

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



19º Seminário de
Iniciação Científica e
3º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2015

19 a 20 de agosto

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2015



DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA DE GRUPOS DE MANDIOCA COM BASE EM MARCADORES SSR

Solange da Cunha Ferreira¹, Elisa Ferreira Moura Cunha², Mônica Fecury Moura³, Nelcimar Reis Sousa⁴

¹Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, UFRA, Bolsista CAPES, Embrapa Amazônia Oriental, e-mail: solangel_ferreira@hotmail.com

²Pesquisadora A, Dra. em Genética e Melhoramento, Embrapa Amazônia Oriental, e-mail: elisa.moura@embrapa.br

³Pós-doutoranda – UNESP agromonika@yahoo.com.br

⁴Pesquisadora A, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Embrapa Amazônia Ocidental, e-mail: nelcimar.sousa@embrapa.br

Resumo: O objetivo deste trabalho foi analisar a diferenciação genética de variedades de mandioca dos tipos: brava, mansa e açúcarada com base em análise com marcadores SSR (simple sequence repeats). Foi analisado um total de 257 acessos de mandioca, sendo 208 variedades bravas; 23 mansas e 26 açúcarados, coletados em 48 municípios do estado do Pará e conservados no BAG de mandioca da Embrapa Amazônia Oriental usando 11 locos SSR. As amostras foram genotipadas utilizando sequenciador automático. Os 11 locos SSR utilizados foram 100% polimórficos e amplificaram 116 alelos ao todo, com média de 6,6 alelos por população. O grupo de variedades bravas apresentou maior diversidade genética, com valores de H_E de 0,677. O nível de diferenciação genética entre os tipos de mandioca foi alto ($\Phi_{ST} = 0,203$). Porém, a maior porção da variação genética ocorreu dentro das populações (80%). Os dados obtidos com esses marcadores permitiram separar os acessos de mandioca de acordo com seu tipo.

Palavras-chave: Manihot esculenta Crantz, microssatélites, variação genética

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) produz uma raiz tuberosa de grande importância para a alimentação humana, usada como fonte de subsistência para muitas famílias. Apresenta elevada variabilidade genética e é cultivada em todas as regiões do Brasil, para os mais diversos fins (FERREIRA et al., 2008).

A mandioca é geralmente dividida em dois tipos: bravas e mansas, conforme o conteúdo de ácido cianídrico (HCN) presente. Além delas, existe na Amazônia o grupo das mandiocas açúcaradas, que acumulam nas raízes níveis mais elevados de açúcar. As cultivares mansas são aquelas que



apresentam teor de HCN na polpa crua das raízes inferior a 100 mg kg^{-1} . Por sua vez, as cultivares bravas são aquelas que apresentam teor de HCN superior a 100 mg kg^{-1} de polpa crua de raiz.

Embora esta diferença seja reconhecida pelos agricultores, não existem caracteres morfológicos que diferenciem estes grupos (MCKEY; BECKERMAN, 1993). No entanto, estudos baseados em marcadores moleculares apoiam a existência da divergência genética entre e dentro destas variedades (PERONI et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diferenciação genética entre grupos de mandioca, considerando os tipos brava, mansa e açucarada pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental utilizando marcadores microssatélites.

Material e Métodos

Foi analisado um total de 257 acessos de mandioca (208 variedades bravas; 23 mansas e 26 acessos açucarados) coletados em 48 municípios do estado do Pará e conservados no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Mandioca da Embrapa Amazônia Oriental.

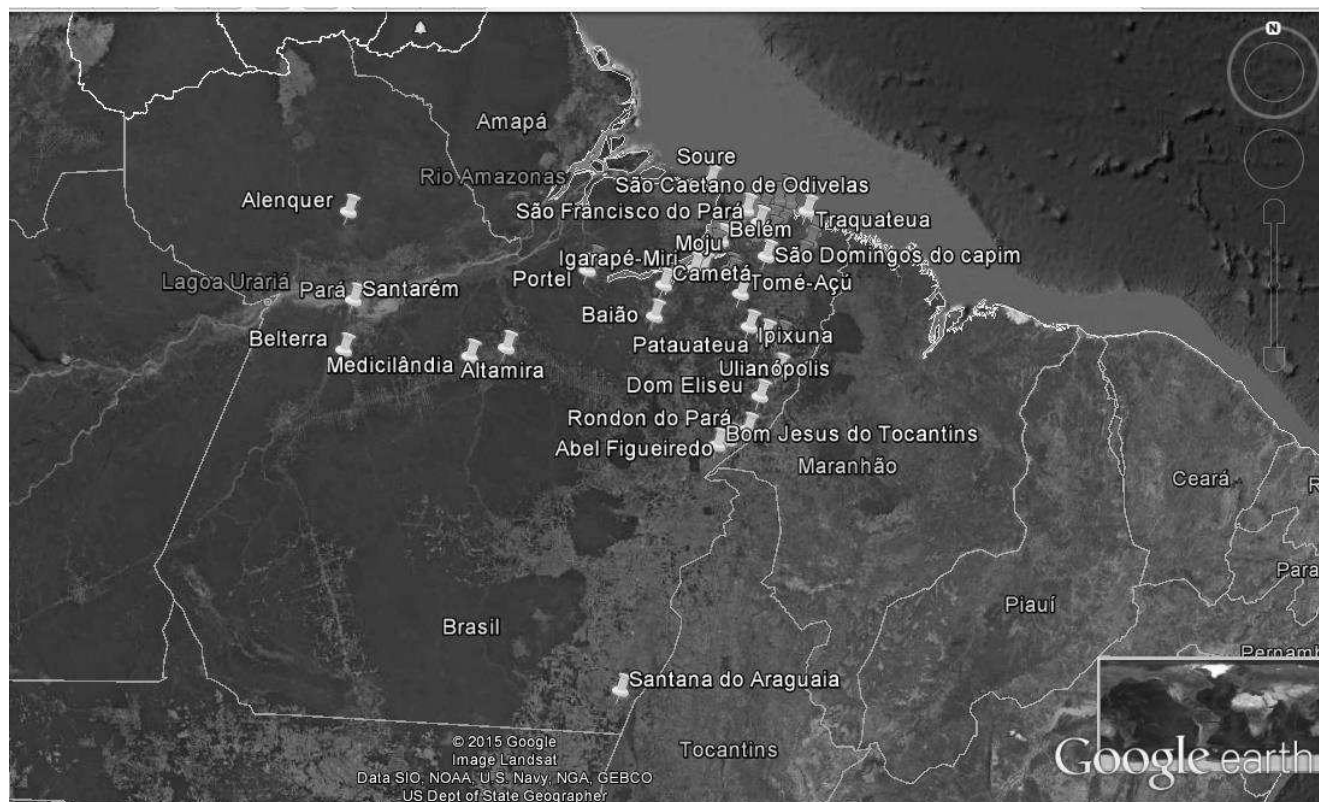


Figura 1: Mapa do estado do Pará mostrando os municípios onde as amostras pertencentes ao banco de germoplasma de mandioca da Embrapa Amazônia Oriental foram coletadas.



A extração do DNA foi realizada a partir de folhas com base em protocolo de Doyle e Doyle (1990) modificado. O DNA foi quantificado em gel de agarose a 0,8% utilizando amostras padrão de DNA λ (lambda) em diferentes concentrações (50, 100 e 200 ng.mL⁻¹). O DNA foi diluído para 10 ng.mL⁻¹. Para a genotipagem molecular em analisador de DNA automático foram utilizados 11 primers microssatélites: RY93, RY164, GA5, GA136, GA126, RY89, GA131, GA21, GA12, GA134 e GA140.

A estimação dos parâmetros de diversidade genética como número de alelos, heterozigosidade observada e esperada, índice de fixação e porcentagem de lócus polimórficos e a análise da variância molecular (AMOVA) considerando os três grupos de mandioca foram realizados no software GenAEx 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

Resultados e Discussão

Os marcadores SSR utilizados neste estudo revelaram alto índice de diversidade genética no total de acessos ($H_E = 0,687$). Variedades bravas apresentaram maior média de alelos (10,27) em relação às variedades mansas e açúcaradas que tiveram número de alelos de 5,45 e 4,36, respectivamente (Tabela 1).

As variedades bravas e mansas apresentaram maior heterozigosidade esperada (H_E), com valor de 0,68 e 0,63, respectivamente. O índice H_E está diretamente relacionado à diversidade genética, pois quanto maior a heterozigosidade esperada maior é a diversidade e a distribuição homogênea de alelos no grupo. Os acessos açúcarados apresentaram menor diversidade genética ($H_e = 0,461$) (Tabela 1).

Os grupos de variedades bravas e mansa apresentaram valores similares de heterozigosidade observada com valores de 0,61 e 0,59, respectivamente. Os acessos açúcarados apresentaram menor valor de heterozigosidades observadas (0,55) (Tabela 1). Peroni et al. (2007) obtiveram média de número de alelos de 4,3, para mandioca brava e valores de 2,9 para o grupo de mandioca mansa, e heterozigosidades observada de 0,49 para mandioca brava e 0,73 para o grupo de mandioca mansa.



Tabela 1 - Índice de diversidade para as populações de variedades brava, mansa e açucaradas de mandioca, com base em 11 marcadores microssatélites utilizados neste estudo.

Variedades	Nº de alelos	Heterozigosidade observada	Heterozigosidade esperada	Índice de Fixação	P*(%)
Brava	10,091	0,614	0,677	0,109	100
Mansa	5,455	0,592	0,631	0,078	100
Açucarada	4,364	0,546	0,461	-0,017	100
Média	6,636	0,584	0,589	0,057	100
Total de Alelos	116				

*P= porcentagem de lócus polimórficos

A média do índice de fixação para os três grupos foi baixa, indicando que ocorre uma baixa taxa de endogamia. Parâmetro bastante importante que comprova que a mandioca é uma espécie alógama, com alta fixação de genótipos heterozigotos.

A AMOVA demonstra que houve diferenciação genética entre os tipos de mandioca, e que a variância entre as populações foi significativa ($\Phi_{ST} = 0,203$), correspondendo a 20% da variação genética total. A maior parte da variação encontra-se dentro das populações (80%) (Tabela 2).

Tabela 2- Análise da Variância Molecular (AMOVA) para 257 acessos de mandioca caracterizados com 11 locos microssatélites do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental entre grupos de mandioca considerando o tipo da variedade: brava, mansa e açucarada.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Componentes da Variação	Variação Total	PhiPT	P (\geq)
Entre grupos	2	190,456	95,228	2,074	20%	0,203	0,01
Dentro de grupos	254	2068,003	8,142	8,142	80%		
Total	256	2258,459		10,216	100%		

*Valores significativos ao nível de 1% de probabilidade; SQ= soma de quadrados; GL= grau de liberdade; QM= Quadrado Médio

Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que os marcadores microssatélites avaliados foram eficientes para a diferenciação genética dos grupos de variedades de mandioca.

Referências Bibliográficas

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

FERREIRA, C. F.; ALVES, E.; PESTANA, K. N.; JUNGHANS, D. T.; KOBAYASHI, A. K.; SANTOS, V. J.; SILVA, R. P.; SILVA, P. H.; SOARES, E.; KUKUDA, W. Molecular



characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with yellow Orange roots for betacarotene improvement. **Crop Breeding and Applied Genetics**, v. 8, n. 1, p. 2329, 2008.

MCKEY, D.; BECKERMAN, S. Chemical ecology, plant evolution and traditional manioc cultivation systems. In: HLADIK, C. M.; HLADICK, A.; LINARES, O. F.; PAGEZY, H.; SEMPLE, A.; HADLEY, M. (Ed.). **Tropical Forests, People and Food: Biocultural Interactions and Applications to Development**. Carnforth, UK: Parthenon; Paris: UNESCO, 1993. p. 83-112.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2537-2539, 2012.

PERONI, N.; KAGEYAMA, P.; BEGOSSI, A. Molecular differentiation, diversity, and folk classification of "sweet" and "bitter" cassava (*Manihot esculenta*) in Caiçara and Caboclo management systems (Brazil). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 6, p. 1333-1349, 2007.