

## Diversidade genética entre etnovariedades de mandioca por meio de marcadores ISSR

### Genetic diversity among cassava landraces analyzed by ISSR markers

Mariéllen Schmith Wolf<sup>1\*</sup>, Giovana Cuchi<sup>1</sup>, Eliane Cristina Moreno de Pedri<sup>1</sup>, Auana Vicente Tiago<sup>1</sup>, Maiara Cristina Metzdorf da Silva<sup>1</sup>, Ana Aparecida Bandini Rossi<sup>1</sup>

---

#### RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta arbustiva que apresenta uma ampla diversidade genética e várias são as técnicas existentes para a avaliação dessa diversidade, dentre estas destaca-se os marcadores moleculares. Diante disso, objetivou-se neste estudo caracterizar etnovariedades de mandioca cultivadas no norte do estado de Mato Grosso, por meio de marcadores moleculares ISSR. Para a extração do DNA vegetal das 15 etnovariedades de mandioca, utilizou-se o método CTAB e as amplificações foram via PCR com 15 *primers* ISSR. Nas análises estatísticas utilizou-se o programa Genes. Foram amplificados um total de 159 fragmentos, dos quais 67,92% foram polimórficos. O PIC variou entre 0,00 e 0,62, enquanto a dissimilaridade genética estimada pelo coeficiente de Jaccard, variou entre 0,08 a 0,39. O dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA formou três grupos, já pelo método de Tocher houve a formação de sete grupos, ambos demonstrando que há diversidade genética entre as etnovariedades analisadas. Dessa forma, é possível concluir, que os *primers* utilizados foram eficientes na detecção de polimorfismo e que há diversidade genética entre as etnovariedades de *M. esculenta*.

**Palavras-chave:** Caracterização molecular; *Manihot esculenta*; Polimorfismo genético.

---

#### ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is a shrub plant that presents a wide genetic diversity. There are several existing techniques for the evaluation of it's diversity among these techniques, molecular markers stand out. Therefore, the objective of this study was to characterize cassava landraces cultivated in the north of Mato Grosso state, Brazil, using ISSR molecular markers. For the extraction of plant DNA from the 15 cassava landraces, the CTAB method was used and the amplifications were via PCR with 15 ISSR *primers*. The Genes program was used for the statistical analysis. A total of 159 fragments were amplified and 67.92% were polymorphic. The PIC ranged from 0.00 to 0.62, while the genetic dissimilarity estimated by the Jaccard coefficient ranged from 0.08 to 0.39. The dendrogram obtained by the UPGMA clustering method formed three groups, while by the Tocher method there were seven groups. The both methodologies demonstrated that there is genetic diversity among the analyzed landraces. Thus, it is possible to conclude that the *primers* used were efficient in the detection of polymorphism and that there is genetic diversity among the *M. esculenta* landraces.

**Keywords:** Molecular characterization; *Manihot esculenta*; Genetic polymorphism.

<sup>1</sup> Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado

\*E-mail: mariellen.wolf.5@gmail.com

---

## INTRODUÇÃO

A espécie *Manihot esculenta* Crantz, conhecida popularmente como mandioca, pertence à família Euphorbiaceae, única do gênero cultivada comercialmente (VIEIRA; FIALHO, 2017). As plantas da espécie são arbustivas, possuem raízes com altos níveis de carboidratos e são utilizadas na alimentação humana, animal e ainda como matéria-prima para o processamento agroindustrial (PEDRI et al., 2021), que, geralmente, está relacionada com as farinheiras e fecularias.

A produtividade da mandioca se destaca em relação as demais culturas agrícolas, pois além das suas raízes tuberosas, as folhas e o caule também são utilizados para a alimentação, tornando-se uma importante fonte energética alimentar para grande parte da população que cultiva a espécie (BUHARI, 2017; LIMA et al., 2020). De acordo com Figueredo et al. (2019) no estado de Mato Grosso, a mandiocultura é a segunda atividade de maior importância para a agricultura familiar.

A agricultura familiar é uma categoria social que está ligada com a forma de escolher e de gerir diferentes estratégias agrícolas, sendo considerada uma base para o desenvolvimento de diversos países (ZACHOW; PLEIN, 2018). Além disso, a agricultura familiar é responsável por 87% da produção total de mandioca no Brasil (IBGE, 2006), apresentando um importante papel na conservação on farm dos recursos genéticos da cultura mantida nas roças, garantindo a ampliação e manutenção da diversidade das etnovarietades de mandioca (FARALDO et al., 2000; PEDRI et al., 2021).

A cultura da mandioca apresenta uma ampla diversidade genética, segundo Ebertz & Palomino (2017) isso pode ocorrer devido a espécie ser uma planta alógama, ou seja, ser capaz de realizar polinização cruzada, podendo se propagar inicialmente por meio das sementes, e posteriormente de forma assexuada ou vegetativa. De acordo com Albuquerque (2017) parte dessa diversidade genética é mantida em Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) presentes em vários países. No Brasil por exemplo, mais 4.000 acessos de mandioca são conservados pela Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA), mantidos em campo (ex situ) e em laboratório (in vitro).

O conhecimento da diversidade genética é de grande importância e várias são as técnicas existentes para a avaliação da diversidade em espécies vegetais, dentre elas estão os marcadores moleculares baseadas em PCR (Polymerase Chain Reaction). Os marcadores moleculares são ferramentas utilizadas para o gerenciamento de recursos genéticos, caracterização e avaliação da diversidade genética dentro e entre as espécies,

apresentando alta eficiência para os programas de melhoramento genético (MATSUMURA et al., 2015; OLIVEIRA, 2018).

Dentre os marcadores moleculares utilizados, estão os ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), que são marcadores que apresentam caráter dominante, baixo custo, alto índice de polimorfismo e alta reprodutibilidade (CHEN et al., 2017). Além disso, os marcadores moleculares ISSR podem ser utilizados para várias espécies vegetais, sem a necessidade de um conhecimento prévio do sequenciamento do genoma (TURCHETTO et al., 2017; FELIX et al., 2020).

Alguns trabalhos desenvolvidos com a espécie *Manihot esculenta* utilizando marcadores moleculares ISSR, como os de Tiago et al. (2016), Figueredo et al. (2019), Afonso et al. (2019) e Asha et al. (2019), demonstraram-se eficientes em caracterizar a diversidade genética. Diante da importância da espécie, objetivou-se neste estudo, caracterizar 15 etnovarietades de mandioca cultivadas no norte do estado de Mato Grosso, por meio de marcadores moleculares ISSR.

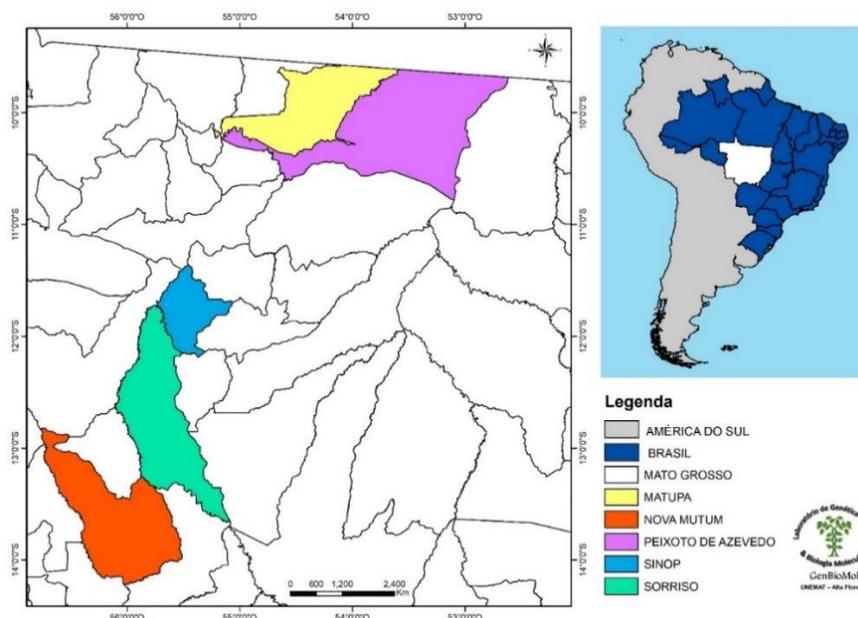
## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

Foram coletadas folhas jovens de 15 etnovarietades de mandioca cultivadas no norte do Estado de Mato Grosso (Figura 1), sendo denominadas como: Camanducaia (NMU01); Paraná (NMU02) e Cacau roxa (NMU06), coletadas no município de Nova Mutum; Mandioca pão (SOR01); Liberata (SOR07) e Amarela alta (SOR08), do município de Sorriso; Talo roxo (SNP01); Talo preto (SNP02) e Galhuda branca (SNP04), do município de Sinop; Branca 02 (PXT04); Branquinha (PXT05) e Mandioca preta (PXT06), do município de Peixoto de Azevedo; Vassourinha (MTA01); Mandioca branca (MTA02) e Cacau (MTA05), do município de Matupá.

Todo o material foliar coletado foi levado ao Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol) do Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional (CEPTAM), da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Campus de Alta Floresta - MT e armazenado em freezer – 20°C até o momento da extração do DNA.

**Figura 1** – Localização geográfica dos cinco municípios de coleta das etnovariiedades de mandioca, ambos localizados no norte do estado de Mato Grosso, Brasil.



Fonte: Elaborado pelos autores.

### Extração do DNA total

A extração do DNA total foi realizada de acordo o método CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio) descrito por DOYLE & DOYLE (1987), com algumas modificações conforme descrito por Tiago et al. (2016): aumento da concentração de polivinilpirrolidona (PVP) de 1% para 2%; aumento nas concentrações de CTAB de 2% para 3% e de  $\beta$ -mercaptoetanol de 0,2% para 2% no tampão de extração, além da redução do tempo de incubação de 60 minutos para 30 minutos a 65°C.

Após a extração, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1% e comparadas com o marcador de DNA- $\lambda$  de 100 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup>. O gel foi corado com brometo de etídio (EtBr), visualizado em transiluminador com luz UVB (Loccus Biotecnologia® – LTB-STi), fotografado e editado em fotodocumentador L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®) e software L-Pix STi Image, respectivamente. Após a quantificação, o DNA total foi diluído à aproximadamente 15 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup>, utilizando água Milli-Q e, posteriormente, armazenado a -20 °C.

### Amplificação do DNA e eletroforese

Para a amplificação do DNA das etnovariiedades de mandioca foram utilizadas 15 *primers* ISSR (Inter Sequence Simple Repeats), desenvolvidos pela University of British Columbia (UBC), Vancouver, Canadá.

As ampliações foram realizadas via Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em um volume final de 20  $\mu\text{L}$ , contendo: 4,6  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$ , 2  $\mu\text{L}$  de DNA ( $\pm 20 \text{ ng}$ ), 2  $\mu\text{L}$  de tampão 10x (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 1M  $\text{MgCl}_2$ ; 10% Tween 20), 3,2  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM), 3  $\mu\text{L}$  de *primer* (0,2 mM), 4  $\mu\text{L}$  dNTPs (0,1 mM de cada dNTP), 1  $\mu\text{L}$  DMSO e 0,2  $\mu\text{L}$  de Taq polimerase (5U/ $\mu\text{l}$ ) (TIAGO et al., 2016).

As reações foram conduzidas no termociclador Aeris, seguindo o programa descrito por Silva et al. (2011) sendo: uma fase de desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, seguidas de 35 ciclos nas seguintes condições: 30 segundos para desnaturação a 94°C; 35 segundos para anelamento a 47 – 58,9°C (dependendo do *primer* utilizado) e 2 minutos para extensão a 72°C. Já a extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos.

Os produtos das ampliações foram separados por eletroforese em gel de agarose a concentração de 1,5%, com tampão TBE 1X, sob uma voltagem constante de 80V em sistema de eletroforese horizontal LCH 20x25 (Loccus Biotecnologia®) por, aproximadamente, quatro horas. Foi utilizado 3  $\mu\text{L}$  do marcador Kapa Universal DNA Ladder (KK6302) para auxiliar na análise dos fragmentos amplificados (bandas).

Após a corrida eletroforética os géis foram corados com brometo de etídio (0,6 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ), por 20 minutos. Posteriormente, os géis foram visualizados em transiluminador com luz UVB (Loccus Biotecnologia® – LTB-STi), fotografado e editado em fotodocumentador L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®) e software L-Pix STi Image, respectivamente.

## Análises estatísticas

### Análise dos fragmentos amplificados

Os fragmentos amplificados foram designados como caráter único, onde a ausência e presença de bandas foram representados por uma matriz binominal de 0 e 1, respectivamente, sendo obtidas por meio da avaliação visual das bandas mais consistentes e evidentes para cada *primer*. Por serem considerados de caráter dominante, os marcadores ISSR demonstram que cada banda representa o fenótipo em um loco bi-alelético (WILLIAMS et al., 1990).

### Diversidade Genética

A partir da matriz binária de presença (1) e ausência (0) e por meio da fórmula 1, foi calculada a porcentagem de polimorfismo para cada *primer* ISSR utilizado:

$$P = \frac{nbp}{nbt} * 100 \quad (1)$$

Onde, P representa a porcentagem de polimorfismo do *primer*, nbp, o número de bandas polimórficas e nbt, o número total de bandas. As bandas com coloração fraca e com baixa definição foram descartadas.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) de cada *primer* foi calculado conforme proposto por Rezende et al. (2009) (fórmula 2).

$$PIC_{primer} = 1 - \sum_i \cdot \sum_j P_{ij}^2 \quad (2)$$

Onde a expressão,  $P_i$  é a frequência do alelo “p” no marcador “pi” e  $P_{ij}$  é a frequências do alelo “p”, do marcador “i”, no *primer* “j”. O valor do PIC varia de "0", para perfis monomórficos, até "1", para perfis altamente polimórficos. Sendo que o cálculo foi baseado no número de alelos detectados por marcador para um determinado loco e a frequência relativa de cada alelo no conjunto das 15 etnovariedades de mandioca analisadas.

Para verificar o número ótimo de fragmentos polimórficos para a análise genética da espécie *M. esculenta*, realizou a análise de bootstrap (MANLY, 1997). Para cada par de etnovariedades foi obtida a similaridade genética estimada a partir de simulações com reamostragens de diferentes tamanhos utilizando o software GENES (CRUZ, 2001).

Nesta análise foram obtidas estimativas de correlação (r) entre os valores da matriz de similaridade genética original e a matriz de similaridade genética simulada, com base nos diferentes números de bandas. Além disso, o valor de estresse (E) também foi obtido, na qual indica o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada. Para Kruskal (1964), o número de bandas polimórficas é considerado ideal para as análises, apenas quando o valor de estresse se apresenta menor que 0,05.

A estimativa da matriz de dissimilaridade genética entre cada par de etnovariedades foi calculada por meio do coeficiente de Jaccard, utilizando-se do Índice do complemento aritmético (equação 3), onde consiste na comparação do número de presenças de bandas comuns e o número total de bandas envolvidas, excluindo o número de ausências conjuntas (MEYER, 2002).

$$D_{ij}=1-S_{ij} \text{ sendo que } S_{ij} = \frac{a}{a+b+c} \quad (3)$$

Onde: a = ao número de casos em que ocorre a presença da banda em ambos os indivíduos; b = ao número de casos em que ocorre a presença da banda somente no

indivíduo *i*; *c* = ao número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo *j*.

A matriz de dissimilaridade gerada pelo índice de Jaccard foi utilizada para realizar a análise de agrupamento das etnovarietades, sendo utilizados os métodos hierárquicos UPGMA (Unweighted Pair Group Method Average), Vizinho mais Próximo - SL (Single Linkage) e WARD, a escolha do método com maior consistência foi baseado no maior valor do coeficiente de correlação cofenética (CCC).

Para o método de otimização de Tocher também foi utilizado a matriz de distância gerada pelo coeficiente aritmético de Jaccard, empregando-se para tal, os recursos computacionais do programa GENES (CRUZ, 2016).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 15 *primers* ISSR utilizados amplificaram um total 159 fragmentos, dos quais 67,92% foram polimórficos. O número total de fragmentos amplificados variou entre 5 (UBC 857 e UBC 888) e 17 (UBC 835 e UBC 856), com média de 11 bandas por *primer* (Tabela 1).

**Tabela 1** – *Primers* ISSR utilizados, suas respectivas sequências e temperaturas de anelamento (TA), número total de fragmentos amplificados (NTF), número de fragmentos polimórficos (NFP), porcentagem de polimorfismo (%P) e conteúdo de informação polimórfica (PIC).

<i>Primer</i>	Sequências (5' – 3')	TA (°C)	NTF	NFP	%P	PIC
TRI(GTG) <sup>5</sup>	GTGGTGGTGGTGGTG	58,9	13	13	100,00	0,62
UBC 807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	47,0	7	6	85,71	0,48
UBC 808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	48,8	8	5	62,50	0,23
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52,8	7	5	71,43	0,46
UBC 815	CTCTCTCTCTCTCTG	52,8	14	10	71,43	0,12
UBC 828	TGTGTGTGTGTGTGTGA	51,3	7	3	42,86	0,00
UBC 834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT*	49,2	11	8	72,73	0,46
UBC 835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC*	51,0	17	7	41,18	0,00
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT*	47,4	8	7	87,50	0,45
UBC 844	CTCTCTCTCTCTCTRC	48,6	11	5	45,45	0,00
UBC 856	ACACACACACACACACYA*	51,0	17	15	88,24	0,30
UBC 857	ACACACACACACACACYG*	52,0	5	2	40,00	0,00
UCB 868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	50,0	14	10	71,43	0,58
UBC 888	BDBCACACACACACACA	49,0	5	3	60,00	0,26
UBC 891	HVHTGTGTGTGTGTGTG	47,0	15	9	60,00	0,12
<b>Total</b>			159	108	67,92	-
<b>Média</b>			11	7	71,43	0,26

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

Fonte: Elaborado pelos autores.

O percentual de polimorfismo encontrado neste estudo (67,92%) confirma a diversidade genética existente entre as etnovarietades de mandioca estudadas. Resultados

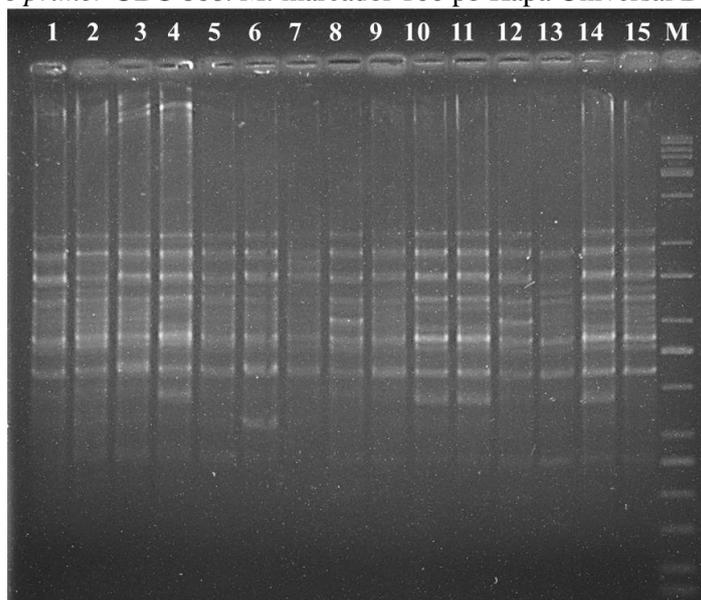
semelhantes foram encontrados por Tiago et al. (2016) avaliando 17 etnov variedades de mandioca utilizando de 15 *primers* ISSR, amplificaram 120 fragmentos, com um percentual de polimorfismo de 61,67%. Já Vidal et al. (2015) encontraram um menor polimorfismo (57,10%) nos estudos com a espécie, utilizando 24 *primers* ISSR, obtendo uma amplificação de 175 fragmentos, confirmando que houve diversidade genética.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) de cada *primer* variou entre 0,00 (UBC 828; UBC 835; UBC 844 e UBC 857) a 0,62 (TRI(GTG)<sup>5</sup>). Os *primers* TRI(GTG)<sup>5</sup>, UBC 868 e UCB 807 foram os que apresentaram os maiores valores de PIC (0,62; 0,58 e 0,48, respectivamente) (Tabela 1), sendo indicados em futuros trabalhos com a espécie.

De acordo com Botstein et al. (1980), marcadores moleculares que apresentam PIC com valores abaixo de 0,25 são considerados pouco informativos, aqueles com valores entre 0,25 e 0,50 são classificados como medianamente informativos e acima de 0,50 são muito informativos. No presente estudo, sete *primers* apresentaram valores de PIC abaixo de 0,25, sendo, portanto, considerados pouco informativos, enquanto seis *primers* apresentaram valores entre 0,25 e 0,50, considerado mediano na detecção de polimorfismo, e apenas dois *primers*, apresentaram valores acima de 0,50 revelando alto poder informativo e a eficiência da técnica de ISSR-PCR em estudos de variabilidade genética em mandioca (Tabela 1).

O perfil eletroforético das 15 etnov variedades de mandioca utilizando o *primer* UBC 868 está exposto na figura 2.

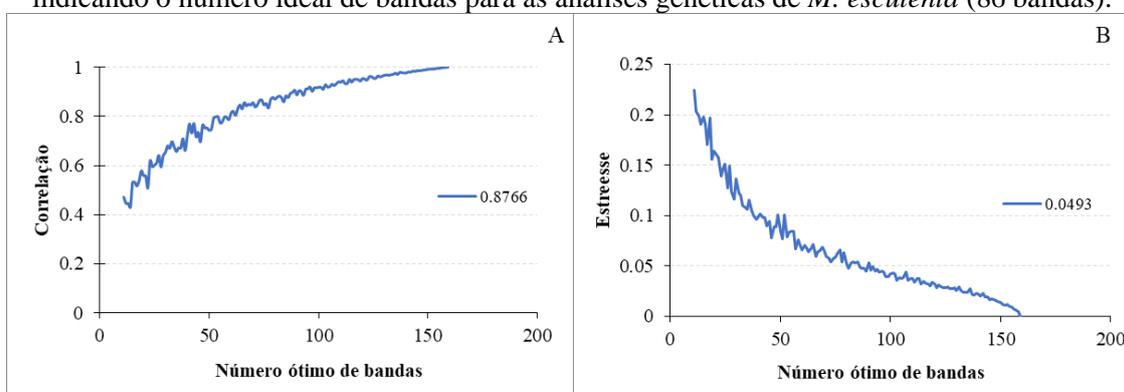
**Figura 2** – Produtos de amplificação do DNA genômico de 15 etnov variedades de mandioca utilizando o *primer* UBC 868. M: marcador 100 pb Kapa Universal DNA Ladder.



Fonte: Elaborado pelos autores.

O número ótimo de bandas para se estimar confiavelmente a diversidade genética para esse trabalho foi de 86 bandas. A partir desse número a correlação atingiu 0,4786 (máximo = 1) (Figura 3A) e valor de estresse de 0,2378 (Figura 3B). Segundo Kruskal (1964), quando o valor de estresse é igual ou abaixo que 0,05 as estimativas são de alta precisão. Como no presente estudo o valor de estresse foi 0,0493 e o número de bandas encontrado (n = 159) foi bem acima do estabelecido com número ótimo (n = 86), pode-se, portanto, considerar que as estimativas de diversidade genética que foram obtidas entre as etnovariedades de mandioca apresentaram excelente precisão.

**Figura 3** – Estimativas das correlações (A) entre as similaridades genéticas obtidas pela análise *bootstrap* para números crescentes de marcadores ISSR polimórficos e valores de estresse (B), indicando o número ideal de bandas para as análises genéticas de *M. esculenta* (86 bandas).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Os valores de dissimilaridade genética, estimados a partir do coeficiente de Jaccard, variaram de 0,08 a 0,39 conforme apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2** – Matriz de dissimilaridade genética entre 15 etnovariedades de mandioca calculada com base no complemento do coeficiente de Jaccard, utilizando 159 fragmentos ISSR.

	NMU01	NMU02	NMU06	SOR01	SOR07	SOR08	SNP01	SNP02	SNP04	PXT04	PXT05	PXT06	MTA01	MTA02	MTA05
NMU01	0	0,33	0,35	0,26	0,33	0,28	0,29	0,30	0,22	0,22	0,31	0,28	0,26	0,25	0,37
NMU02		0	0,25	0,23	0,26	0,30	0,33	0,30	0,37	0,31	0,32	0,35	0,31	0,29	0,32
NMU06			0	0,28	0,29	0,28	0,39	0,33	0,31	0,33	0,34	0,34	0,32	0,28	0,34
SOR01				0	0,27	0,27	0,25	0,26	0,27	0,15	0,17	0,27	0,25	0,17	0,34
SOR07					0	0,32	0,34	0,34	0,35	0,34	0,33	0,36	0,32	0,33	0,32
SOR08						0	0,27	0,26	0,24	0,28	0,32	0,28	0,27	0,28	0,35
SNP01							0	0,25	0,23	0,26	0,30	0,26	0,28	0,28	0,38
SNP02								0	0,25	0,25	0,23	0,17	0,28	0,25	0,31
SNP04									0	0,17	0,24	0,22	0,22	0,21	0,34
PXT04										0	0,08	0,20	0,17	0,11	0,26
PXT05											0	0,22	0,23	0,14	0,29
PXT06												0	0,22	0,23	0,31
MTA01													0	0,17	0,29
MTA02														0	0,26
MTA05															0

Fonte: Elaborado pelos autores.

As etnovariedades de mandioca mais dissimilares (0,39) foram a NMU06 (Cacau roxa) e SNP01 (Talo roxo), cultivadas nos municípios de Nova Mutum e Sinop, respectivamente. Já as etnovariedades de mandioca mais similares (0,08) foram PXT04 (Branca 02) e PXT05 (Branquinha), ambas cultivadas no município de Peixoto de Azevedo (Tabela 2), no entanto, apesar de serem similares, essas etnovariedades não são iguais, já que não apresentou duplicidade no agrupamento.

Entre os métodos de agrupamentos testados (WARD, SL e UPGMA), foi selecionado o método UPGMA por apresentar o maior Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), menor estresse e distorção (0,87; 10,15; e 1,03, respectivamente), sendo o método que melhor representou a diversidade genética existente entre as etnovariedades (Tabela 3). O CCC demonstrou associação de 87% entre as distâncias obtidas na matriz de dissimilaridade e a matriz cofenética.

**Tabela 3** – Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), estresse e distorção dos métodos de agrupamento Ward, Vizinho mais Próximo (SL) e UPGMA.

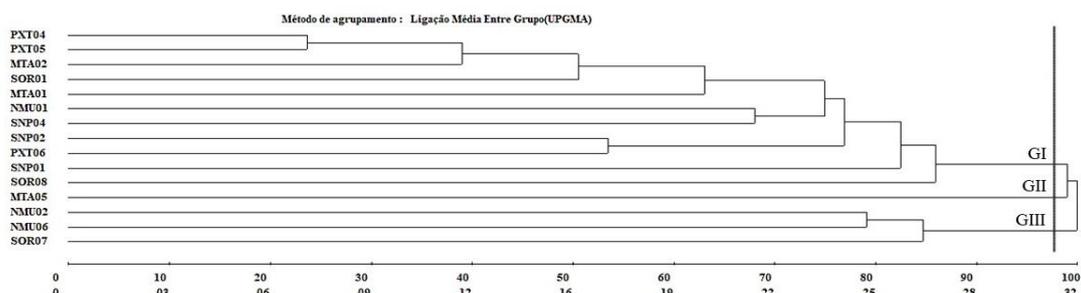
	WARD	SL	UPGMA
CCC	0,69**	0,83**	0,87**
Estresse (%)	-	21,72	10,15
Distorção (%)	-	34,34	1,03

\*\* Significativo ao nível de 1%, pelo teste t. Fonte: Elaborado pelos autores.

No presente estudo, é possível observar que o valor de CCC encontrado (0,87) foi suficiente para a matriz de dissimilaridade, já que de acordo com Rohlf (1970), valores de CCC acima de 0,7 são classificados como satisfatório, refletindo uma boa concordância entre as matrizes, enquanto valores inferiores a 0,7 demonstra que o método de agrupamento é inadequado para resumir a informação do conjunto de dados.

O dendrograma obtido pelo método UPGMA das 15 etnovariedades de mandioca com ponto de corte de 97,65% (Mojena, 1977), permitiu a formação de três grupos geneticamente distintos (Figura 4).

**Figura 4** – Dendrograma obtido pelo método UPGMA, a partir das medidas de dissimilaridades entre 15 etnovariedades de mandioca utilizando o complemento aritmético do índice de Jaccard.



Fonte: Elaborado pelos autores.

O grupo I (GI) foi o mais numeroso, constituído por 73% de etnovariedades, das 15 avaliadas. Neste grupo, encontram-se as duas etnovariedades mais similares (PXT04 e PXT05), ambas cultivadas no município de Peixoto de Azevedo (Figura 4). O grupo II (GII) é composto pela etnovariedade MTA05, denominada de Cacau, cultivada no município de Matupá, considerada a mais dissimilar dentre as avaliadas. Já o grupo III (GIII) reuniu três etnovariedades (NMU02, NMU06 e SOR07), cultivadas no município de Nova Mutum e Sorriso.

Observa-se, que houve uma mistura de etnovariedades de mandioca de diferentes localidades presentes em um mesmo grupo, indicando que algumas de suas características há proximidade. De acordo com Pedri et al. (2021), isso ocorre a partir da interação exercida entre os agricultores, que costumam realizar entre eles, a troca de material vegetal (manivas), resultando em um fluxo de troca, onde, muitas vezes ultrapassam municípios e até mesmo regiões.

O método e otimização de Tocher revelou a formação de sete grupos (Tabela 4), sendo que o grupo I foi o maior, representado por oito etnovariedades. O grupo II foi formado por duas etnovariedades: NMU02 (Paraná) e NMU06 (Cacau roxa). Já os grupos III, IV, V, VI e VII alocaram apenas uma etnovariedade cada, SOR07 (Liberata), SOR08 (Amarela alta), MTA05 (Cacau), NMU01 (Camanducaia), SNP01 (Talo roxo), respectivamente, sendo, portanto, os grupos mais divergentes.

**Tabela 4** – Agrupamento pelo método Tocher, baseado na matriz de dissimilaridade de Jaccard a partir da análise molecular com os marcadores ISSR das 15 etnovariedades de mandioca.

<b>Grupos</b>	<b>Etnovariedades</b>							
<b>I</b>	PXT04	PXT05	MTA02	SOR01	MTA01	SNP04	PXT06	SNP02
<b>II</b>	NMU02	NMU06						
<b>III</b>	SOR07							
<b>IV</b>	SOR08							
<b>V</b>	MTA05							
<b>VI</b>	NMU01							
<b>VII</b>	SNP01							

Fonte: Elaborado pelos autores.

Houve semelhança nos dois métodos de agrupamento, o GI do método de Tocher, por exemplo, foi formado por oito etnovariedades de diferentes localidades, na qual também estiveram presentes no primeiro grupo formado pelo dendrograma do UPGMA. Além disso, a etnovariedade de mandioca MTA05 (Cacau) se apresentou em um grupo isolado tanto no método de agrupamento UPGMA como no de Tocher, demonstrando ser a mais dissimilar entre as demais etnovariedades de mandioca avaliadas.

## CONCLUSÃO

Os *primers* ISSR foram eficientes na detecção de polimorfismo, revelando que há diversidade genética entre os indivíduos de *Manihot esculenta* analisadas.

A etnoveriedade de mandioca Cacau (MTA05), cultivada no município de Matupá, foi a mais dissimilar entre as demais etnoveriedades de mandioca avaliadas.

As etnoveriedades de mandioca cultivadas no norte do estado de Mato Grosso apresentaram divergência genética, podendo ser úteis como progenitoras em programas de melhoramento com a espécie.

## 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 oferecida à primeira autora durante a realização desse trabalho.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. D. J. et al. Genetic structure of cassava populations (*Manihot esculenta* Crantz) from Angola assessed through (ISSR) markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 7, p. 144-154, 2019. Disponível em: <<https://academicjournals.org/journal/AJB/article-full-text-pdf/02F1AD760200>>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- ALBUQUERQUE, H. Y. G. **Diversidade genética e identificação de duplicatas de *Manihot esculenta* Crantz com base em marcadores Single-Nucleotide Polymorphism (SNP)**. 2017. 113 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufrb.edu.br/handle/prefix/1062>>. Acesso em: 01 set. 2021.
- ASHA, K. I. et al. Molecular profiling of selected cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm using ISSR and SSR markers. **Journal of Root Crops**, v. 45, n. 2, p. 24-32, 2019. Disponível em: <<http://journal.isrc.in/index.php/jrc/article/view/560>>. Acesso em: 20 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: 04 set. 2021.
- BUHARI, A. K. Profitability of cassava (*Manihot esculenta*) production in Kebbi state. **Ambit Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 1, p. 85-93, 2017.

CHEN, Y. et al. Genetic diversity and variation of Chinese fir from Fujian province and Taiwan, China, based on ISSR markers. **Plos One**, 12: 01-14, 2017. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0175571>>. Acesso em: 03 set. 2021.

CRUZ, C. D. Programa GENES: versão windows. **Aplicativo computacional em Genética e Estatística**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2001. v. 1. 648 p.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/asagr/a/sLvDYF5MYv9kWR5MKgxb6sL/?format=pdf&lang=en>>. Acesso em: 04 set. 2021.

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. Disponível em: <<https://worldveg.tind.io/record/33886/>>. Acesso em: 03 set. 2021.

EBERTZ, O. F.; PALOMINO, E. C. Caracterização morfológica de genótipos de *Manihot esculenta* Crantz obtidos via sementes. **Revista Agroecossistemas**, v. 9, n. 2, p. 66-77, 2017. Disponível em: <<http://novoperiodicos.ufpa.br/periodicos/index.php/agroecossistemas/article/view/5120/4637>>. Acesso em: 01 set. 2021.

FARALDO, M. I. F. et al. Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca em regiões geográficas do Brasil. **Scientia Agricola**, v.57, n.3, p.499-505, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-90162000000300020>>. Acesso em: 16 ago. 2022.

FELIX, F. C. et al. APLICAÇÕES DE MARCADORES ISSR EM ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Pityrocarpa moniliformis*. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 1017-1024, 2020. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/9304/10369>>. Acesso em: 10 set. 2021.

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://magistraonline.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/820>>. Acesso em: 01 set. 2021.

**IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Censo Agropecuário: Agricultura Familiar. 2006. 267 p. Disponível em: <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/51/agro\\_2006.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/51/agro_2006.pdf)>. Acesso em: 16 ago. 2022.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02289565>>. Acesso em: 04 set. 2021.

LIMA, R. F. et al. A produção de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na agricultura familiar da região Nordeste Paraense: estudo a partir da comunidade de Jacarequara, Capanema, Pará. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1284-1296, 2020. Disponível em:

<<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/view/14285>>. Acesso em: 01 set. 2021.

MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology**. 2.ed. London: Chapman and Hall, 1997. 300p.

MATSUMURA, E. E. et al. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Annals of microbiology**, v. 65, n. 4, p. 2187-2200, 2015. Disponível em: <<https://annalsmicrobiology.biomedcentral.com/articles/10.1007/s13213-015-1059-4>>. Acesso em: 04 set. 2021.

MEYER, A. S. **Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes**. 2002. 106p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Piracicaba, SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, 2002. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11134/tde-24072002-165250/en.php>>. Acesso em: 04 set. 2021.

MOJENA R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p.3 59-363, 1977. Disponível em: <<https://academic.oup.com/comjnl/article/20/4/359/393930?login=true>>. Acesso em: 05 set. 2021.

OLIVEIRA, L. B. **Comparação entre marcadores eric, box e vntrs visando estudos populacionais de *Xanthomonas phaseoli* PV *Manihotis*, agente causal da bacteriose da mandioca**. 2018. Disponível em: <<http://repositorio.ufrb.edu.br/handle/prefix/1066>>. Acesso em: 03 set. 2021.

PEDRI, E. C. M. et al. Diversidade genética entre etnovarietades de mandioca cultivadas no norte do estado de Mato Grosso por meio de descritores morfoagronômicos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e25410514871-e25410514871, 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14871>>. Acesso em: 11 ago. 2021.

REZENDE, R. K. et al. Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2435-2440, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000176>>. Acesso em: 04 set. 2021.

ROHLF, F. J. Adaptative hierarchical clustering schemes. **Systematic Zoology**, v.19, n.1, p.58-82, 1970. Disponível em: <<https://academic.oup.com/sysbio/article-abstract/19/1/58/1647480>>. Acesso em: 05 set. 2021.

SILVA, K. V. P. et al. Variabilidade genética entre acessos do gênero *Manihot* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 46, n. 9, p. 1082-1088, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/pab/a/SsdC6M35x7TVJ4HBGxFdnpD/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 04 set. 2021.

TIAGO, A. V. et al. Genetic diversity in cassava landraces grown on farms in Alta Floresta-MT, Brazil. **Genetics and Molecular Research: GMR**, v. 15, n. 3,

gmr.15038615, 2016. Disponível em: <<https://www.geneticsmr.com/articles/6954>>. Acesso em: 04 set. 2021.

TURCHETTO, C. et al. Marcadores genéticos baseados em DNA. **Marcadores moleculares na era genômica: metodologias e aplicações**. Cap. 1, p. 12-20, 2017. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/206113/001056154.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 set. 2021.

VIDAL, A. M. et al. Genetic fidelity and variability of micropropagated cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) evaluated using ISSR markers. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 14, n. 3, p. 7759-7770, 2015. Disponível em: <<https://www.geneticsmr.com/sites/default/files/articles/year2015/vol14-3/pdf/gmr5651.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2021.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; BORGES, A. L. **Cultivo da mandioca para região do cerrado**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. Planaltina: Embrapa Cerrados. Versão eletrônica, 2017. p. 19-20. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1081020>>. Acesso em: 11 ago. 2021.

WILLIAMS, J. G. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary *primers* are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-abstract/18/22/6531/1054266>>. Acesso em: 04 set. 2021.

ZACHOW, M.; PLEIN, C. A gestão como característica da agricultura familiar. **Brazilian Journal of Development**, v. 4, n. 6, p. 3318-3334, 2018. Disponível em: <<https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/338>>. Acesso em: 27 jul. 2022.

*Recebido em: 11/10/2022*

*Aprovado em: 16/11/2022*

*Publicado em: 24/11/2022*