



## DIVERSIDADE GENÉTICA DE CULTIVARES DE MANDIOCA COM BASE EM MARCADORES ISSR

**Resumo:** A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das culturas de grande importância por ser nativa do Brasil, ser cultivada em praticamente todo território nacional e fazer parte do consumo alimentar do brasileiro. O objetivo do trabalho foi estimar a variabilidade genética entre parentais elite de mandioca para serem usados no programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca que visa, além de variedades resistentes aos principais fatores bióticos e abióticos, a obtenção de variedades de mandioca com altos teores de  $\beta$ -caroteno; precursor da vitamina A. Vinte variedades elite de mandioca foram analisadas com nove primers ISSR que geraram 21 bandas polimórficas. Os marcadores ISSR foram capazes de separar as variedades em seis grupos que irão direcionar as estratégias a serem adotadas no programa de melhoramento da espécie.

**Palavras-chave:** *Manihot esculenta* Crantz, marcadores moleculares, melhoramento de plantas

### Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é nativa da América do Sul. É uma espécie alógama e altamente heterozigota, adaptada às condições edafo-climáticas brasileiras, tolerante a estresses bióticos e abióticos, podendo apresentar rendimentos elevados até mesmo em solos já esgotados por outras culturas (GRIZOTTO, 2000).

A mandioca tem seu cultivo fortemente ligado às tradições dos pequenos agricultores familiares, constituindo uma das principais fontes de carboidratos, apresentando importante papel econômico e social. Estudos indicam que existe uma forte correlação entre a cor e a atividade vitamínica A das raízes e a carência desta vitamina na dieta da população é um problema de saúde pública no Brasil (CARVALHO et al., 2005).

Recentemente, estudos revelaram o potencial das raízes de mandioca como fonte de carotenóides, em principal, o  $\beta$ -caroteno; precursor da vitamina A (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001), nas raízes de coloração amarela e de betacaroteno e/ou licopeno nas raízes de coloração rosada (CARVALHO, et al. 2000).

Nos programas de melhoramento genético é de suma relevância o conhecimento prévio da diversidade genética dos genótipos utilizados em cruzamentos para intensificar a segregação nas



populações e maximizar a chance de desenvolvimento de genótipos com características agronômicas de interesse.

Os marcadores ISSR são utilizados para estudar polimorfismos baseados em regiões entre microssatélites. Este marcador tem se mostrado uma poderosa ferramenta para análise da diversidade genética por não requerer conhecimento prévio do DNA a ser avaliado, ser de baixo custo, fácil uso e possuir alta reprodutibilidade.

O objetivo do trabalho foi estimar a variabilidade genética entre parentais elite do programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura de forma a direcionar os cruzamentos visando a obtenção de variedades de mandioca com altos teores de  $\beta$ -caroteno.

### **Material e Métodos**

Foram utilizadas 20 genótipos elite de mandioca (contrastantes para raízes com coloração amarela e brancas, teores de matéria seca, produtividade e resistência a pragas e doenças) pertencentes ao programa de melhoramento de mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura, tais como cultivares de raízes amarelas: 878-Cachimbo I, 1456, 1140, 991, 949-Pretinha II, 61-Crueira, 1711, 1705, 1704-IM-936-Caniço, 893-Imari III e de raízes brancas: 1735, 587, 21-Cachimbo, Formosa, Kiriris, Fécula Branca, Verdinha, 9655-02, 98150-06 e 1660-Brasil.

A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo Doyle e Doyle (1990). Foram coletadas folhas jovens de mandioca e a extração de DNA foi realizada. Em seguida, verificou-se a qualidade e quantidade do DNA extraído em gel de agarose 0,8%. Um total de nove primers ISSR foram utilizados em reações de PCR com os seguintes ciclos para a amplificação em termociclador MyCycler Thermocycler (Veriti): 94°C por 3', seguido de 30 ciclos de 94°C por 1', 55 °C, 58°C, 60°C ou 62°C (dependendo de cada primer) por 45'' e 72°C por 1', com uma extensão final de 72°C por 7'. Os fragmentos amplificados foram revelados em gel de agarose 3% (p/v). Utilizou-se padrão de peso molecular de 50 pb para análise dos fragmentos.

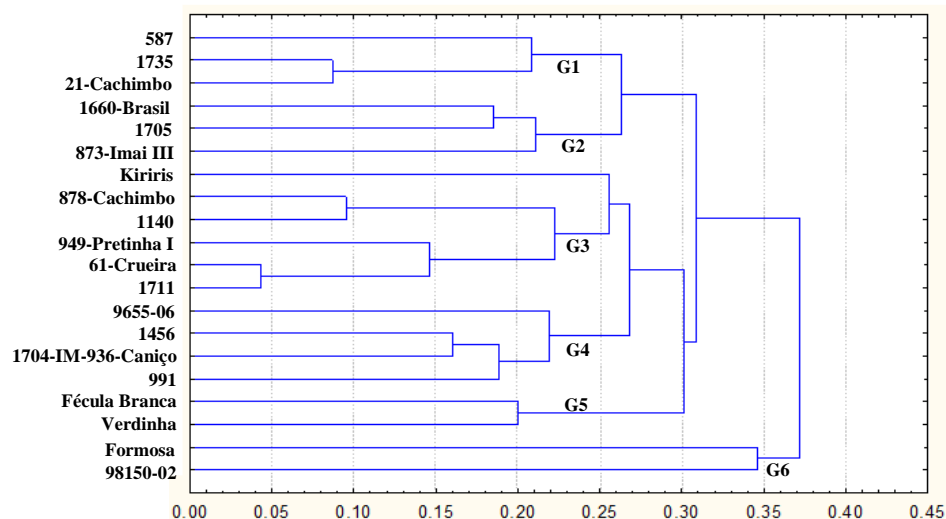
As distâncias genéticas entre os acessos foram avaliadas por meio de matriz de dissimilaridade gerada pelo índice de Jaccard, o agrupamento dos genótipos gerados pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages*), construindo assim um dendrograma por meio do software STATISTICA (STATISTICA, 2002) e o ponto de corte baseado em Mingotti (2005).

### **Resultados e Discussão**

Um total de nove primers ISSRs geraram 12 bandas monomórficas e 21 polimórficas.



O dendrograma baseado nas informações obtidas pelos marcadores ISSRs possibilitou a formação de seis grupos.



**Figura 1.** Dendrograma construído a partir de bandas polimórficas de nove marcadores ISSR utilizando-se o método UPGMA de agrupamento pelo programa STATISTICA.

Verificou-se que alguns grupos foram formados de acordo com a coloração das raízes tais como G1: 587, 1735, 21-Cachimbo (raízes brancas), G2: 1660-Brasil (raízes brancas) e 1705, 873-Imai III (raízes amarelas); G3: Kiriris (raíz branca), 878-Cachimbo, 1140, 949-Pretinha, 61-Crureira e 1711 (raízes amarelas), G4: 9655-06 (raíz branca), 1456, 1704-IM-936-Caniço, 991 (raízes amarelas); G5: Fécula branca e Verdinha (raízes brancas) e G6: Formosa (raíz branca) e 98150-02 (raíz branca).

De acordo com a matriz de dissimilaridade todos os valores das distâncias foram menores que 50%, o que indica que os acessos são muito similares. Os acessos com maiores valores de similaridade foram 61-Crureira e 1711 com 96% de similaridade, 1735 e 21-Cachimbo com 92% de similaridade e 878-Cachimbo e 1140 com 91% de similaridade.

Os acessos mais dissimilares foram Formosa e 878-Cachimbo e Formosa e 1140 ambos com 48% de dissimilaridade, seguido de Formosa e 949-Pretinha I e Formosa e 1704-IM-936-Caniço ambos com 46% de dissimilaridade.

### Conclusão

Os marcadores ISSRs foram capazes de separar os genótipos de mandioca, entretanto, nem todos com base na coloração das raízes. Os cruzamentos priorizados poderão ser voltados para os genótipos dos grupos G1 e G6 e G5 de forma a maximizar a obtenção de variedades de mandioca com altos teores de  $\beta$ -caroteno.



### Referências Bibliográficas

- CARVALHO, L.J.C.B.; CABRAL, G.B.; CAMPOS, L. **Raiz de reserva de mandioca: um sistema biológico de múltipla utilidade**. Brasília: CENARGEN, 2000. 16p.
- CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G. da; CARVALHO, C. R. L.; VALLE, T. L. V.; CASTRO, J. V. de; FELTRAN, J. C. Cor e carotenóides provitamínicos em raízes de diferentes clones de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 11., 2005, Campo Grande, MS. [Resumos]. Campo Grande, MS: Governo do Estado de Mato Grosso do Sul: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 1 CD-ROM.
- CURY, R. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na agricultura autóctone do Sul do Estado de São Paulo**. 1993. 103p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, Piracicaba.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** **12**, p. 13-15. 1990.
- FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 18 jul. 2012.
- GRIZOTTO, R. K. **Mandioca "Chips" Uma tecnologia para o aproveitamento da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Campinas, 2000, 130p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- MINGOTI, S.A., **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**, Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005. 295p.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**, Washington: ILSI, 2001. 62p.
- STATISTICA, **STATISTICA for Windows v. 6.0: Computer Program Manual**. Editora StatSoft Inc. Tulsa, UK (CD-Rom), 2002.