variabilidade genética entre acessos do gênero *Manihot* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1082–1088, 2011. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000900016
- SILVA, R. M. et al. Biologia reprodutiva de etnovarietades de mandioca. **Scientia Agricola**, v.58, n. 1, p.101-110, 2001. DOI: 10.1590/S0103-90162001000100016
- TIAGO, A. V. et al. Genetic diversity in cassava landraces grown on farms in Alta Floresta-MT, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 3, p. 1–10, 2016. DOI: 10.4238/gmr.15038615

VINUTO, J. A amostragem em bola de neve na pesquisa qualitativa: um debate em aberto. **Temáticas**, v. 22, n. 44, p. 203–220, 2014. DOI: 10.20396/temáticas.v22i44.10977

ZANETTI, G. T. **Aspectos reprodutivos e diversidade genética de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale* Cav. ex Lam. Urb., Malvaceae)**. 2020. 89 f. Dissertação (Mestrado). Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Sinop, 2020. Disponível em: <[http://portal.unemat.br/media/files/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20G%C3%A9ssica%20Tais%20Zanetti%20\(1\).pdf](http://portal.unemat.br/media/files/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20G%C3%A9ssica%20Tais%20Zanetti%20(1).pdf)>. Acesso em: 12 jul. 2022.

ZEVEN, A. C. Landraces: A review of definitions and classifications. **Euphytica**, v. 104, p. 127–139, 1998. DOI: 10.1023/A:1018683119237

ZORTEA, M. et al. Quintais agroflorestais urbanos: refúgio de resiliência?. **Educação Ambiental em Ação**, v. 17, n. 66, 2018. Disponível em: <<http://www.revistaea.org/artigo.php?idartigo=3513>>. Acesso em: 11 jul. 2022.

Recebido em: 21/08/2022

Aprovado em: 23/09/2022

Publicado em: 29/09/2022