



Diversidade genética entre etnovariedades de mandioca cultivadas em assentamentos rurais no Mato Grosso

Genetic diversity of cassava landraces cultivated in rural settlements in Mato Grosso

Mariéllen Schmith Wolf¹

 <https://orcid.org/0000-0003-3056-8476>  <http://lattes.cnpq.br/0758103097587710>

Eliane Cristina Moreno de Pedri²

 <https://orcid.org/0000-0002-7044-581X>  <http://lattes.cnpq.br/9596235243976750>

Auana Vicente Tiago³

 <https://orcid.org/0000-0001-9556-9491>  <http://lattes.cnpq.br/3112795576497501>

Giovana Cuchi⁴

 <https://orcid.org/0000-0002-5761-3276>  <http://lattes.cnpq.br/4771491876906319>

Ana Aparecida Bandini Rossi⁵

 <https://orcid.org/0000-0002-8318-5375>  <http://lattes.cnpq.br/2734433144153549>

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RESUMO

A mandioca apresenta ampla diversidade genética, podendo ser analisada por meio de marcadores moleculares. Dentre os disponíveis, estão os ISSR que são marcadores dominantes, universais e com alto índice de polimorfismo. Diante disso, esse estudo tem como objetivo avaliar a diversidade genética entre etnovariedades de mandioca cultivadas em assentamentos rurais no norte do estado de Mato Grosso, por meio de marcadores moleculares ISSR. Foram coletadas folhas de 30 etnovariedades cultivadas em três assentamentos rurais (São Paulo, Jacaminho e São Pedro) localizados em três municípios (Carlinda, Alta Floresta e Paranaíta) no norte do estado de Mato Grosso, Brasil. Para a extração do DNA total, seguiu-se o método CTAB. As amplificações foram realizadas via PCR utilizando 15 primers ISSR. Os primers ISSR amplificaram 190 fragmentos, dos quais 76,32% foram polimórficos. Os métodos de agrupamento formaram cinco grupos, demonstrando que há diversidade genética entre as etnovariedades de mandioca, com destaque para JAC09 (Cacau talo roxo) e SPA04 (Mandioca pão) como as mais divergentes dentro do acervo. Os assentamentos rurais são importantes locais para a conservação *on farm* da espécie.

¹ Universidade do Estado de Mato Grosso Alberto Reyes Maldonado – UNEMAT, Alta Floresta/MT – Brasil. E-mail: mariellen.wolf@unemat.br

² E-mail: elicmbio@gmail.com

³ E-mail: auana_bio@hotmail.com

⁴ E-mail: giovana.cuchi@unemat.br

⁵ E-mail: anabanrossi@unemat.br



Palavras-chave: caracterização molecular; ISSR; *Manihot esculenta* Crantz; marcador dominante.

ABSTRACT

Cassava comprises a wide genetic diversity, which can be analyzed using molecular markers. Among the available markers are ISSRs, which are dominant, universal markers with a high polymorphism rate. This study aims to evaluate the genetic diversity among landraces of cassava cultivated in rural settlements in northern Mato Grosso, using ISSR molecular markers. Leaves were collected from 30 landraces cultivated in three rural settlements (São Paulo, Jacaminho, and São Pedro) located in three municipalities (Carlinda, Alta Floresta, and Paranaíta) in northern Mato Grosso, Brazil. The CTAB method was followed for total DNA extraction. Amplifications were performed via PCR using 15 ISSR primers. The ISSR primers amplified 190 fragments, of which 76.32% were polymorphic. Cluster analysis grouped the landraces into five groups, indicating genetic diversity among the cassava landraces, with JAC09 (Cocoa stalk purple) and SPA04 (Bread cassava) standing out as the most divergent landraces in the collection. Rural settlements are crucial locations for the on-farm conservation of the species.

Keywords: molecular characterization; ISSR; *Manihot esculenta* Crantz; dominant marker.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Manihot esculenta* Crantz, popularmente conhecida como mandioca, aipim ou macaxeira, é uma planta da família Euphorbiaceae, com origem Sul Americana e que foi muito cultivada no passado pelos povos indígenas (Ribeiro *et al.*, 2019), em razão de apresentar raízes com reservas de amido (Lima *et al.*, 2020). Atualmente, a mandioca é considerada a cultura de maior importância entre as raízes tuberosas, sendo cultivada em mais de 100 países tropicais e subtropicais (Nicoli Neto *et al.*, 2019; Souza; Kalid 2022).

A mandioca possui raízes com altos níveis de carboidratos, destinada a alimentação humana e/ou animal, podendo ser utilizada como matéria-prima para agroindústrias de processamento para a fabricação de produtos derivados, ou ainda, no consumo culinário (cozida, pré-cozida, frita, chips) (Antonini *et al.*, 2020; Pedri *et al.*, 2021). Já a parte aérea da mandioca (folhas e hastes) pode ser utilizada na alimentação animal, para a produção de feno ou silagem, assim como na alimentação humana, para o preparo de alimentos típicos das regiões Norte e Nordeste do Brasil (Costa *et al.*, 2022), como a maniçoba, prato de origem indígena e tradicional da culinária nordestina (Modesto *et al.*, 2019).

A cultura da mandioca apresenta importância social, sendo a principal fonte de energia alimentar para milhões de pessoas ao redor do mundo, além de ser considerada uma atividade lucrativa e geradora de renda para a agricultura familiar (Guimarães *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2023a). Por ser uma planta alógama, heterozigótica, adaptável a diferentes condições edafoclimáticas e de fácil segregação, a mandioca apresenta uma ampla diversidade genética sendo, geralmente, diferenciada no local do cultivo por suas características morfológicas e agrônômicas (Afonso *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2021).



O Brasil apresenta ampla diversidade genética da espécie *M. esculenta*, sendo considerado o seu principal centro de origem e domesticação (Landau *et al.*, 2020). O grande número de variedades da espécie existentes na Amazônia, constitui um acervo genético de benefício mundial (Siviero *et al.*, 2019). Geralmente, parte dessa diversidade é mantida por agricultores familiares em suas propriedades rurais e a circulação de propágulos entre eles permite a manutenção da variabilidade genética da espécie, contribuindo para a conservação *on farm* (Tiago *et al.*, 2016; Oler; Amorozo, 2017). Dessa forma, os estudos a nível molecular e, que visam a diversidade genética, são de extrema importância para o desenvolvimento de estratégias de conservação e uso dos recursos genéticos atribuídos à cultura da mandioca (Tovar *et al.*, 2015).

A avaliação da diversidade genética da mandioca é crucial para a conservação e manutenção de características fenotípicas desejáveis, por meio de estudos de diversidade que beneficiam futuros programas de melhoramento genético da espécie (Tiago *et al.*, 2016; Pedri *et al.*, 2024). Entre os métodos empregados para a avaliação da diversidade genética em espécies vegetais, estão as técnicas utilizando marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares são ferramentas, comumente, utilizadas para análise genética de espécies vegetais. Dentre os marcadores disponíveis e baseados na técnica da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) estão os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) que são de caráter dominante, apresentam baixo custo, alto índice de polimorfismo e são universais (Chen *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2020) e, frequentemente, utilizados em estudos moleculares de distintas espécies vegetais, dentre elas, a *M. esculenta* Crantz (Tiago *et al.*, 2016; Cuchi *et al.*, 2022; Wolf *et al.*, 2022).

Diante disso, objetivou-se neste estudo avaliar a diversidade genética de etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em assentamentos rurais no norte do estado de Mato Grosso, por meio de marcadores moleculares ISSR.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. COLETA E ÁREA DE ESTUDO

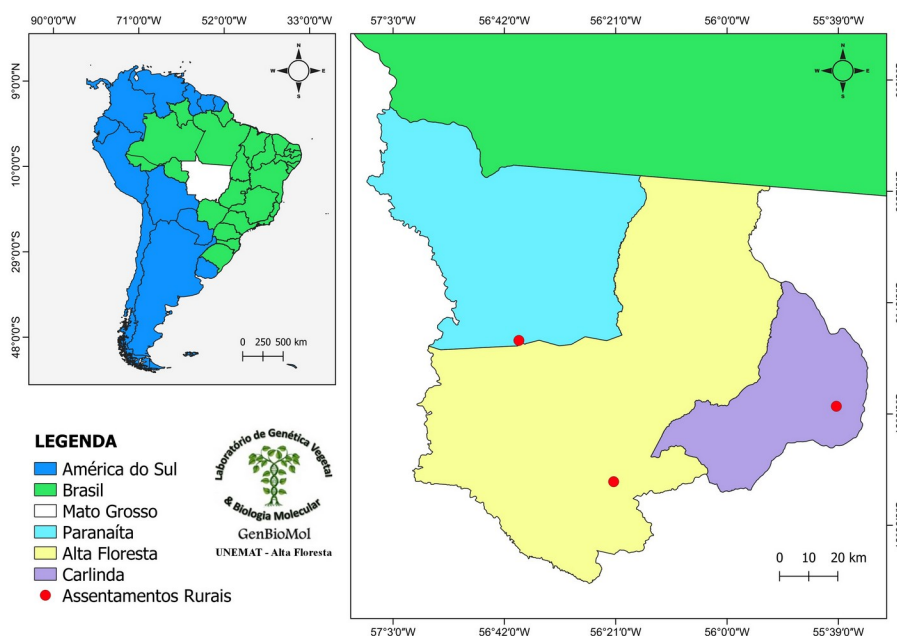
Foram coletadas folhas jovens de 30 etnovarietades de mandioca cultivadas em três assentamentos rurais no norte do estado de Mato Grosso, sendo: assentamento São Paulo (oito amostras), Jacaminho (11) e São Pedro (11), localizados nos municípios de Carlinda, Alta Floresta e Paranaíta, respectivamente (Figura 1; Tabela 1).

O assentamento São Paulo foi criado pelo Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA) por meio da desapropriação de terras em 2013, está localizado a 48 km do município de Carlinda - MT, apresenta uma área de 2.419,90 ha, sendo constituída por 45 famílias assentadas (Silva *et al.*, 2017). O assentamento Jacaminho, criado em 1974, está localizado na comunidade Pista do Cabeça, a cerca de 103 km do perímetro urbano de Alta Floresta - MT, com área de 2.780 ha, sendo constituída por 93 famílias assentadas (Sanchez *et al.*, 2017). O assentamento São Pedro foi criado em 1997, está localizado a 54 km do município de Paranaíta - MT, ocupa uma



área de 35.000 ha e possui a capacidade de 776 lotes, sendo estes, distribuídos em 22 comunidades (Gervazio; Bergamasco, 2019).

Figura 1 - Localização geográfica dos três assentamentos rurais de coleta das etnovariedades de mandioca, localizados nos municípios de Carlinda, Alta Floresta e Paranaíta, no norte do estado de Mato Grosso, Brasil.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Ainda em campo, o material vegetal coletado foi armazenado em sacos plásticos do tipo Ziplock contendo sílica gel e, posteriormente, foram transportados para o 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 mantidos em freezer a -20 °C até o momento da extração do DNA total.

Tabela 1 - Identificação das etnovariedades coletadas (Sigla e nome de acordo com a denominação do agricultor) e locais de coleta (assentamento e seus respectivos municípios).

N	Sigla	Etnovariedades	Assentamento rural	Município
1	SPA01	Cacau		
2	SPA02	Mandioca de mercado		
3	SPA03	Mandioca avermelhada		
4	SPA04	Mandioca pão	São Paulo	Carlinda
5	SPA05	Vassourinha		
6	SPA06	Mandioca de metro		
7	SPA07	Mandioca branca		
8	SPA08	Mandioca amarela		



9	JAC01	Amarelinha		
10	JAC02	Mandioca de 4 meses		
11	JAC03	Cacau manteiga		
12	JAC04	Branca 1		
13	JAC05	Branca 2		
14	JAC06	Roxinha	Jacaminho	Alta Floresta
15	JAC07	Roxa		
16	JAC08	Vassourinha		
17	JAC09	Cacau talo roxo		
18	JAC10	Amarela de fritar		
19	JAC11	Cacau talo amarelo		
20	SPE01	Cacau amarela		
21	SPE02	Cacau roxa		
22	SPE03	Vassourinha		
23	SPE04	Mandioca talo roxo		
24	SPE05	Mandioca pão		
25	SPE06	Branca comum	São Pedro	Paranaíta
26	SPE07	Amarela comum		
27	SPE08	Mandioca do Paraná		
28	SPE09	Mandioca de fritar		
29	SPE10	Mandioca cana roxa		
30	SPE11	Não identificada		

Fonte: Elaborada pelas autoras.

2.2. EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA

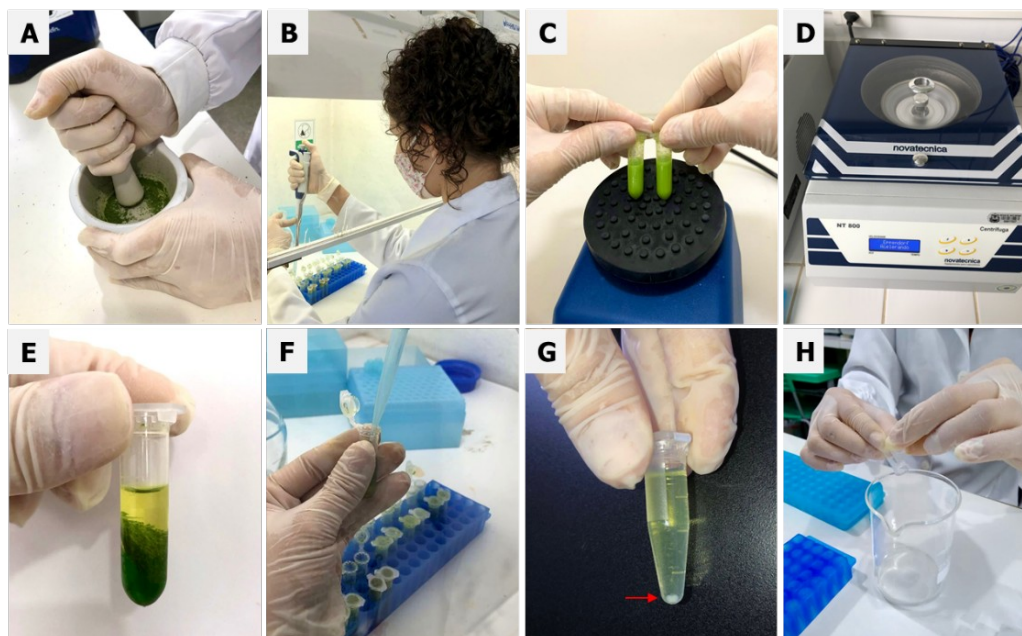
A extração do DNA total foi extraído de, aproximadamente, 100 mg de tecido foliar com base no método de CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio), seguindo o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), com algumas modificações descritas por Tiago *et al.* (2016), tais como: aumento da concentração de polivinilpirrolidona (PVP) de 1% para 2%, aumento nas concentrações de CTAB de 2% para 3% e de β -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 (Figura 2).

A qualidade e a integridade das amostras de DNA foram analisadas por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio (EtBr) (10 mg mL⁻¹) e submetido em cuba horizontal contendo solução de tampão TBE 1X, para a corrida eletroforética. Posteriormente, os géis foram visualizados, fotografados e editados em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e software L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®), respectivamente.

Para estimar as concentrações das amostras foi realizada a quantificação por meio do Microespectrofotômetro (ND-3800-OD Nano DOT). Em seguida, realizou-se a diluição das amostras de DNA até atingirem uma concentração de, aproximadamente, 20 ng μ L⁻¹, a partir da concentração inicial.



Figura 2 - Procedimento de extração de DNA das 30 etnov variedades de mandioca. A) Trituração das folhas em nitrogênio líquido; B) Adição do tampão de extração (CTAB 3% + β -mercaptoetanol + PVP) nas amostras; C) Agitação das amostras no vórtex; D) Microcentrifugação das amostras; E) Formação da fase aquosa superior; F) Coleta da fase aquosa superior; G) Formação do pellet; H) Lavagem do pellet com etanol 70%.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

2.3. AMPLIFICAÇÃO VIA PCR

As amplificações do DNA foram realizadas via PCR (*Polymerase Chain Reaction*), utilizando 15 *primers* ISSR (*Inter Sequence Simple Repeats*), desenvolvidos pela University of British Columbia (UBC), Vancouver, Canadá. As reações foram realizadas em um volume final de 10 μ L, contendo: 2 μ L de DNA (\pm 20 ng), 1 μ L de tampão 10x (1M KCl; 1M Tris pH 8.3; 1M MgCl₂; 10% Tween 20), 2 μ L de MgCl₂ (25 mM), 1,5 μ L de *primer* (0,2 mM), 2 μ L dNTP (0,1 mM de cada dNTP), 0,5 μ L DMSO, 0,1 μ L de Taq polimerase (5U/ μ L) e H₂O milli-Q® até completar o volume (Tiago *et al.*, 2016).

As reações foram conduzidas em 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: desnaturação a 94°C por 30 segundos; 35 segundos para anelamento a 47 - 58,9°C (dependendo do *primer* utilizado) e extensão a 72°C por 2 minutos. Já a extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos.

Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, sendo corados com brometo de etídio (0,6 ng mL⁻¹), por 20 minutos e, posteriormente, visualizados, fotografados e editados em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e software L-Pix STi, respectivamente (Loccus Biotecnologia®). Os tamanhos dos fragmentos amplificados (bandas) foram estimados, por comparação, com o marcador molecular KAPA Universal DNA Ladder (100 ng/ μ L) (KK6302), sendo considerado para a análise estatística apenas as bandas mais consistentes e evidentes.



2.4. ANÁLISE DE DADOS

Os fragmentos amplificados foram analisados visualmente para a construção de uma matriz binária de presença (1) e ausência (0) de bandas. A partir da matriz, foi calculada a porcentagem de polimorfismo para cada *primer* ISSR utilizando o número de bandas polimórficas e do número total de bandas (fragmentos).

Para estimar a eficiência em detectar polimorfismo, foi calculado o conteúdo de informação polimórfica (PIC - *Polymorphism Information Content*) de cada *primer*, por meio do número de bandas amplificadas e a frequência das mesmas, conforme proposto por Rezende *et al.* (2009).

O número ótimo de fragmentos amplificados foi estimado pela análise de *bootstrap* (Manly *et al.*, 1997), onde foi obtida a similaridade genética para cada par de etnovariedades utilizando o programa GENES (Cruz, 2016).

A matriz de dissimilaridade genética entre cada par de indivíduos foi calculada por meio do coeficiente de Jaccard (Meyer *et al.*, 2004). As análises de agrupamento das etnovariedades por meio dos métodos hierárquicos UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*), WARD e Vizinho Mais Próximo (*Nearest Neighbor*), foram realizadas a partir da matriz de dissimilaridade, e a escolha do método mais consistente foi baseada no coeficiente de correlação cofenética (CCC).

A análise de agrupamento a partir da distância genética entre as etnovariedades foi realizada pelo método de otimização de Tocher, utilizando a matriz de distância gerada pelo coeficiente aritmético de Jaccard. O dendrograma foi submetido ao ponto de corte proposto por Mojena (1977). Para ambas análises (UPGMA e Tocher) foi utilizado o programa computacional GENES (Cruz, 2016).

Para análise da estrutura genética das etnovariedades de mandioca, foi utilizado o método Bayesiano aplicado pelo programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Realizou-se vinte execuções para cada valor de K (K4), sendo 200.000 interações iniciais (*burn-ins*) e 500.000 simulações de Monte Carlo de cadeia de Markov (MCMC). O K mais provável foi definido pelos critérios de Pritchard e Wen (2004) e Evano *et al.* (2005), sendo submetidos os resultados no software Structure Harvester (Earl; Vonholdt, 2012).

As relações genéticas entre todas as etnovariedades avaliadas foram visualizadas através da Análise de Coordenadas Principais (PCoA), obtida por distância genética, usando o programa GenAlEx (Peakall; Smouse, 2006, 2012).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quinze *primers* ISSR utilizados na amplificação das 30 etnovariedades de mandioca, amplificaram um total de 190 fragmentos, dos quais 145 (76,32%) apresentaram-se polimórficos. O número total de fragmentos (NTF) variou entre 5 (UBC 815) e 18 (TriGTG5 e UBC 812) com média de 13 bandas por *primer* (Tabela 2).



Tabela 2 - *Primers* ISSR utilizados na amplificação de fragmentos de DNA de 30 etnovariedades de mandioca. Sequência de pb do *primer* (5' - 3'), temperatura de anelamento (TA), número total de fragmentos amplificados (NTF), número de fragmentos polimórficos (NFP), porcentagem de polimorfismo (%P) e conteúdo de informação polimórfica (PIC).

Primer	Sequência (5' - 3')	TA (°C)	NTF	NFP	%P	PIC
DiGA5'CY	*CY(GA) ₈	48,0	10	7	70,00	0,27
TriATG3'RC	(ATG) ₅ RC*	52,7	14	9	64,29	0,33
TriGTG5	(GTG) ₅	58,9	18	12	66,67	0,39
UBC 007	(GACA) ₃ GC	52,7	17	15	88,24	0,44
UBC 811	(GA) ₈ C	52,8	11	9	81,82	0,31
UBC 812	(GA) ₈ A	40,0	18	17	94,44	0,52
UBC 815	(CT) ₈ G	52,8	5	3	60,00	0,26
UBC 825	(AC) ₈ T	51,4	9	8	88,89	0,33
UBC 826	(AC) ₈ C	52,0	9	5	55,56	0,16
UBC 835	(AG) ₈ YC*	51,0	15	13	86,67	0,44
UBC 844	(CT) ₈ RC*	48,6	9	8	88,89	0,36
UBC 856	(AC) ₈ YA*	51,0	13	8	61,54	0,29
UBC 868	(GAA) ₆	50,0	12	11	91,67	0,32
UCB 888	BDB(CA) ₇	49,0	15	9	60,00	0,17
UBC 891	*HVH(TG) ₇	47,0	15	11	73,33	0,41
Total			190	145	76,32	-
Média			13	10	75,47	0,33

*Y = C ou T; R = A ou G; V = A, C ou G; H = A, C ou T.

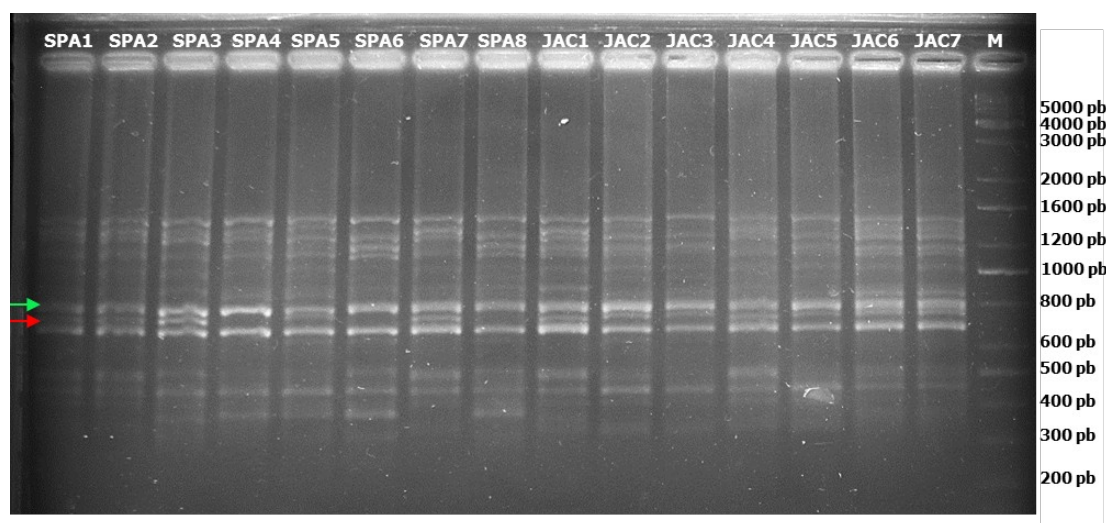
Fonte: Elaborado pelas autoras.

Os marcadores apresentaram um total de 76,32% de polimorfismo (145 bandas de 190), evidenciando que há diversidade genética entre as etnovariedades avaliadas. Resultados semelhantes foram encontrados por Figueredo *et al.* (2019), um total de 80,70% de polimorfismo, ao avaliarem 17 etnovariedades de mandioca utilizando oito *primers* ISSR. Cuchi *et al.* (2022), por sua vez, ao utilizarem 15 *primers* ISSR em 19 etnovariedades de mandioca, encontraram 60,13% de polimorfismo. Isso demonstra a eficiência dos *primers* ISSR na detecção de polimorfismo para a espécie *M. esculenta* Crantz.

O conjunto de *primers* utilizados neste estudo foi classificado, segundo Botstein *et al.* (1980), como moderadamente informativo ($0,25 < \text{PIC} < 0,50$), pois o PIC médio foi de 0,33, sendo, portanto, indicado para outros estudos com a espécie. Destaca-se o *primer* UBC 812 (Tabela 2), já que foi considerado altamente informativo por apresentar $\text{PIC} \geq 0,50$. O perfil eletroforético de 15 etnovariedades de mandioca utilizando o *primer* UBC 835 está representado na figura 3.



Figura 3 - Amplificação do DNA genômico de 15 etnovarietades de mandioca utilizando o *primer* UBC 835. M= marcador. A seta verde indica os fragmentos monomórficos, enquanto a seta vermelha indica os fragmentos polimórficos.

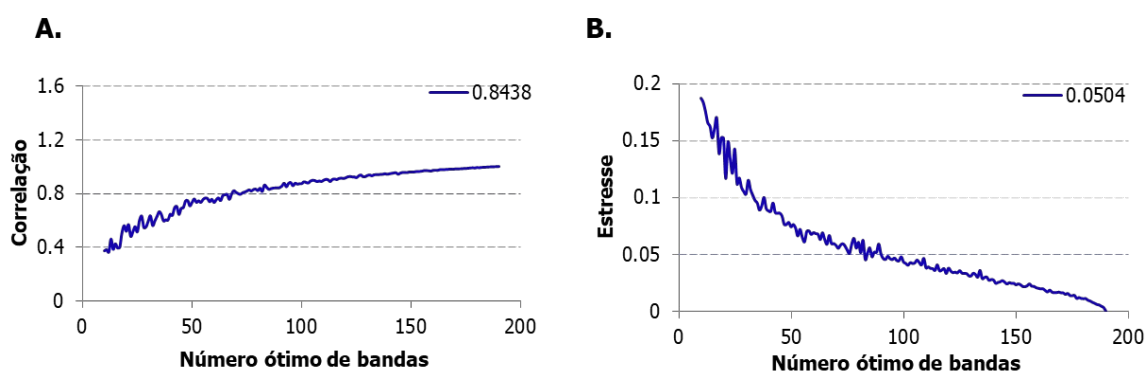


Fonte: Elaborado pelas autoras.

O número ótimo de fragmentos amplificados para se estimar confiavelmente a diversidade genética entre as 30 etnovarietades de mandioca foi de 90 fragmentos. Por meio desse valor, a correlação apresentou o total de 0,8434 (máximo 1) (Figura 4A) enquanto o estresse apresentou o valor 0,0504 (Figura 4B).

De acordo com 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 0,0504 e o número de fragmentos amplificados encontrado ($n = 190$) foi bem acima do estabelecido com número ótimo ($n = 90$), pode-se, portanto, considerar que as estimativas de diversidade genética que foram obtidas entre as etnovarietades de mandioca apresentaram excelente precisão.

Figura 4 - Estimativas das correlações (A) entre as similaridades genéticas pela análise *bootstrap* para números crescentes de marcadores ISSR polimórficos, e valores de estresse (B), indicando o número ideal de fragmentos para as análises genéticas de *M. esculenta* (90 fragmentos).



Fonte: Elaborado pelas autoras.



A dissimilaridade genética entre as 30 etnovariedades de mandioca, estimados a partir do complemento de Jaccard, apresentou distâncias que variaram de 0,0696 a 0,3882 (Tabela 3).

Tabela 3 - Separação dos pares de etnovariedades de mandioca de acordo com a dissimilaridade e suas, respectivas, distâncias genéticas.

	Etnovariedades	Distância genética
Similaridade	SPE01 e SPE03	0,0696
	SPA01 e SPA02	0,0786
	JAC03 e JAC05	0,1042
	JAC01 e SPA07	0,1203
	JAC06 e JAC07	0,1206
Dissimilaridade	SPA04 e SPE10	0,3882
	SPA04 e SPE11	0,3869
	JAC07 e SPA08	0,3855
	SPA04 e SPE06	0,3824
	JAC07 e SPA06	0,3734

Fonte: Elaborada pelas autoras.

A menor distância genética (0,0696) ocorreu entre as etnovariedades SPE01 (*Cacau amarela*) e SPE03 (*Vassourinha*), ambas cultivadas no assentamento São Pedro no município de Paranaíta-MT. Já as etnovariedades com maior distância genética (0,3882), ou seja, mais dissimilares geneticamente foram a SPA04 (*Mandioca pão*) e a SPE10 (*Mandioca cana roxa*) cultivadas no assentamento de Carlinda e Paranaíta, respectivamente. De acordo com Araújo *et al.* (2019), quanto maior for o valor da distância entre os pares de acessos, mais dissimilares geneticamente são esses acessos, já que a análise foi gerada com base na dissimilaridade genética.

Entre os métodos de agrupamento testados (WARD, NN e UPGMA), foi selecionado o método UPGMA por apresentar o maior coeficiente de correlação cofenética (CCC), menor estresse e distorção (0,80; 11,17; e 1,25 respectivamente), sendo, portanto, o método que melhor representou a diversidade genética existente entre as mandiocas avaliadas (Tabela 4). De acordo com Tiago *et al.* (2016), dentre os métodos hierárquicos disponíveis, geralmente o UPGMA é o que apresenta os valores mais altos de CCC, gerando uma menor distorção dos valores.

Tabela 4 - Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), estresse e distorção dos Métodos Ward, Vizinheiro mais próximo (NN) e UPGMA.

	WARD	NN	UPGMA
CCC	0,58**	0,74**	0,80**
Estresse (%)	-	26,53	11,17
Distorção (%)	-	42,50	1,25

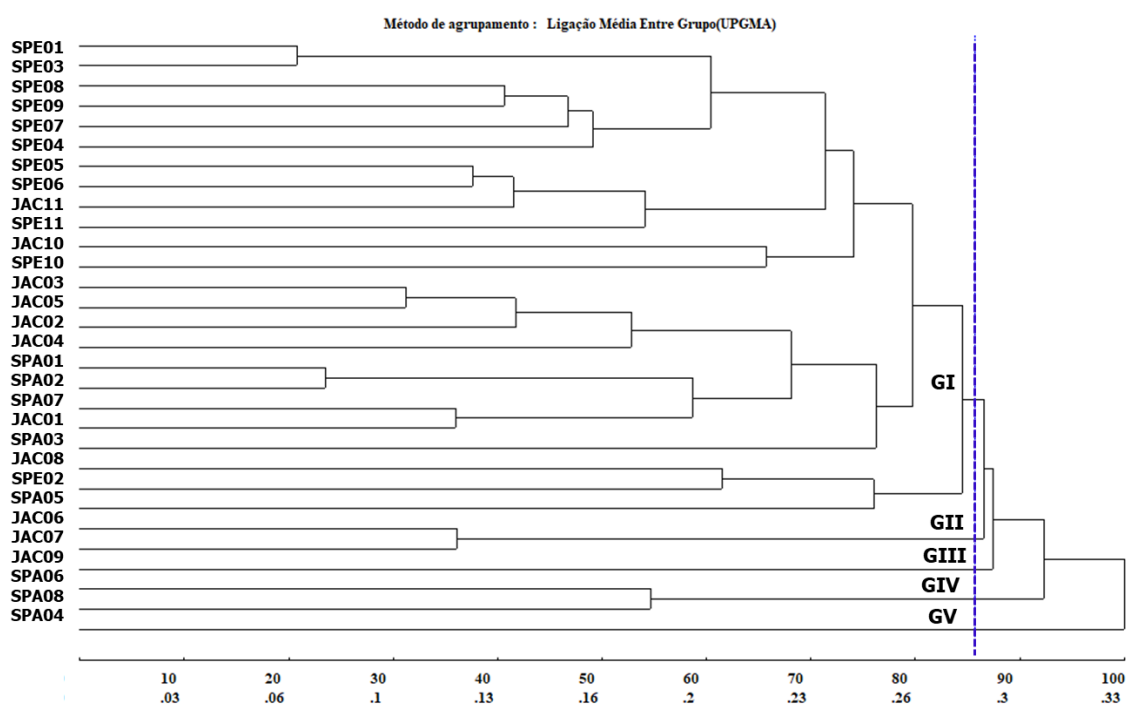
Fonte: Elaborado pelas autoras.



No presente estudo, é possível observar que o valor de CCC encontrado (0,80) 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 demonstram que o método é inadequado para resumir a informação do conjunto de dados. Valores de CCC satisfatórios também foram encontrados por Cuchi *et al.* (2022), Wolf *et al.* (2022) e Pedri *et al.* (2019), ao avaliarem a diversidade genética da espécie *Manihot esculenta* Crantz.

O dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA, ponto de corte de 85,68%, estabelecido por Mojena (1977), inferiu na formação de cinco grupos distintos entre as 30 etnovariedades (GI, GII, GIII, GIV e GV) (Figura 5). Não há ocorrência de duplicatas entre as etnovariedades avaliadas evidenciando a diversidade existente dentro do acervo avaliado.

Figura 5 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA, a partir das medidas de dissimilaridades entre 30 etnovariedades de mandioca utilizando o complemento aritmético do índice de Jaccard. CCC = 0,80; Ponto de Corte = 85,68%; Estresse = 11,17; Distorção = 1,25.



Fonte: Elaborado pelas autoras.

O Grupo I (GI) foi o mais numeroso, representado por 24 das 30 etnovariedades de mandioca avaliadas (80,00%). Neste grupo estão presentes as etnovariedades com maior similaridade genética (0,0696), SPE01 (*Cacau amarela*) e SPE03 (*Vassourinha*), ambas cultivadas no assentamento São Pedro, no município de Paranaíba.

O GII alocou as etnovariedades JAC06 (*Roxinha*) e JAC07 (*Roxa*), ambas cultivadas no assentamento rural Jacaminho. Já os grupos três (GIII) e cinco (GV) alocaram apenas uma etnovariedade, a JAC09 (*Cacau talo roxo*) e SPA04 (*Mandioca pão*),



respectivamente. Já o GIV foi formado por duas etnovariedades, a SPA06 (*Mandioca de metro*) e SPA08 (*Mandioca amarela*) ambas cultivadas no assentamento rural São Paulo.

No dendrograma observa-se uma mistura de etnovariedades dos diferentes assentamentos rurais, indicando que essas etnovariedades apresentam alguma característica em comum, mesmo sendo de diferentes localidades. Isso confirma a natureza de troca de material propagativo realizado entre diferentes agricultores, e que influencia a pouca estruturação geográfica dos indivíduos de mandioca (Elias *et al.*, 2004; Siqueira *et al.*, 2009; Pedri *et al.*, 2021).

Essa troca de manivas entre os produtores possibilita o surgimento de novas variedades, visto que os genótipos presentes nas roças já passaram por um processo de seleção (Oler; Amorozo, 2017), as características que surgem por meio dos cruzamentos têm maiores chances de serem interessantes e permanecerem no acervo do produtor. O conhecimento da diversidade das roças de mandioca possibilita a obtenção de variedades que atendam cada vez mais as demandas do consumidor, além da promoção de medidas que apoiem o produtor e o desenvolvimento sustentável da mandioca.

Além do agrupamento pelo método UPGMA também foi realizada a análise de agrupamento utilizando o método de Tocher, baseado na matriz de dissimilaridade de Jaccard, na qual, assim como o método UPGMA, também separou as 30 etnovariedades em cinco grupos (Tabela 5).

Tabela 5 – Agrupamento pelo método Tocher, baseado na matriz de dissimilaridade de Jaccard a partir da análise molecular com os marcadores ISSR das 30 etnovariedades de mandioca.

Grupos	Genótipos							
I	SPE01	SPE03	SPE04	SPE09	SPE08	SPE07	SPE02	SPA03
	JAC11	SPE05	SPE06	JAC05	JAC04	SPE11	SPE10	
	SPA07	JAC03	JAC02	SPA02	JAC01	JAC10	SPA01	
II	JAC06	JAC07						
III	SPA06	SPA08	SPA05	JAC08				
IV	SPA04							
V	JAC09							

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Os dois métodos de agrupamento (UPGMA e Tocher) foram capazes de evidenciar a diversidade genética existente entre as 30 etnovariedades de mandioca cultivadas em assentamentos rurais no norte de Mato Grosso. Ambos os métodos propiciaram a formação de cinco grupos entre as etnovariedades e apresentaram certa semelhança na separação e definição das etnovariedades mais divergentes (JAC09 - *Cacau talo roxo* e SPA04 - *Mandioca pão*). Essa semelhança entre os agrupamentos também foi observada no trabalho de Zuin *et al.* (2009) e Pedri *et al.* (2023) com a espécie *M. esculenta* Crantz.

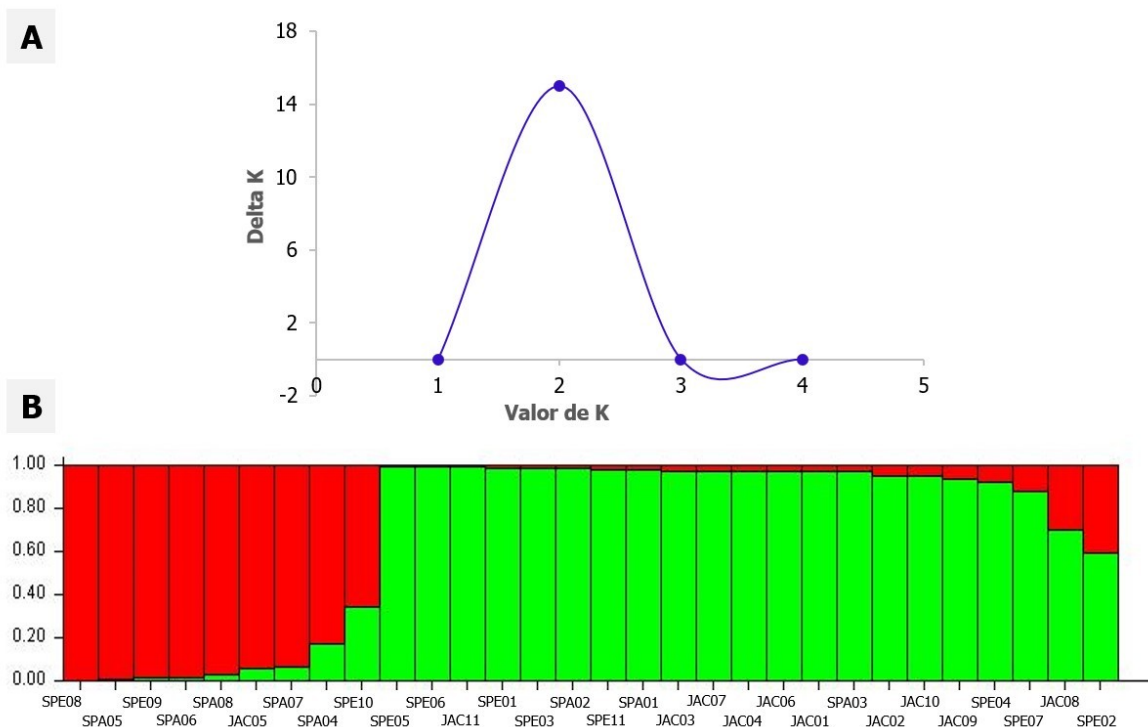


A análise bayesiana, obtida pelo programa Structure, dividiu as 30 etnovariedades em dois grupos genéticos ($K=2$) (Figura 6A). As linhas verticais ao longo do eixo X representam os indivíduos (etnovariedades) e os segmentos coloridos (vermelho e verde) ao longo do eixo Y demonstram o coeficiente de associação de cada indivíduo atribuído a cada um dos K (Figura 6B).

Na análise bayesiana é possível observar a presença de introgressores nos dois grupos avaliados, porém em maior intensidade na etnovariedade SPE10 do grupo vermelho (Figura 6). A presença de introgressores está relacionada com os indivíduos que apresentam cores diferentes na mesma barra de bar plot (Oliveira *et al.*, 2023b). No presente estudo, a ocorrência de introgressão nas etnovariedades de mandioca foi alta, considerando que apenas cinco etnovariedades do total avaliado, não apresentaram nenhuma proporção de introgressões, provenientes do outro grupo.

A presença de introgressores evidencia novamente a variabilidade existente no conjunto de etnovariedades estudadas. Esse compartilhamento de informações genética entre os indivíduos garante que as características já existentes, como a alta produtividade, sejam mantidas ao longo do tempo. Da mesma forma, a resistência a pragas e doenças, presente em algumas variedades, é de grande interesse no melhoramento genético, e a diversidade presente nas roças possibilita a ampliação dessas qualidades na cultura da mandioca.

Figura 6 - A: Gráfico de variação do Delta K obtido pela análise bayesiana em destaque para $K=2$ que melhor estima a estruturação genética das etnovariedades de *M. esculenta*; B: Agrupamento formado por 30 etnovariedades de mandioca com base em 15 *primers* ISSR utilizando a análise bayesiana. Cada barra vertical representa uma etnovariedade e a porcentagem de adesão a cada grupo (vermelho e verde).



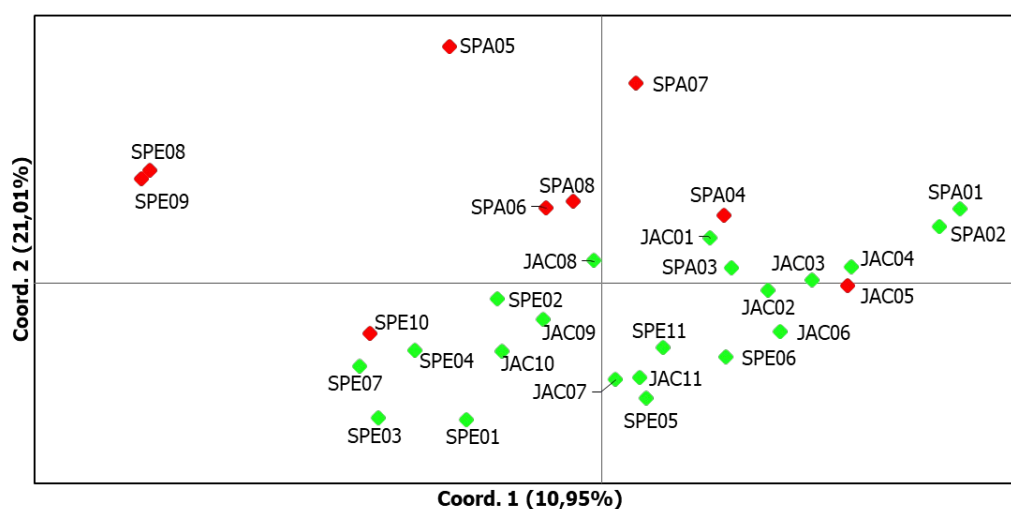
Fonte: Elaborado pelas autoras.



A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi consistente com a análise bayesiana, colocando as etnovariedades em dois grupos distintos, com os dois primeiros eixos explicando 29,81% da variação total, sendo que a maior parte as etnovariedades do grupo vermelho, foram alocas nas extremidades (Figura 7).

Figura 7 – Dispersão gráfica a partir da análise das coordenadas principais das 30 etnovariedades de *Manihot esculenta* coletadas em assentamentos rurais no norte do estado de Mato Grosso.

Principal Coordinates (PCoA)



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Resultados inferiores de PCoA foram encontrados por Tiago *et al.* (2019), ao avaliarem 29 etnovariedades de mandioca cultivadas no estado de Mato Grosso, utilizando marcadores SSR, obtiveram valores para as duas Coordenadas Principais de 14,51% da variação total. No entanto, apesar do valor de PCoA ser distinto, os autores obtiveram variação genética entre as etnovariedades estudadas, assim como no presente estudo.

As diferentes etnovariedades de mandioca mantidas pelos agricultores nos assentamentos rurais é fundamental para promover a conservação e ampliação da variabilidade genética da espécie. Além disso, a troca de manivas realizada entre os agricultores é um dos fatores que contribuem para o aumento da diversidade dos acervos (Figueredo *et al.*, 2019; Tiago *et al.*, 2019; Pedri *et al.*, 2021). Isso ressalta a relevância dos agricultores na conservação da diversidade da espécie, garantindo a sustentabilidade, o fortalecimento das comunidades rurais e a segurança alimentar e nutricional a longo prazo.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há diversidade genética entre as 30 etnovariedades de mandioca cultivadas nos três assentamentos rurais no norte do estado de Mato Grosso, com destaque para JAC09 (*Cacau talo roxo*) e SPA04 (*Mandioca pão*) como as mais divergentes dentro do acervo.



Os assentamentos rurais são importantes locais de conservação *on farm* da mandioca, pois contribuem para a manutenção da diversidade genética existente dentro da espécie.

O estudo fornece informações relevantes para a tomada de decisões estratégicas sobre conservação e uso sustentável da mandioca, além de contribuir para a valorização das comunidades rurais.

5. REFERÊNCIAS

AFONSO, S. D. J.; ALFREDO, T. J. D. C.; SERRANO, L. R. P. Diversidade genética em variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) nas condições agroecológicas de Malanje (original). **Revista Granmense de Desarrollo Local** (Redel), v. 4, p. 527-540, 2020.

ANTONINI, J. C. A. *et al.* Desempenho agrônômico de mandioca de mesa manejada com irrigação e uso de cobertura plástica do solo. **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 6, p. 47-55, 2020.

ARAÚJO, L. B. R. *et al.* Diversidade genética em pinhão manso com base em marcadores ISSR. **Nativa**, v. 7, n. 4, p. 363-370, 2019.

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.

CHEN, Yu *et al.* Genetic diversity and variation of Chinese fir from Fujian province and Taiwan, China, based on ISSR markers. **PloS one**, v. 12, n. 4, p. e0175571, 2017.

COSTA, F. *et al.* Revestimentos comestíveis à base de fécula de mandioca (*Manihot esculenta*) em produtos vegetais: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. 1-13, 2022.

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

CUCHI, G. *et al.* Caracterização molecular de etnovarietades de *Manihot esculenta* Crantz com utilização de marcadores moleculares ISSR. **Conjecturas**, v. 22, n. 13, p. 747-764, 2022.

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, n. 2, p. 359-361, 2012.

ELIAS, M. *et al.* Genetic diversity of traditional South American landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): an analysis using microsatellites. **Economic Botany**, v. 52, n. 2, p. 242-256, 2004.



- EVANO, 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.
- FIGUEREDO, P. E. *et al.* Diversidade genética de mandiocas na região periurbana de Sinop, Mato Grosso, Brasil. **Magistra**, v. 30, n. 1, p. 143-153, 2019.
- GERVAZIO, W.; BERGAMASCO, S. M. P. P. **Assentamento São Pedro em prosas e versos: Jardim do Éden e a conquista do paraíso**. Alta Floresta, MT: Gráfica Cidade, 2019.
- GUIMARÃES, D. G. *et al.* Physiological and agronomic characteristics of cassava genotypes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 5, p. 354-361, 2017.
- KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.
- LANDAU, E. C.; DA SILVA, G. A.; ROCHA, M. S. Evolução da produção de mandioca (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae). In: LANDAU, E. C. *et al.* (Ed.). **Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: produtos de origem vegetal**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2020. p. 981-1008.
- 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.
- MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology**. 2.ed. London: Chapman and Hall, 1997.
- 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.
- MOJENA R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.
- MODESTO JUNIOR, M. de S.; ALVES, R. N. B.; ABREU, L. F. Rentabilidade do beneficiamento de folhas de mandioca e de maniçobeira para maniçoba. In: ALVES, R. N. B.; MODESTO JUNIOR, M de S. (Org.). **Mandioca: agregação de valor e rentabilidade de negócios**. Brasília: Embrapa Amazônia Oriental, 2019. p.157-183.
- NICOLI NETO, A. *et al.* Produtividade e qualidade de mandioca para mesa em diferentes épocas de colheita e lâminas de irrigação. **IRRIGA**, v. 24, n. 4, p. 704-718, 2019.
- OLER, J. R. L.; AMOROZO, M. C. D. M. Etnobotânica e conservação *on farm* de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na agricultura de pequena escala no Estado de Mato Grosso, Brasil. **Interações**, v. 18, p. 137-153, 2017.
- OLIVEIRA, A. J. de. *et al.* Genetic variability in genotypes of safflower via SSR molecular marker. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 47, n. 1, p. 1-12, 2023b.



- OLIVEIRA, E. L. *et al.* Comportamento de variedades de mandioca indústria em ambiente de sequeiro na bacia do rio pandeiros, Minas Gerais. **Revista Ciência Agrícola**, v. 21, n. 1, p. 48-52, 2023a.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 1, p. 288-295, 2006.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.
- 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 (GMR)**, v. 18, n. 3, p. 1-11, 2019.
- PEDRI, E. C. M. *et al.* Diversidade genética entre etnovariedades de mandioca cultivadas no norte do estado de Mato Grosso por meio de descritores morfoagronômicos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. 1-18, 2021.
- PEDRI, E. C. M. *et al.* Divergência genética entre etnovariedades de mandioca com base em caracteres agrônômicos quantitativos. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 6, p. 3577-3590, 2023.
- PEDRI, E. C. M. Utilização de marcadores microssatélites para avaliação da diversidade genética de variedades locais de mandioca. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 19, n. 1, p. 23-29, 2024.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.
- PRITCHARD, J. K.; WEN, W. **Documentation for structure software**: version 2.1. 2004.
- SIVIERO, A.; LESSA, L. S.; SANTOS, R. C. Variedades de mandioca do Acre. In: SIVIERO, A.; SANTOS, R. C. D.; MATTAR, E. P. L. **Conservação e tecnologias para o desenvolvimento agrícola e florestal do Acre**. Rio Branco: IFAC, 2019. p. 519-566.
- REZENDE, R. K. *et al.* Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2435-2440, 2009.
- RIBEIRO, F. W. *et al.* Custos de produção e rentabilidade econômica do cultivo da mandioca em Goiás. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 1, p. 104-110, 2019.
- ROHLF, F. J. Adaptive hierarchical clustering schemes. **Systematic Biology**, v. 19, n. 1, p. 58-82, 1970.
- SANCHES, F. S. *et al.* (2017). **PMSB - Plano municipal de Saneamento básico e PMGIRS - Plano municipal de gerenciamento integrado de resíduos sólidos**. Disponível em: https://persmt.setec.ufmt.br/wp-content/uploads/2020/09/PMSB_ALTA-FLORESTA. Acesso em: 13 jun. 2023.



- SILVA, H. H. *et al.* Conflitos de uso e ocupação dos solos no assentamento rural São Paulo no município de Carlinda, MT. **Agrarian Academy**, v. 4, n. 07, 2017.
- 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.
- SIQUEIRA, M. V. B. M. *et al.* Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta*) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 1, p. 104-110, 2009.
- SOUSA, R. M. *et al.* Avaliação agrônômica de novos clones de *Manihot esculenta* Crantz no segundo ciclo vegetativo. **Nativa**, v. 9, n. 3, p. 310-317, 2021.
- SOUZA, E.; KALID, R. Transferência de tecnologia no cultivo de mandioca - o caso do Projeto Reniva. **Interações**, v. 23, n. 2, p. 423-439, 2022.
- TEIXEIRA, G. C. *et al.* Genetic diversity analysis of two Eucalyptus species using ISSR markers. **Ciência Florestal**, v. 30, n. 1, p. 270-278, 2020.
- 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, p. 1-10, 2016.
- TIAGO, A. V. *et al.* Genetic diversity and population structure of cassava ethno-varieties grown in six municipalities in the state of Mato Grosso, Brazil. **Genetics and Molecular Research (GMR)**, v. 18, n. 4, p. 1-17, 2019.
- TOVAR, E. *et al.* Diversity and genetic structure of cassava landraces and their wild relatives (*Manihot* spp.) in Colombia revealed by simple sequence repeats. **Plant Genetic Resources**, v. 14, n. 3, p. 200-210, 2015.
- WOLF, M. S. *et al.* Diversidade genética entre etnovariedades de mandioca por meio de marcadores ISSR. **Conjecturas**, v. 22, n. 16, p. 532-546, 2022.
- ZUIN, G. C. *et al.* Divergência genética entre acessos de mandioca-de-mesa coletados no município de Cianorte, região Noroeste do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 21-30, 2009.

Submetido em: **24/10/2023**

Aceito em: **12/08/2024**