

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO

NATÁLIA ZARDO BARBIERO

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA NO
ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

ALEGRE-ES

2018

NATÁLIA ZARDO BARBIERO

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA NO
ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento.

Orientador: Prof. Dr. Adésio Ferreira.

ALEGRE-ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)
Bibliotecário: Felício Gomes Corteletti – CRB-6ES-000646/O

B236v Barbiero, Natália Zardo, 1992-
Variabilidade genética de genótipos de mandioca no Estado do
Espírito Santo / Natália Zardo Barbiero. – 2018.
78 f. : il.

Orientador: Adésio Ferreira.

Coorientadores: Marcia Flores da Silva Ferreira; Cíntia Machado
de O. M. Carias.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e
Engenharias.

1. Plantas - Variação. 2. Plantas – Melhoramento Genético. 3.
Mandioca. I. Ferreira, Adésio. II. Ferreira, Marcia Flores da Silva. III.
Carias, Cíntia Machado de O. M. IV. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 631.523

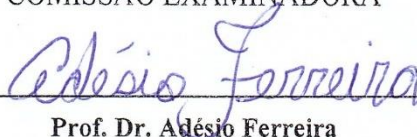
NATÁLIA ZARDO BARBIERO

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA NO
ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2018.

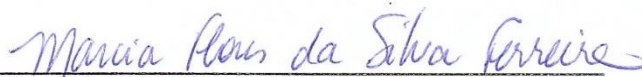
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Adésio Ferreira

Universidade Federal do Espírito Santo

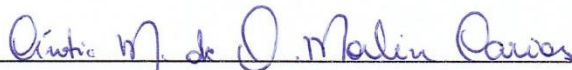
Orientador



Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira

Universidade Federal do Espírito Santo

Coorientadora



Dr.^a Cíntia Machado de O. M. Carias

Universidade Federal do Espírito Santo

Coorientadora



Prof. Dr. José Carlos Lopes

Universidade Federal do Espírito Santo

Aos meus pais, que me incentivaram não só a sonhar, mas a conquistar os meus sonhos.

Dedico.

“Plante seu jardim e decore sua alma,
Ao invés de esperar que alguém lhe traga flores.
E você aprende que realmente pode suportar, que realmente é forte,
E que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais.
Que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida!”

(William Shakespeare)

AGRADECIMENTO

A Deus pela vida, saúde, proteção e por nunca me deixar desistir.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, amor e dedicação de sempre.

Aos meus familiares e amigos que nunca estiveram ausentes, agradeço o apoio, amizade e o carinho que sempre me disponibilizaram.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo/FAPES, pela concessão da bolsa e aos órgãos de fomento CNPq e CAPES que contribuíram para essa pesquisa.

Aos Professores Adésio Ferreira e Marcia Flores da Silva Ferreira pela ajuda, orientação, compreensão, confiança e pelos ensinamentos para realização da pesquisa.

À minha coorientadora Cíntia Machado, por toda ajuda, apoio e amizade.

A todos os professores que fizeram parte da minha trajetória nesses anos de mestrado.

A todos do Laboratório de Genética e Melhoramento Vegetal e Biometria pela convivência, amizade e valioso apoio em todos os momentos.

A todos que ajudaram na execução deste trabalho, nas coletas, no plantio, avaliações em campo, análises moleculares e análises dos dados da mandioca. Meu eterno Obrigada!

Aos colegas e amigos da Pós-Graduação pela agradável convivência.

Enfim, a todos aqueles que, de alguma forma, torceram por mim, dedicaram e participaram do desenvolvimento deste trabalho, o meu reconhecimento e a minha gratidão.

BIOGRAFIA

NATÁLIA ZARDO BARBIERO, filha de Juarez Barbiero e Maria Aparecida Zardo Barbiero, nascida na cidade de Vila Velha-ES, em 14 de maio de 1992.

Concluiu o Ensino Médio em 2009, na Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio “João Bley”, em Castelo-ES.

Ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica-RJ, em março de 2010. Transferiu o curso para Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre-ES, em agosto de 2012, graduando-se em maio de 2016.

Em junho de 2016 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, linha de pesquisa Melhoramento, na Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), como bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo/FAPES, obtendo o título de Mestre em 2018.

RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie alógama, monóica, com elevada capacidade de desenvolvimento em condições ambientais adversas, e constitui um alimento básico para mais de um bilhão de pessoas nos países tropicais. A espécie possui diversidade genética ampla e potencial como base de matéria-prima para uma série de produtos, além de contribuir para a transformação agrícola e crescimento econômico nos países em desenvolvimento. Neste trabalho, objetivou-se caracterizar a diversidade genética de 141 genótipos tradicionais de mandioca de mesa coletados no estado do Espírito Santo por marcadores microssatélites e caracteres morfológicos qualitativos, visando gerar informações relevantes para o melhoramento, uso e conservação destes genótipos no estado. Foram coletados 141 materiais, entre genótipos da região sul (63), serrana (40) e norte (38) do estado do Espírito Santo, e três genótipos comerciais BRS Jari, BRS Dourada e BRS Kiriris, materiais melhorados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura. As três populações foram avaliadas pelo mesmo grupo de microssatélites e, o maior número de alelos (105) foi detectado nos genótipos da região sul, com maior número de indivíduos amostrados e média de seis alelos por *loci*. Na região serrana foram identificados 92 alelos nos 40 indivíduos, com média de cinco alelos por *loci* e para região norte 90 alelos nos 38 indivíduos, com média de cinco alelos por *loci*. Os *loci* EME260, EME189 e NS198 apresentaram os maiores números de alelos para as populações da região sul, serrana e norte, com os valores 9, 8 e 8, respectivamente. Os resultados obtidos com a análise de variáveis multicategóricas e por marcadores SSRs, evidenciam a existência de variabilidade genética. O método de agrupamento UPGMA para os dados qualitativos e moleculares apresentaram semelhança na formação de grupos. Tanto na caracterização morfológica, quanto por microssatélites, alguns genótipos comerciais e tradicionais agruparam-se. Pode-se afirmar que os materiais tradicionais possuem características semelhantes aos comerciais oriundos de melhoramento genético. A caracterização foi realizada de forma eficiente com o uso de descritores qualitativos, destacando-se os caracteres cor externa do caule, cor do pecíolo e forma do lóbulo central das folhas, que apresentaram grande variabilidade, sendo considerados os descritores apropriados para a diferenciação dos genótipos de mandioca neste estudo. Existe alta diversidade no material estudado, com a maior parte desta diversidade distribuída entre as regiões sul e serrana.

Palavras-chave: diversidade; melhoramento genético; *Manihot esculenta* Crantz; marcadores microssatélites; descritores morfológicos.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Distribuição percentual da produção mundial da mandioca em 2013 | 19 |
| Figura 2. Mapa de localização das cidades de coleta no estado do Espírito Santo. | 24 |
| Figura 3. Desenvolvimento do experimento. (A) Coleta do material para plantio. (B) Planta, na coleta das folhas para extração de DNA. (C) Etapa da extração do DNA. (D) Fase de avaliação morfológica das plantas..... | 32 |
| Figura 4. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor do cortex do caule de mandioca | 39 |
| Figura 5. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor externa do caule de mandioca..... | 40 |
| Figura 6. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor da folha apical de mandioca | 41 |
| Figura 7. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor do pecíolo de mandioca | 42 |
| Figura 8. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à forma do lóbulo central das folhas de mandioca | 43 |
| Figura 9. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à doença de mandioca..... | 43 |
| Figura 10. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à floração de mandioca | 44 |
| Figura 11. Agrupamento baseado na distância euclidiana média entre 141 genótipos de mandioca coletados no estado do Espírito Santo (63 R. sul, 40 R. serrano e 38 R. norte) e três genótipos comerciais da Embrapa (BRS Kiriris; BRS Jari; BRS Dourada) de mandioca. | 47 |
| Figura 12. Agrupamento baseado na distância genética de Nei (1973) entre 141 genótipos crioulos coletados do estado do Espírito Santo (63 R. sul, 40 R. serrano e 38 R. norte) e 3 genótipos comerciais da Embrapa (BRS Kiriris; BRS Jari; BRS Dourada) de mandioca | 56 |
| Figura 13. Valor de ΔK de possíveis agrupamentos de 144 genótipos de mandioca obtidos de dez simulações de análise da estrutura | 57 |
| Figura 14. Gráfico obtido pela análise no STRUCTURE, em populações de mandioca coletadas no estado do Espírito Santo, onde cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo por uma barra vertical (K=3)..... | 59 |

| | |
|--|----|
| Figura 15. Gráfico obtido pela análise no STRUCTURE, em populações de mandioca coletadas no estado do Espírito Santo, onde cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo por uma barra vertical (K=4)..... | 60 |
| Figura 16. Gráfico obtido pela análise no STRUCTURE, em populações de mandioca coletadas no estado do Espírito Santo, onde cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo por uma barra vertical (K=5)..... | 61 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Produção mundial de raiz de mandioca na safra 2014..... | 19 |
| Tabela 2. Identificação, nome e características dos genótipos comerciais de mandioca utilizados no trabalho..... | 25 |
| Tabela 3. Identificação, nome e características dos genótipos tradicionais de mandioca colhidas na região sul do ES..... | 25 |
| Tabela 4. Identificação, nome e características dos genótipos tradicionais de mandioca colhidas na região serrana do ES..... | 28 |
| Tabela 5. Identificação, nome e características dos genótipos tradicionais de mandioca colhidas na região norte do ES..... | 30 |
| Tabela 6. Descrição dos <i>loci</i> de microssatélites utilizados..... | 33 |
| Tabela 7. Análise descritiva dos 17 <i>loci</i> microssatélites utilizados nas populações de mandioca das regiões Sul, Serrano e Norte do estado do Espírito Santo: número de alelos por <i>loci</i> (<i>A</i>); heterozigosidade esperada (H_e); heterozigosidade obser observada (H_o); coeficiente de endogamia (<i>f</i>) e conteúdo de informação polimórfico (<i>PIC</i>). | 51 |
| Tabela 8. Análise descritiva dos 17 <i>loci</i> microssatélites utilizados na população de <i>M. esculenta</i> Crantz: número de alelos por <i>loci</i> (<i>A</i>); heterozigosidade esperada (H_e); heterozigosidade observada (H_o); coeficiente de endogamia (<i>f</i>) e conteúdo de informação polimórfico (<i>PIC</i>). | 53 |
| Tabela 9. Índices de diversidade genética de populações de <i>M. esculenta</i> Crantz: número de alelos por população (<i>A</i>); número de alelos raros (A_r); número de alelos da população/número total de alelos na espécie (P_a); heterozigosidade esperada (H_e); heterozigosidade observada (H_o); coeficiente de endogamia (<i>f</i>) e conteúdo de informação polimórfico (<i>PIC</i>). | 54 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|---------------|--|
| IBPGR | - International Board for Plant Genetic Resources |
| CIAT | - Centro Internacional de Agricultura Tropical |
| IPGRI | - International Plant Genetic Resources Institute |
| SSR | - Simple Sequence Repeats |
| RAPD | - Random Amplified Polymorphic DNA |
| AFLP | - Amplified Fragment Length Polymorphism |
| DNA | - Deoxyribonucleic acid |
| PCR | - Polymerase Chain Reaction |
| CTAB | - Brometo de cetil- trimetil amônio |
| <i>A</i> | - Número de alelos |
| <i>He</i> | - Heterozigosidade esperada |
| <i>Ho</i> | - Heterozigosidade observada |
| <i>PIC</i> | - Conteúdo de informação polimórfico |
| <i>f</i> | - Coeficiente de endogamia |
| <i>A/loco</i> | - Número médio de alelos por locos |
| <i>APRIV</i> | - Número de alelos privados |
| <i>HW</i> | - Hardy- Weinberg |
| UPGMA | - <i>Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean</i> |
| MCMC | - Monte Carlo Markov Chain |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 2.1 | Aspectos Gerais | 16 |
| 2.1.1 | Centro de Origem e Diversidade..... | 16 |
| 2.1.2 | Botânica | 16 |
| 2.1.3 | Importância econômica | 18 |
| 2.1.4 | Estratégias e Melhoramento..... | 20 |
| 3 | OBJETIVOS | 23 |
| 3.1 | Objetivo geral | 23 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 4.1 | Material vegetal | 24 |
| 4.2 | Análises moleculares | 32 |
| 4.3 | Análises de descritores qualitativos..... | 34 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 39 |
| 5.1 | Análises morfológicas qualitativas em populações da região sul, serrano e norte de mandioca..... | 39 |
| 5.2 | Análise de agrupamento morfológico..... | 46 |
| 5.3 | Diversidade dos <i>loci</i> e diferenciação entre e dentro de populações de <i>Manihot esculenta</i> | 48 |
| 5.4 | Análise de agrupamento molecular | 54 |
| 5.5 | Estrutura genética populacional..... | 57 |
| 6 | CONCLUSÕES | 62 |
| 7 | REFERÊNCIAS | 63 |

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie alógama, monóica, diploide ($2n=36$ cromossomos), adaptada às condições adversas de clima e solo, tolerante a estresses bióticos e abióticos, que pode apresentar rendimentos elevados até mesmo em solos já esgotados por outras culturas (ICGMC, 2015). É considerada um alimento básico para mais de um bilhão de pessoas nos países tropicais (CHETTY et al., 2013). Na África, é a segunda fonte mais importante de calorias e suas raízes tuberosas fornecem mais de um quarto das calorias diárias em alguns países africanos, como Angola e Moçambique (FAO, 2016).

Atualmente, a Nigéria é o maior produtor mundial de mandioca, seguida por Tailândia, Indonésia, Brasil, República Democrática do Congo e Gana. Juntos, esses países representam mais de 60% da produção mundial. O Brasil ocupa a quarta posição com uma produção de 20,60 milhões de toneladas em 2017 (CONAB, 2017).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2017), a mandioca tem sido a base de matéria-prima para uma série de produtos, o que podem aumentar a demanda pela planta e contribuir para a transformação agrícola e crescimento econômico nos países em desenvolvimento. Entretanto, os potenciais de produtividade e qualidade das raízes, são maximizados apenas em plantações bem conduzidas e com genótipos melhorados.

A diversidade genética da espécie é considerada ampla (NASSAR, 2006), concentrando-se principalmente na América Latina e no Caribe. Aproximadamente 8500 acessos de mandioca são mantidos em todo o mundo em diferentes coleções (COSTA; MORALES, 1994). O gênero *Manihot* apresenta variabilidade genética natural, o que favorece projetos de pesquisa que visam o melhoramento genético com a mandioca cultivada (NASSAR; GRATTAPAGLIA, 1986), buscando aumentar os rendimentos das raízes tuberosas, priorizando a tolerância à seca, conteúdo cianogênico, baixas condições de fertilidade do solo e resistência a uma ampla gama de doenças (EL-SHARKAWY, 2004). Além disso, os esforços também se concentram na melhoria da qualidade nutricional da mandioca (MONTAGNAC et al., 2009; GONZALEZ et al., 2011; SAYRE et al., 2011; CEBALLOS et al., 2013) e práticas agronômicas (CIAT, 2007).

Marcadores moleculares vêm sendo utilizados frequentemente na estimativa da variabilidade genética da cultura, em razão da alta capacidade de detecção de variações no genoma (ZACARIAS et al., 2004; FERREIRA et al., 2008; VIEIRA et al., 2008). O uso

combinado de marcadores morfológicos e moleculares auxiliam trabalhos de melhoramento, no desenvolvimento de cultivares mais produtivos e de melhor qualidade, para atender as demandas do setor produtivo. Nesse contexto, a caracterização e a seleção de plantas matrizes de maior potencial produtivo e qualidade das raízes, são consideradas uma das principais alternativas para o aumento de produtividade, sem implicar em custos adicionais.

Deste modo, objetivou-se caracterizar a divergência genética de 141 genótipos tradicionais de mandioca colhidos no estado do Espírito Santo através de marcadores SSR e caracteres morfológicos qualitativos, visando extrair novos materiais superiores.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais

2.1.1 Centro de Origem e Diversidade

A espécie *Manihot esculenta* Crantz evoluiu a partir da espécie *M. flabellifolia*, como centro de origem e de diversidade da América do Sul, mais precisamente na região Nordeste do Brasil, extremo sul da Bacia da Amazônia, área pertencente ao atual estado do Mato Grosso. A domesticação ocorreu na região há cerca de seis mil anos, utilizada na alimentação das populações pré-colombianas (GULICK et al., 1983; ALLEM, 1994; OLSEN, 2004; CARVALHO, 2005; LOPES et al., 2010; VIEIRA et al., 2011; COIMBRA, 2013).

Dois centros de diversidade de espécies são reconhecidos: o Brasil, com cerca de 76 espécies (66 endêmicas) (CORDEIRO et al., 2014), o que representa 80% da diversidade conhecida (ALLEM, 2002) e o México, com 17 espécies. A maioria das espécies do gênero colonizaram ambientes sazonalmente secos e com baixa fertilidade do solo (DUPUTIÉ et al., 2011; ICGMC, 2015).

No Brasil, os quatro principais centros de diversidade reconhecidos são: o Planalto Central (com 58 das 80 espécies), seguido do Nordeste, Sudeste e a Amazônia (CARVALHO, 2005).

No mundo, são mantidos cerca de 8500 acessos, dos quais 7500 na América do Sul, e catalogados 4132 acessos (COSTA; MORALES, 1992; COSTA; MORALES, 1994; CORDEIRO et al., 1995). Estes acessos são mantidos e conservados em coleções de trabalho e bancos ativos de germoplasma distribuídos em todo o país (FUKUDA; ALVES, 1987).

2.1.2 Botânica

De acordo com a classificação botânica a mandioca pertence à classe das Dicotiledôneas, à subclasse Archiclamydeae, à ordem Euphorbiales, à família Euphorbiaceae, à tribo Manihoteae, ao gênero *Manihot* e a espécie *M. esculenta* (FUKUDA; IGLESIAS, 2006). Dentro do gênero *Manihot*, foram identificadas aproximadamente 98 espécies, das quais a *M. esculenta* é a única cultivada comercialmente

na alimentação humana, animal e na indústria (FUKUDA; SILVA, 2002; FIALHO; VIEIRA, 2011).

A mandioca é uma espécie diplóide ($2n = 36$), alógama, monoica, perene, com vasta adaptação às mais variadas condições de solo e clima. Sua propagação comumente é feita por estaquia, chamadas "manivas", e por sementes (FREGENE et al., 2001; FARIAS et al., 2006; SILVA et al., 2009; NARINA; ODENY, 2012).

O sistema radicular é considerado pseudofasciculado, superficial e pivotante, com diferentes conformações (cônicas, cilíndricas, fusiformes, estranguladas, tortuosas). Uma raiz de formato tortuosa ou estrangulada terá um rendimento industrial menor, pois o ato do descascamento mecânico por atrito será menos preciso, levando ao desperdício. O tamanho das raízes varia de acordo com as variedades e cultivos, idealmente, as raízes devem ter de 30 a 40 cm (ROGERS; APPAN, 1976; CONCEIÇÃO, 1987).

Na planta jovem, o caule é esverdeado e posteriormente assume a coloração cinza ou marrom. Apresenta crescimento contínuo, com diversos hábitos de ramificação: ereto, dicotômico, tricotômico e tetracotômico. É uma planta de altura variável entre 1,0 a 2,0 m (CÂMARA, 1983; CONCEIÇÃO, 1987).

A parte aérea tem sua importância secundária pelo conteúdo em proteína, carboidratos, minerais e vitaminas. As folhas são simples, alternadas, lobadas e com pecíolo longo (9 a 20 cm de comprimento), possuem de três a nove lóbulos com coloração variada (verde claro, verde escuro até roxo) inseridas no caule de forma espiralada (ROGERS; APPAN, 1976; EMBRATER 1979; CONCEIÇÃO, 1987; BERNARDES et al., 2009).

A inflorescência é do tipo panícula, localizada onde os galhos bifurcam. As flores são unissexuadas, sem corola, com cálice petalóide de cinco sépalas, sendo as masculinas localizam na parte superior, em maior número, e flores femininas, na parte basal em número inferior (EKANAYAKE et al., 1998). A planta possui mecanismo que favorece a alogamia, dicogamia protogínica, isto é, na mesma inflorescência de uma mesma planta, as flores masculinas amadurecem uns dias depois das flores femininas. (EMBRATER 1979; FARIAS et al., 2006; BERNARDES et al., 2009). Conseqüentemente, a plantas são altamente heterozigotas e possuem forte depressão endogâmica ocasionada pelas autofecundações (SOTO, 2015).

O fruto é uma cápsula contendo três sementes, designando-se por isso tricoca, com deiscência loculicida e septicida, abrindo-se em seis válvulas, quando amadurece ou se

encontra seco (EMBRATER, 1979). As sementes são pequenas, carunculadas acinzentadas, “providas de testa e tegumento, micrópila, hilo, rafe e chalaza” (CONCEIÇÃO, 1987).

Todas as plantas de mandioca apresentam compostos tóxicos com variação da concentração nas raízes, devido à presença de glicosídeos cianogênicos conhecidos como linamarina e lotaustralina (proporção de 93:7). Estes compostos, sob ação de ácidos e enzimas sofrem hidrólise e liberam acetona, glicose e ácido cianídrico (HCN). O HCN constitui-se num produto tóxico que inibe a atividade das enzimas da cadeia respiratória dos seres vivos (CAGNON et al., 2002).

A mandioca é classificada pelo conteúdo de HCN/kg nas raízes frescas: I) não venenosas, menos de 50 mg de HCN/kg da raiz fresca; II) pouco venenosa, de 50 a 80 mg de HCN/kg de raiz fresca; III) venenosa, de 80 a 100 mg de HCN/kg da raiz fresca; IV) muito venenosa mais de 100 mg de HCN/kg de raiz fresca (OLIVEIRA, 1986).

Com relação ao valor nutritivo, a mandioca é uma ótima fonte de energia, visto que cada 100 g de sua parte comestível fornecem 149 K cal. São encontradas vitaminas B1 (Tiamina – fator antineurítico), B2 (Riboflavina – fator crescimento) e PP (Ácido Nicotínico ou Niacina) nas raízes frescas (SARMIENTO, 1993).

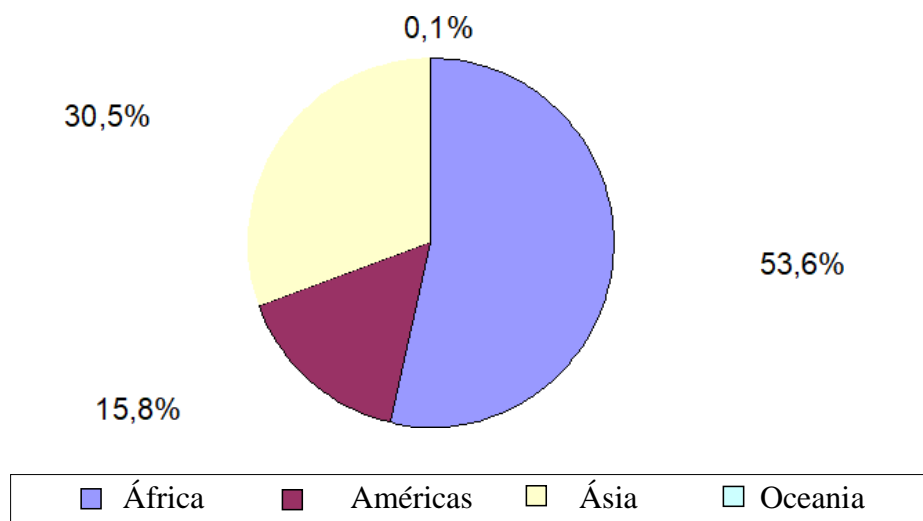
2.1.3 Importância econômica

A cultura da mandioca é a terceira fonte mais importante de calorias nos trópicos, após o arroz e o milho. Milhões de pessoas dependem da mandioca na África, Ásia e América Latina (FAO, 2017). A maior parte do produto é destinada à alimentação humana, através de farinha e de polvilho azedo ou goma, como também na composição de diversas culinárias, como pão-de-queijo e tapioca (CONAB, 2015).

De acordo com FAO, a mandioca tem o potencial na segurança alimentar dos estimados 500 milhões de agricultores e também contribui para o desenvolvimento industrial rural, e no maior rendimentos para produtores, processadores e comerciantes (FAO, 2017).

O consumo *per capita* de mandioca está intimamente relacionado ao nível econômico. Os maiores consumidores *per capita* de mandioca em raiz foram registrados em Congo com 273 kg/ habitante ano, Moçambique 234 kg, Gana 200 kg e no Brasil 44 kg (FAO, SEAB/DERAL, 2016).

A África é o continente que mais produz mandioca (53,6%), seguida da Ásia (30,5%) e das Américas (15,8%) e por último, a Oceania (0,1%) (Figura 1).








Fonte: FAO. Data: outubro/2017.

Figura 1. Distribuição percentual da produção mundial da mandioca em 2013

O Brasil liderou a produção da raiz até 1991, quando foi ultrapassado pela Nigéria. De acordo com a FAO, a produção mundial de raiz de mandioca correspondeu a 270,28 milhões de toneladas em 2014, e o Brasil ficava na quarta posição com uma produção de 23,24 milhões de toneladas. Em 2017, a Nigéria permaneceu como a maior produtora mundial com um total de 54,83 milhões de toneladas, seguida por Tailândia, Indonésia, Brasil, República Democrática do Congo e Gana (CONAB, 2017). Estes seis países representam mais de 60% de toda a produção mundial.

Tabela 1. Produção mundial de raiz de mandioca na safra 2014.

| País | Produção (milhões de toneladas) | Área colhida (milhões de hectares) | Produtividade (t/ ha) |
|---|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
|  Nigéria | 54,83 | 7,10 | 7,72 |
|  Tailândia | 30,02 | 1,35 | 22,26 |
|  Indonésia | 23,44 | 1,00 | 23,36 |
| Brasil | 23,24 | 1,57 | 14,83 |
|  Congo | 16,61 | 2,06 | 8,08 |
|  Gana | 16,52 | 0,89 | 18,59 |
| Outros | 105,61 | 10,26 | 10,99 |
| Total | 270,28 | 24,23 | 11,16 |

Fonte: CONAB, 2017.

Em 2016 o Brasil atingiu uma produção de 23,71 milhões de toneladas em área colhida de 1.546.301 hectares. A região Norte foi a que apresentou a maior produção, 7,6 milhões de toneladas, seguida das regiões Sul (5,88 milhões de toneladas), Nordeste (5,30 milhões de toneladas), Sudeste (2,48 milhões de toneladas) e Centro-Oeste (1,53 milhões de toneladas) (SIDRA, 2016).

No Espírito Santo o plantio de mandioca é realizado em praticamente todos os municípios. A comercialização do tubérculo é destaque em Santa Leopoldina-ES. De acordo com os dados das Centrais de Abastecimento do Espírito Santo (Ceasa-ES), no primeiro semestre de 2016, o município foi responsável por 40,16% na oferta da raiz no estado (INCAPER, 2017).

O cultivo está fortemente ligado às tradições da agricultura familiar, sendo cultivada em 80% das 84 mil propriedades rurais, onde a agricultura familiar responde por cerca de 44% da riqueza produzida no meio rural capixaba gerando 202 mil postos de trabalho (INCAPER, 2016).

A produção de mandioca no estado do Espírito Santo vem decrescendo ao longo dos anos em decorrência da redução no consumo animal, das variações climáticas e os baixos preços. Como também, reduziram-se os números de farinheiras e o fechamento da indústria de fécula.

A colheita em períodos inadequados pode acarretar prejuízos, pois se a mandioca for colhida cedo ocorre perda de produtividade por ainda não ter atingido o máximo de acúmulo de massa seca, e se colhida tarde, o índice de podridão radicular, causada por fungos de solo pode aumentar, além de manter a área ocupada por tempo superior ao necessário (MOURA et al., 2016).

2.1.4 Estratégias e Melhoramento

A mandioca sempre foi cultivada pelo alto teor nutritivo e uso na alimentação animal, humana ou na indústria têxtil e energética. Também pode ser utilizada na produção de glicose, sem hidrólise do amido; na produção de amido, com variabilidade na proporção amilose/amilopectina; na produção de amido do tipo glicogênio; na produção de álcool (combustível e para indústria de cosméticos) na siderurgia, entre outras utilidades (CARVALHO et al., 2004).

Apesar da importância socioeconômica da cultura, o baixo nível tecnológico prejudica a produção, principalmente nas pequenas propriedades rurais onde os recursos são escassos. Uma estratégia significativa para o aumento da produção é fazer uso de genótipo de alto potencial produtivo e adaptado para as condições edafoclimáticas da região de cultivo.

O melhoramento é a forma mais eficiente, visando sustentabilidade, uma vez que os ganhos obtidos não estão atrelados ao aumento da área plantada, nem à utilização de insumos agrícolas.

Os programas de melhoramento genético de mandioca visam a seleção de genótipos com alta produtividade, precocidade da colheita, maior teor de amido, menor teor de cianeto, maior tempo de prateleira, resistência à pragas e doenças, tolerância à seca e adaptabilidade e estabilidade a ambientes variados. De tal modo, pesquisas tem sido concentradas no estudo da variabilidade genética das coleções de trabalho através de coletas, introdução, caracterização, avaliação, intercâmbio, recombinação e seleção.

A variabilidade genética é a base para o melhoramento, portanto, é imprescindível conhecer a diversidade genética para seleção de genitores geneticamente divergentes e características interessantes ao melhoramento (FALCONER, 1987). Desta forma melhorar a eficiência na identificação de combinações parentais que gerem populações segregantes com máxima variabilidade genética (CRUZ, 1990; CARNEIRO, 2014).

Diversos métodos e análises podem ser empregados no estudo da diversidade genética, os quais destacam-se, a utilização de marcadores moleculares e de caracteres fenotípicos qualitativos ou quantitativos (VIEIRA et al., 2011). No entanto, a escolha do método depende da precisão desejada pelo pesquisador, da facilidade da análise e da forma como os dados são obtidos (LUCENA et al., 2017).

A obtenção de cultivares por hibridações interespecíficas, adaptadas a diferentes regiões e aos diferentes sistemas de cultivo têm sido desenvolvidos com sucesso para a cultura da mandioca (FUKUDA et al., 1996; NASSAR et al., 1986; ALVES et al., 1999; FARIAS et al., 2006; GABRIEL et al., 2014; TROMBINI et al., 2014; MATTOS et al., 2016; TAVARES et al., 2016; LUCENA et al., 2017; SOUZA et al., 2017; DOURADO et al., 2017)

Apesar da superioridade das variedades propagadas assexuadamente em relação à sexuadamente, devido na primeira geração, identificando um híbrido superior, logo é feita a

clonagem do híbrido, por meio da propagação vegetativa. No entanto, existem dificuldades inerentes à necessidade de se trabalhar com grandes populações, na obtenção de estimativas precisas do comportamento dos genótipos gerados em vários ambientes e a baixa taxa de propagação vegetativa (FUKUDA; SILVA, 2002).

A fenotipagem e a genotipagem permitem a identificação de materiais mais produtivos com potencial para extração de novas cultivares com alta produtividade, menor tempo de cozimento, qualidade culinária da massa cozida e maior tempo de conservação pós-colheita.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar a diversidade genética de genótipos cultivados de mandioca por meio de marcadores SSR e de caracteres morfológicos qualitativos.

Objetivos específicos

- a) Colher materiais genéticos tradicionais nas regiões sul, norte e serrana do estado do Espírito Santo;
- b) Quantificar e caracterizar a variabilidade genética existente;
- c) Gerar dados científicos para subsidiar o desenvolvimento de novas variedades.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

O presente trabalho foi desenvolvido com genótipos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivados no estado do Espírito Santo por pequenos produtores rurais nos municípios de Castelo, Cachoeiro de Itapemirim, Jerônimo Monteiro, Alegre, Mimoso do Sul, Divino de São Lourenço, Conceição do Castelo, Venda Nova do Imigrante, Afonso Cláudio, Domingos Martins, Sooretama, São Mateus, Jaguaré, Nova Venécia e Aracruz (Figura 4). Foram coletados 141 genótipos, dos quais, 63 da região sul, 40 da região serrana e 38 da região norte. Três genótipos comerciais melhorados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura – Cruz das Almas- BA (BRS Jari, BRS Dourada e BRS Kiriris) para consumo humano foram inclusos no trabalho. Os genótipos locais foram obtidos de produtores que o cultivam por várias gerações no estado, buscando a escolha dos que apresentam características agrônômicas de interesse. Os genótipos foram colhidos em forma de manivas, as quais foram plantadas em propriedade particular no distrito de Palmeiras, município de Mimoso do Sul - ES.

Amostras da folha de cada genótipo foram coletadas em campo. Posteriormente foram armazenadas em freezer -30 °C em laboratório e realizada a extração de DNA.

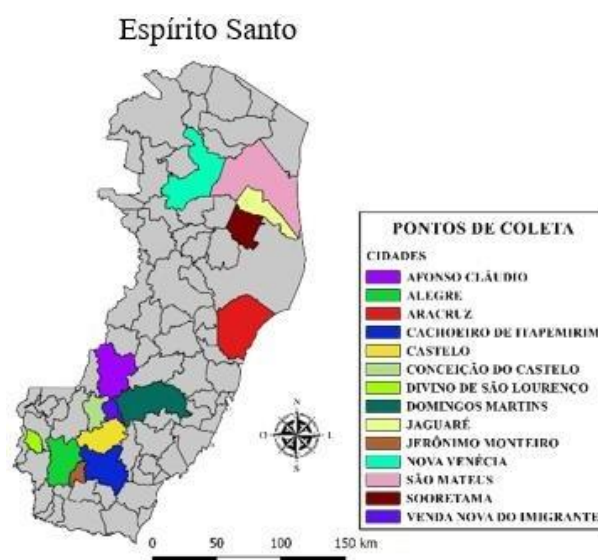


Figura 2. Mapa de localização das cidades de coleta no estado do Espírito Santo.

Tabela 2. Identificação, nome e características dos genótipos comerciais de mandioca utilizados no trabalho.

| Identificação | Nome | Fonte | Característica principal | Uso principal | Observações gerais |
|---------------|-------------|---------------------------|--|-------------------|---|
| BRS_Jari | BRS Jari | Embrapa-Cruz das Almas/BA | Rica em pró-vitamina A (9 mg/g de betacaroteno) | Mesa | Híbrido |
| BRS_Dourada | BRS Dourada | Embrapa-Cruz das Almas/BA | Precoce; rica em pró-vitamina A (4 mg/g de betacaroteno) | Mesa | Alto teor de carotenóide |
| BRS_Kiriris | BRS Kiriris | Embrapa-Cruz das Almas/BA | Resistência à podridão de raízes; alta produtividade | Industrial e Mesa | Híbrido, adaptada ao ambiente (SE, MG e BA) |

Tabela 3. Identificação, nome e características dos genótipos tradicionais de mandioca colhidas na região sul do ES.

| Identificação | Nome | Local de coleta | Características morfológicas | | |
|---------------------|---------------|-----------------|------------------------------|-------------------|----------------------|
| TRADICIONAIS | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| D_Poca_terra | Poca-terra | Castelo | verde claro | verde amarelado | marrom claro |
| D_SM | Sem id. | Castelo | verde claro | verde amarelado | cinza |
| D_Roxinha | Roxinha | Castelo | verde claro | vermelho | marrom claro |
| D_Pao_do_Chile | Pão-do-Chile | Castelo | roxo | vermelho | prateado |
| D_Amarelinha | Amarelinha | Castelo | verde arroxeadado | roxo | marrom escuro |
| D_Pampinha | Pampinha | Castelo | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| D_Cacau_comum | Cacau comum | Castelo | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| D_Córrego_da_Barata | Sem id. | Castelo | verde claro | vermelho | dourado |
| D_CB | Sem id. | Castelo | roxo | verde amarelado | prateado |
| D_Cenourinha | Cenourinha | Castelo | verde arroxeadado | verde avermelhado | cinza |
| D_Cacau_amarela | Cacau amarela | Castelo | verde claro | vermelho | cinza |
| D_AP | Sem id. | Castelo | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| D_Uma_haste | Uma haste | Castelo | verde arroxeadado | vermelho | marrom claro |

(continuação)

| Identificação | Nome | Local de coleta | Características morfológicas | | |
|---------------------------|----------------|-------------------------|------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| TRADICIONAIS | | | | | |
| D_Manteiga | Manteiga | Castelo | verde claro | verde avermelhado | prateado |
| L_Cachoeiro | Cachoeiro | Cachoeiro de Itapemirim | verde arroxeadado | vermelho | prateado |
| L_Unha | Unha | Cachoeiro de Itapemirim | verde arroxeadado | verde esverdeado | prateado |
| L_Pão_do_Chile | Pão-do-Chile | Cachoeiro de Itapemirim | verde claro | vermelho | cinza |
| L_Incaper1 | Sem id. | Cachoeiro de Itapemirim | verde claro | vermelho | prateado |
| L_Incaper2 | Sem id. | Cachoeiro de Itapemirim | verde arroxeadado | vermelho | marrom escuro |
| L_Incaper3_amarelinha | Amarelinha | Cachoeiro de Itapemirim | verde arroxeadado | vermelho | laranja |
| I_Cacau | Cacau | Jerônimo Monteiro | verde claro | roxo | prateado |
| I_Vassourinha | Vassourinha | Jerônimo Monteiro | verde claro | verde amarelado | prateado |
| I_Cacau | Cacau | Jerônimo Monteiro | verde claro | vermelho | dourado |
| I_5minutos | Cinco minutos | Jerônimo Monteiro | verde arroxeadado | roxo | prateado |
| I_Cacau_talovermelho | Cacau | Jerônimo Monteiro | verde claro | vermelho | prateado |
| I_Cacau_vermelha | Cacau vermelha | Jerônimo Monteiro | verde claro | vermelho | verde amarelado |
| I_Cacau_amarelinha | Cacau amarela | Jerônimo Monteiro | verde claro | vermelho | cinza |
| F_Vassourinha_branca | Vassourinha | Divino São Lourenço | verde claro | verde esverdeado | prateado |
| F_Amarela | Amarela | Divino São Lourenço | verde arroxeadado | vermelho | marrom escuro |
| F_Cacau | Cacau | Divino São Lourenço | verde claro | vermelho | prateado |
| F_01 | Sem id. | Divino São Lourenço | verde claro | verde esverdeado | verde amarelado |
| B_01UFES | Sem id. | Alegre | verde claro | roxo | verde amarelado |
| B_02UFES | Sem id. | Alegre | verde claro | roxo | verde amarelado |
| B_5 minutos_CCA | Cinco minutos | Alegre | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| B_03UFES | Sem id. | Alegre | verde arroxeadado | vermelho | cinza |
| B_04UFES | Sem id. | Alegre | verde arroxeadado | vermelho | marrom claro |
| B_05UFES | Sem id. | Alegre | verde claro | verde esverdeado | prateado |
| B_01RIVE | Sem id. | Alegre | verde arroxeadado | verde amarelado | dourado |
| B_02RIVE | Sem id. | Alegre | verde claro | vermelho | laranja |
| B_03RIVE | Sem id. | Alegre | verde claro | vermelho | prateado |
| J_Testemunha1_Bainha rosa | Bainha rosa | Mimoso do Sul | verde claro | roxo | prateado |

(conclusão)

| Identificação | Nome | Local de coleta | Características morfológicas | | |
|--------------------------|---------------|---------------------|------------------------------|------------------|----------------------|
| | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| TRADICIONAIS | | | | | |
| J_Testemunha2_Feirinha | Feirinha | Mimoso do Sul | roxo | roxo | marrom escuro |
| J_Testemunha3 | Sem id | Mimoso do Sul | verde claro | verde amarelado | prateado |
| B_Cacaubranca | Cacau branca | Alegre | verde claro | verde esverdeado | cinza |
| B_Cacauamarela | Cacau amarela | Alegre | verde claro | verde esverdeado | cinza |
| B_Cacaumarrom | Cacau marrom | Alegre | verde claro | vermelho | dourado |
| B_Mandioca_paraízo | Paraízo | Alegre | verde claro | vermelho | verde amarelado |
| F_Vassourinha_ramabranca | Vassourinha | Divino São Lourenço | verde arroxeadado | vermelho | cinza |
| B_Cascaroxa | Casca roxa | Alegre | verde claro | vermelho | dourado |
| B_Compridinha | Compridinha | Alegre | verde claro | verde esverdeado | verde amarelado |
| B_Baiana | Baiana | Alegre | verde claro | vermelho | cinza |
| B_Amarelinha | Amarelinha | Alegre | verde arroxeadado | roxo | cinza |
| B_5minutos | Cinco minutos | Alegre | verde arroxeadado | verde esverdeado | cinza |
| D_Pretinha | Pretinha | Castelo | verde claro | vermelho | dourado |
| D_Roxinha | Roxinha | Castelo | verde claro | roxo | cinza |
| D_Poca_terra | Poca-terra | Castelo | verde claro | verde | prateado |
| D_Gema_de_ovo | Gema-de-ovo | Castelo | verde arroxeadado | roxo | prateado |
| D_Cinza | Cinza | Castelo | verde claro | vermelho | cinza |
| D_Dura_Corumbá | Dura | Castelo | verde arroxeadado | verde esverdeado | cinza |
| B_Chumbo | Chumbo | Alegre | verde arroxeadado | vermelho | prateado |
| B_Bicolor | Bicolor | Alegre | verde arroxeadado | vermelho | prateado |
| B_Cacau_roxa | Cacau_roxa | Alegre | verde claro | roxo | cinza |
| B_6meses | Seis meses | Alegre | verde claro | verde | dourado |

Tabela 4. Identificação, nome e características dos genótipos tradicionais de mandioca colhidas na região serrana do ES.

| Identificação | Nome | Local de coleta | Características morfológicas | | |
|---------------------|------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| TRADICIONAIS | | | | | |
| E_Cacau_cascaroxa | Cacau | Conceição do Castelo | verde claro | roxo | cinza |
| E_Cacau_folharoxa | Cacau | Conceição do Castelo | roxo | roxo | dourado |
| E_Branca01 | Mandioca branca | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | roxo | cinza |
| E_Mandiocarosa | Mandioca rosa | Conceição do Castelo | verde claro | roxo | cinza |
| E_Branca02 | Branca | Conceição do Castelo | verde claro | roxo | prateado |
| E_Amarela | Amarela | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | verde | prateado |
| E_Amarela | Amarela | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | vermelho | marrom claro |
| E_Branca03 | Branca | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | roxo | marrom escuro |
| E_Cacauroxa | Cacau roxa | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | vermelho | prateado |
| E_Cacaucomum | Cacau comum | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | verde esverdeado | cinza |
| E_Branca04 | Branca | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | verde esverdeado | cinza |
| E_Branca05 | Branca | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| E_Cacau01 | Cacau | Conceição do Castelo | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| O_Mandiocaamarela01 | Mandioca amarela | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | vermelho | marrom claro |
| O_Mandiocaamarela02 | Mandioca amarela | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | verde esverdeado | marrom escuro |
| O_Branca | Branca | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | verde avermelhado | cinza |
| O_Cacau01 | Cacau | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | roxo | prateado |
| O_Canoua | Canoua | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | verde avermelhado | dourado |
| O_Cacauamarela03 | Cacau amarela | Venda Nova do Imigrante | verde claro | verde amarelado | marrom escuro |
| O_Cacaucinza | Cacau cinza | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | vermelho | cinza |
| O_Cacau02 | Cacau | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | verde | prateado |
| O_Cacau03 | Cacau | Venda Nova do Imigrante | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| O_Rasteirinha | Rasteirinha | Venda Nova do Imigrante | verde claro | verde amarelado | dourado |
| A_Amarelinha | Amarelinha | Afonso Cláudio | verde claro | vermelho | marrom claro |
| A_Cacau | Cacau | Afonso Cláudio | verde arroxeadado | vermelho | laranja |

(conclusão)

| Identificação | Nome | Local de coleta | Características morfológicas | | |
|---------------------|---------|------------------|------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| TRADICIONAIS | | | | | |
| A_Roxinha | Roxinha | Afonso Cláudio | verde arroxeadado | vermelho | marrom escuro |
| A_Mandioca01 | Sem id | Afonso Cláudio | verde arroxeadado | vermelho | laranja |
| A_Mandioca02 | Sem id | Afonso Cláudio | verde claro | verde | marrom escuro |
| G_01 | Sem id | Domingos Martins | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| G_02 | Sem id | Domingos Martins | verde claro | verde | marrom escuro |
| G_03 | Sem id | Domingos Martins | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| G_04 | Sem id | Domingos Martins | verde claro | vermelho | marrom claro |
| G_05 | Sem id | Domingos Martins | roxo | vermelho | cinza |
| G_06 | Sem id | Domingos Martins | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| G_07_Mineira | Mineira | Domingos Martins | verde claro | verde esverdeado | marrom escuro |
| G_08 | Sem id | Domingos Martins | verde claro | vermelho | marrom escuro |
| G_09 | Sem id | Domingos Martins | verde claro | vermelho | laranja |
| G_10 | Sem id | Domingos Martins | verde arroxeadado | vermelho | dourado |
| G_11 | Sem id | Domingos Martins | cinza | vermelho | dourado |
| G_12 | Sem id | Domingos Martins | verde claro | verde avermelhado | dourado |

Tabela 5. Identificação, nome e características dos genótipos tradicionais de mandioca colhidas na região norte do ES.

| Identificação | Nome | Local de coleta | Características morfológicas | | |
|---------------------|------------------|-----------------|------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| TRADICIONAIS | | | | | |
| N_Ceasa1 | Ceasa | Sooretama | verde claro | verde avermelhado | cinza |
| N_Eucalipto | Eucalipto | Sooretama | verde claro | vermelho | marrom escuro |
| N_5minutos | Cinco minutos | Sooretama | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| N_Manteiga | Manteiga | Sooretama | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| N_5minutos | Cinco minutos | Sooretama | verde claro | verde amarelado | marrom claro |
| N_Eucalipto | Eucalipto | Sooretama | verde claro | vermelho | prateado |
| N_Manteiga | Manteiga | Sooretama | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| N_Ceasa | Ceasa | Sooretama | verde arroxeadado | verde esverdeado | prateado |
| M_Cacau | Cacau | São Mateus | verde arroxeadado | verde avermelhado | cinza |
| M_Cacauzinha | Cacauzinha | São Mateus | verde claro | vermelho | marrom claro |
| M_Amarelinha | Amarelinha | São Mateus | roxo | verde esverdeado | dourado |
| M_Manteiga | Manteiga | São Mateus | verde claro | vermelho | dourado |
| M_Eucalipto | Eucalipto | São Mateus | verde claro | vermelho | dourado |
| M_SI | Sem id | São Mateus | verde arroxeadado | vermelho | marrom escuro |
| M_Chips | Chips | São Mateus | verde arroxeadado | verde amarelado | prateado |
| M_Eucalipto | Eucalipto | São Mateus | verde arroxeadado | vermelho | prateado |
| H_Amarelinha | Amarelinha | Jaguapé | verde arroxeadado | verde esverdeado | prateado |
| H_Manteiguinha | Manteiguinha | Jaguapé | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| H_Manteiga | Manteiga | Jaguapé | verde claro | verde amarelado | prateado |
| H_Cacau | Cacau | Jaguapé | verde claro | verde avermelhado | prateado |
| H_Eucalipto | Eucalipto | Jaguapé | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |
| K_Aipim_Eucalipto | Aipim Eucalipto | Nova Venécia | verde arroxeadado | vermelho | cinza |
| K_Amarelinha | Amarelinha | Nova Venécia | verde claro | verde avermelhado | prateado |
| K_Manteiga_amarela | Manteiga amarela | Nova Venécia | verde claro | verde avermelhado | prateado |
| K_Aipimmanteiga | Manteiga | Nova Venécia | verde arroxeadado | verde avermelhado | prateado |

(conclusão)

| Identificação | Nome | Fonte | Características morfológicas | | |
|---------------------|-------------|--------------|------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Cor da folha apical | Cor do pecíolo | Cor externa do caule |
| TRADICIONAIS | | | | | |
| K_Aipimbranca | Branca | Nova Venécia | verde arroxeadado | verde avermelhado | cinza |
| C_Inca | Inca | Aracruz | verde claro | vermelho | cinza |
| C_Carioquinha | Carioquinha | Aracruz | verde claro | verde esverdeado | cinza |
| C_Cacauzinha | Cacauzinha | Aracruz | verde arroxeadado | verde | dourado |
| C_Racha_terra | Racha terra | Aracruz | verde claro | verde | marrom escuro |
| C_Rosinha | Rosinha | Aracruz | verde arroxeadado | verde | cinza |
| C_Chips | Chips | Aracruz | verde claro | verde amarelado | prateado |
| C_Baiana | Baiana | Aracruz | verde claro | roxo | cinza |
| C_ST | Sem id | Aracruz | verde claro | verde | prateado |
| C_Alemão | Alemão | Aracruz | verde claro | vermelho | cinza |
| C_Cenoura | Cenoura | Aracruz | verde arroxeadado | verde avermelhado | cinza |
| C_Manteiga_aldeia | Manteiga | Aracruz | verde arroxeadado | vermelho | prateado |
| C_Cacau_aldeia | Cacau | Aracruz | verde arroxeadado | verde | cinza |



Figura 3. Desenvolvimento do experimento. (A) Coleta do material para plantio. (B) Planta, na coleta das folhas para extração de DNA. (C) Etapa da extração do DNA. (D) Fase de avaliação morfológica das plantas.

4.2 Análises moleculares

A extração de DNA genômico realizada a partir do tecido fresco de amostras de folhas coletadas dentre os 144 genótipos de mandioca pelo método CTAB (Brometo de cetil-trimetil amônio) (DOYLE; DOYLE, 1990) com modificações (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Foram selecionados 17 loci microssatélites (Tabela 6). O critério de seleção para escolha dos SSR foi o elevado polimorfismo revelado pelo número alélico e o conteúdo de informação polimórfica relatada para cada primer.

Tabela 6. Descrição dos *loci* de microssatélites utilizados.

| <i>Loci</i> | Sequência dos <i>primers</i> | A | TA |
|-------------|--|-----|----|
| EME189 | F: CAGAGCACATCCAGAAATTGTT R: GAAATAGATCAAGTGCCCCATC | 200 | 58 |
| EME260 | F: GTTGGAGTTGTAGTTGCTGC R: CATGGGCTGTGAAAATGAACT | 160 | 58 |
| EME313 | F: AGCAGGGATCTTCTGGTCAG R: CGCATCATTCATACTCTTCATTC | 180 | 58 |
| EME345 | F: CTGTGGCTACTCCGTTTCAGTAA R: AGTCACCCCATTTGTTCTTTGAC | 190 | 58 |
| EME445 | F: CCTCCACAACCTTATCAATCA R: CGGTAGCCATAGCCATAACA | 300 | 58 |
| EME713 | F: TTTTGTGAAGACCTTGACTG R: GGTGAAGGGTTGATTCCTTC | 200 | 58 |
| SSRY182 | F: GGAATTCCTTGCTTATGATGCC R: TTCCTTTACAATTCTGGACGC | 253 | 55 |
| SSRY27 | F: CCATGATTGTTTAAGTGGCG R: CCATTGGAGAACTTGGCAAC | 277 | 55 |
| SSRY30 | F: CCATCCACTAGAAACTTTAAAAGCA R: CAACTCAGCGGAGCTTTTTTC | 220 | 58 |
| SSRY31 | F: CTTCATCACGTGTTAATACCAATC R: ATTGTTGTGGTTGCAGGACA | 188 | 58 |
| SSRY49 | F: TGAAAATCTCACTGGCATTATTT R: TGCAACCATAGTGCCAAGC | 300 | 58 |
| SSRY75 | F: TCTGGTAAACCTACTAGTGCTCCA R: TTCATGCACGTCCTGATACA | 284 | 55 |
| SSRY80 | F: TTCCTGGAAATGTCCTTAGATG R: TGGCACATGCAACAATTAGC | 299 | 58 |
| SSRY82 | F: TGTGACAATTTTCAGATAGCTTCA R: CACCATCGGCATTAACCTTTG | 211 | 55 |
| SSRY93 | F: TTTGTTGCTCACATGAAAACG R: CAGATTTCTTGTGGTGC GTG | 289 | 55 |
| SSRY94 | F: AGGATGGACTTGGAGATGGA R: GGTGGAAGTAAGGCTGTTAGTG | 268 | 58 |
| NS198 | F: TGCAGCATATCAGGCATTTTC R: GGAAGCATGCATCAAATGT | 196 | 55 |

A: Amplitude alélica; TA: temperatura de anelamento.

As reações em cadeia da polimerase (PCR) foram feitas com um volume final de 15 uL contendo 30 ng de DNA genômico, 1X de tampão; 0,6 uM de *primer* e 1,5 mM de MgCl₂, 0,15 U de Taq DNA polimerase e 0,25 uM de dNTP. As amplificações ocorreram em termociclador sob as seguintes condições: desnaturação inicial à 94 °C, por 4 min., seguida de 29 ciclos: 94 °C (desnaturação), por 1min., anelamento entre 55 e 60 °C por 1 min. a depender do primer, e extensão de 72 °C, por 1 min., com extensão final de 72 °C, por 7 min.

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida 10% (p/v) TBE 1X, a 80 volts durante 4 horas. Após a corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta e os fragmentos de DNA visualizados com o sistema de fotodocumentação *Image Lab*TM.

Os dados obtidos foram submetidos a análises descritivas dos *loci* individuais em todos os indivíduos e obtidos: o número de alelos (A), heterozigosidade esperada (H_e), conteúdo de informação polimórfico (PIC); e coeficiente de endogamia (f). Nas análises da diversidade genética para as populações foram calculados: o número médio de alelos por *loci* ($A/loco$); número de alelos privados ($A_{PRIV.}$); heterozigosidade esperada (H_o); heterozigosidade observada (H_o). Ambas as análises foram realizadas no programa Genes (CRUZ, 2013).

O dendrograma foi realizado pelo método de agrupamento UPGMA, baseado na distância genética de Nei (1973), utilizando-se o software R (TEAM, 2017).

A análise de agrupamento Baeyiano foi realizada no software STRUCTURE v.2.2 (OLIVEIRA-SILVA et al., 2014) sendo inferido o número de grupos genéticos. O número de K testado foi de um a 10. Para encontrar o melhor K foi usado o método ΔK de Evanno et al. (2005), como implementado no Structure Havervester (EARL; VONHOLDT, 2011).

4.3 Análises de descritores qualitativos

Os descritores de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) utilizados neste estudo foram propostos por Fukuda e Guevara (1998), resultando de uma revisão do documento original (Genetic resources of cassava and wild relatives) publicado pelo International Board For Plânt Genetic Resources (IBPGR), em 1983. Esse documento foi analisado e atualizado durante a reunião sobre manejo de Recursos Genéticos de Mandioca organizada pelo Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical, da EMBRAPA, em Cruz das Almas, Bahia, Brasil, no ano de 1995, em cooperação com o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), com o apoio financeiro do International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI).

As avaliações morfológicas foram realizadas do 8º ao 10º mês, conforme metodologia proposta por Fukuda e Guevara (1998). Foram utilizados oito descritores qualitativos da parte aérea, para cada fenótipo foi atribuído uma nota previamente estabelecida.

Os seguintes caracteres foram avaliados:

Cor da folha apical– com base na avaliação visual e escala, em que: (3) verde claro; (5) verde escuro; (7) verde arroxeadado e (9) roxo;



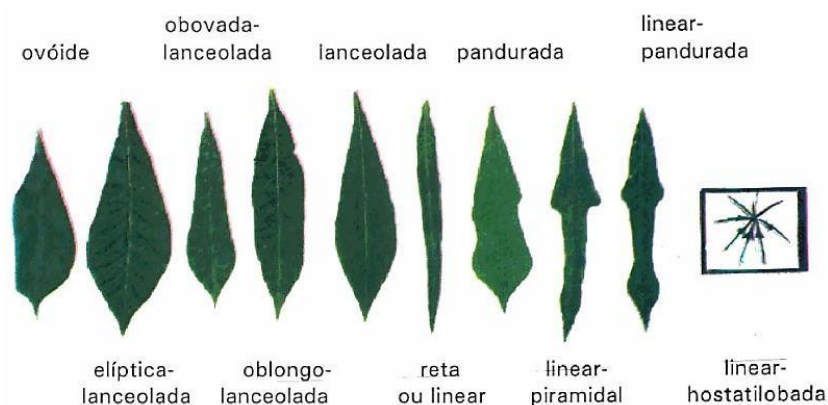
Fonte: Fukuda; Guevara (1998).

Pubescência do broto apical – com base na avaliação visual e escala, em que: (0) ausente ou (1) presente na folha;



Fonte: Fukuda; Guevara (1998).

Forma do lóbulo central – com base na avaliação visual e escala, em que: (1) ovóide; (2) elíptica-lanceolada; (3) obovada-lanceolada; (4) oblongo-lanceolada; (5) lanceolada; (6) reta ou linear; (7) pandurada; (8) linear-piramidal; (9) linear-pandurada; (10) linear-hostatilobada.



Fonte: Fukuda; Guevara (1998).

Cor do pecíolo – com base na avaliação visual e escala, em que: (1) verde amarelado; (2) verde; (3) verde avermelhado; (5) vermelho esverdeado; (7) vermelho; (9) roxo.



Fonte: Fukuda; Guevara (1998).

Cor do córtex do caule – com base na avaliação visual e escala, em que: (1) amarelo; (2) verde claro; (3) verde escuro.



Fonte: Fukuda; Guevara (1998).

Cor externa do caule – tomado no terço médio da planta. Com base na avaliação visual e escala, em que: (3) laranja; (4) verde amarelado; (5) dourado; (6) marrom claro; (7) prateado; (8) cinza; (9) marrom escuro.



Fonte: Fukuda; Guevara (1998).

Floração – com base na avaliação visual e escala, em que: (0) ausente; (1) presente.



Fonte: O autor.

Doença - com base na avaliação visual e escala, em que: (0) ausente; (1) presente.



Fonte: O autor.

A estimação da diversidade genética para os caracteres morfológicos foi realizada mediante o emprego de análise multivariada. A análise de agrupamento foi realizada pelo método UPGMA, com base na distância euclidiana média padronizada, ambas utilizando o software R (TEAM, 2017).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises morfológicas qualitativas em populações da região sul, serrano e norte de mandioca

No presente estudo foi observada grande variabilidade genética entre as classes fenotípicas avaliadas mediante o uso dos oito descritores utilizados. As características da parte aérea que mais contribuem para distinção entre variedades são cor do pecíolo, cor do córtex do caule, cor externa do caule, cor da folha desenvolvida, proeminência das cicatrizes foliares, hábito de ramificação e tipo de planta (RAMOS, 2007).

Podê-se observar pouca variação entre as regiões para característica cor do córtex do caule. Os genótipos da região Sul e Serrana foram muito semelhantes enquanto para região Norte, essa variação foi um pouco diferente, apresentando em maior escala a cor verde clara (Figura 4). Por ser uma planta heliófila, a mandioca suporta elevadas irradiâncias. Com isso, a coloração dos genótipos está relacionada ao fator genético e não à exposição à luminosidade.

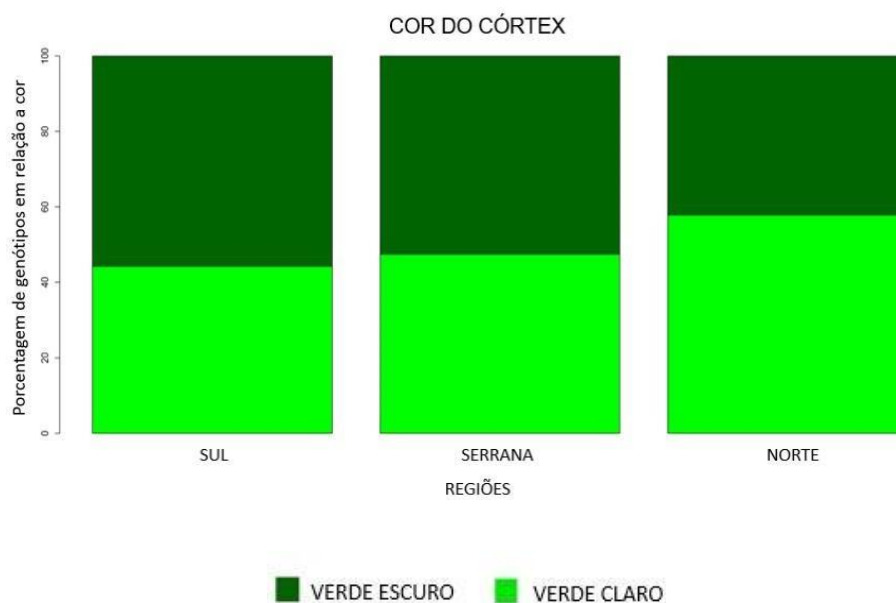


Figura 4. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor do córtex do caule de mandioca.

A cor do caule é uma característica que varia entre os diversos genótipos e com a idade da plantas, apresentando nas regiões mais jovens da planta, várias tonalidade de verde

(CARVALHO, 2006). Foi possível observar uma grande variação nos genótipos do Sul, englobando todas as categorias presentes para esse caráter. A região Serrana apresentou variabilidade semelhante, com apenas uma categoria a menos. Enquanto a região Norte apresentou menor variabilidade, com predomínio da categoria azul (Figura 5). Essa característica é pouco relacionada com caracteres agronômicos de interesse, o que provavelmente contribuiu para que a mesma fosse pouco visada no processo de seleção, de acordo com parâmetros específicos ou ao acaso. Porém, é uma característica de grande importância para o produtor rural, que pode utilizar dessa variação de cor para diferenciar as manivas das diferentes cultivares durante o processo de instalação da lavoura (BARBOSA, 2013; RAMOS, 2007), e até mesmo para o registro de cultivares.

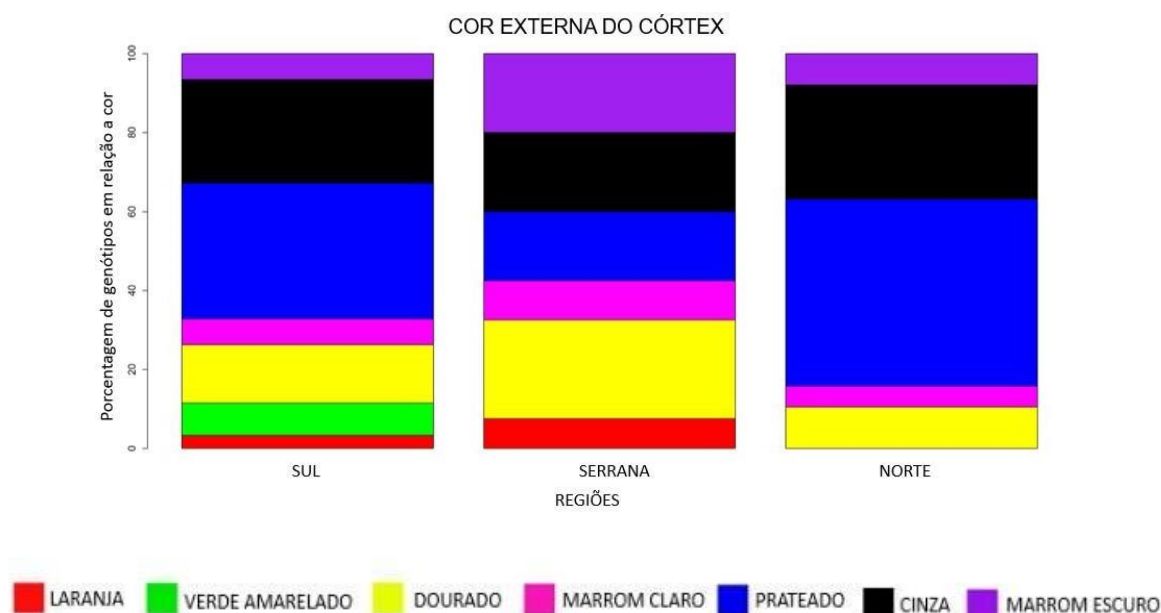


Figura 5. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor externa do caule de mandioca.

A cor da folha apical diferenciou-se entre os genótipos em verde claro, verde arroxeadado e roxo. Não houve grande variação nas categorias de cores para esse descritor, porém a região Serrana, apresentou maior número de genótipos com cor da folha verde arroxeadado, em relação as outras regiões. A região Sul apresentou maior proporção de cor verde claro e a região Norte apresentou a mesma proporção de genótipos da cor verde claro e verde arroxeadado (Figura 6). A predominância de tons arroxeadados em sobreposição à cor

verde verificada na parte aérea das plantas de mandioca pode estar relacionada à presença do pigmento antocianina (BARBOSA, 2013).

As antocianinas pertencem ao principal grupo de flavonoides, sendo responsáveis por cores que variam de rosa ao vermelho e violeta para azul escuro da maioria das flores, frutos e folhas de angiospermas (ANDERSEN; JORDHEIM, 2006). É o grupo mais importante de pigmentos visíveis de plantas depois da clorofila (SURESH et al., 2011). Foi verificado em estudos mais recentes que elas absorvem radiações do tipo UV e espectro da luz visível, atuando como filtros, protegendo os cloroplastos contra as altas intensidades de luz (SURESH et al., 2011). Atuam também como um soluto no ajuste osmótico à seca, pois têm a propriedade de serem antioxidantes (ANDERSEN; JORDHEIN, 2006).

Em trabalhos realizados com uva observou-se uma maior resistência das plantas à colonização por *Botrytis cinerae*, proporcionado a partir de um efeito antibiótico, de acordo com a elevação dos teores da antocianina (IRITI et al., 2004). De acordo com Chalker-Scott (1999) os tecidos vegetais contendo antocianinas são mais resistentes ao déficit hídrico. Sendo assim, a coloração arroxeadada devido às antocianinas pode ser considerada, dentre outras, uma característica evolutiva de adaptação a estresses nos genótipos estudados.

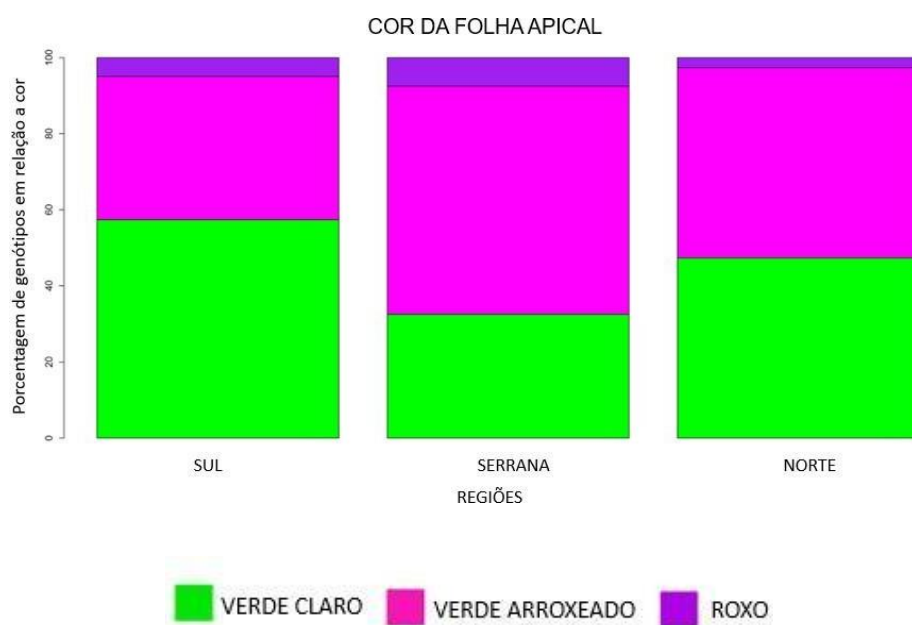


Figura 6. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor da folha apical de mandioca.

Para característica cor do pecíolo, pode-se observar a presença das seis categorias de cores descritas por Fukuda e Guevara (1998) presentes nas três regiões. Porém, há uma variação muito grande nos genótipos do Norte, com predominância da cor verde avermelhado, enquanto os materiais do Sul e Serrano foram mais similares, com predomínio da cor vermelha (Figura 7).

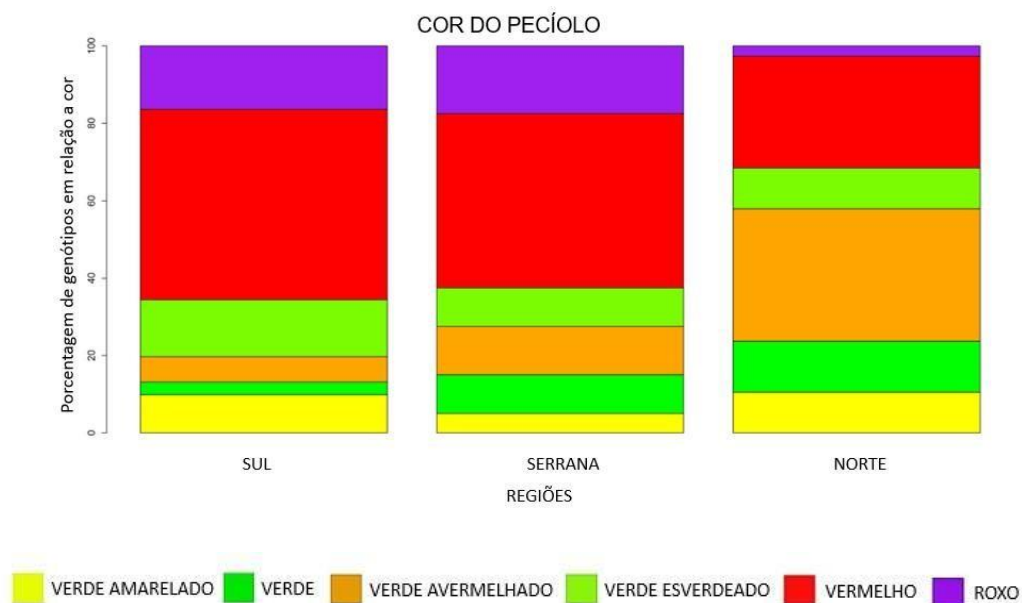


Figura 7. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à cor do pecíolo de mandioca.

Com relação ao lóbulo central (Figura 8), houve grande diferenciação, com variação nas categorias presentes em cada região. Verificou-se nos genótipos do Sul, a ausência da forma obovada-lanceolada e linear-hostiolada; no Serrano, a ausência da forma elíptica-lanceolada e linear-hostiolada e predomínio da forma ovóide, enquanto na região Norte, a ausência da forma linear-piramidal e predomínio da forma lanceolada. Essa é uma característica de interesse taxonômico, de grande relevância na caracterização de variedades (SALES FILHO, 1991).

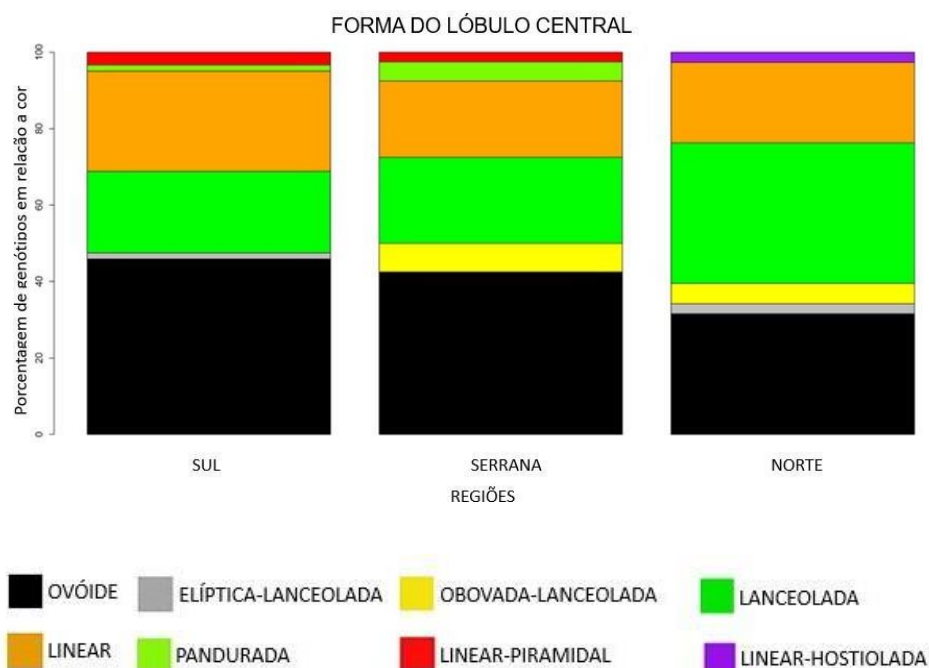


Figura 8. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à forma do lóbulo central das folhas de mandioca.

Houve o predomínio da ausência de doença nas regiões estudadas, com mais frequência nas regiões Serrana e Norte do estado. Isso pode ser um indício de que existam materiais na região Sul que sejam mais resistentes a certas doenças em relação às outras regiões do estado (Figura 9).

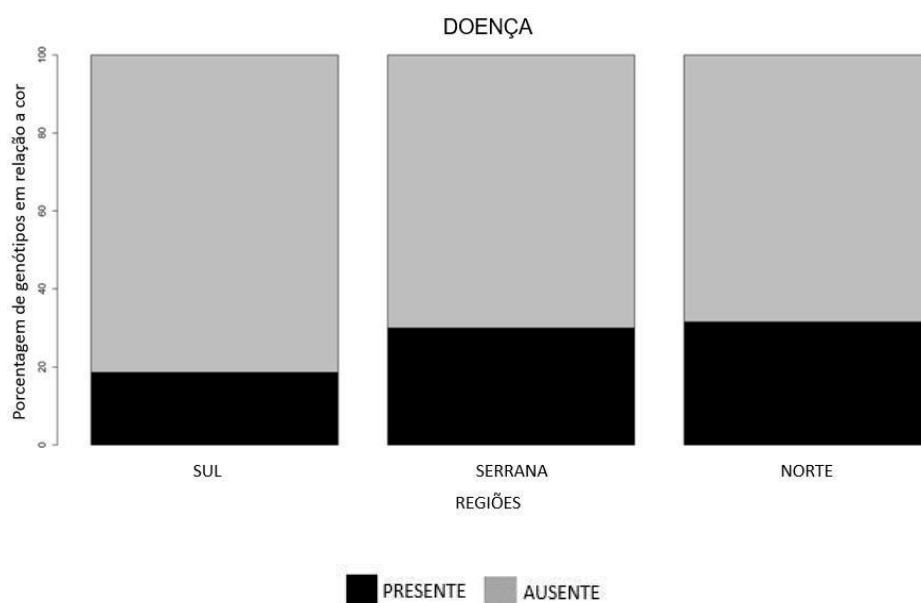


Figura 9. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à doença de mandioca

Em relação ao florescimento (Figura 10), não houve variação entre as regiões, demonstrando que esta característica não foi decisiva na descrição e caracterização dos materiais no estado. A época de florescimento varia com o genótipo e as condições ambientais. Dentre os fatores que influenciam o florescimento da mandioca, podem-se citar o genótipo, a umidade, a fertilidade dos solos, o fotoperíodo e a temperatura (FUKUDA, 1999). O florescimento, associado à produção de sementes viáveis, é o fator que mais contribui para a geração de variabilidade genética (ALBUQUERQUE et al., 2009). Entretanto, a capacidade de florescimento e frutificação não constituiu um forte atributo para a seleção evolutiva na mandioca, em função da sua grande facilidade para a reprodução vegetativa (SILVA, 2010).

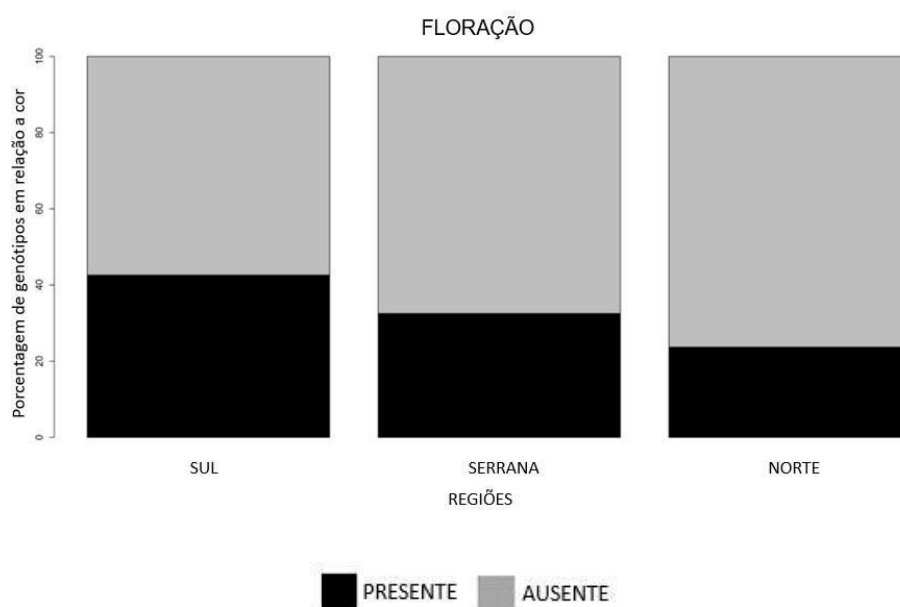


Figura 10. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à floração de mandioca.

Foi possível observar uma grande variação entre as regiões estudadas para a característica pubescência no broto apical, sendo esta, uma característica fenotípica importante para diferenciação de alguns materiais (Figura 11). Segundo Zundel et al. (2009), a pubescência proporciona uma associação positiva com maiores densidades de um grande grupo de ácaros predadores (Acari: *Phytoseiidae*) em comparação com folhas sem essas estruturas. Em estudo realizado por Onzo et al. (2012), verificou-se que ácaros predadores utilizam voláteis induzidos por herbivoria para atrair suas presas, e possuem a capacidade distinguir as cultivares glabras (ausência de pelos) das púberes (presença de

pelos), preferindo as últimas. O *Typhlodromalus aripo* é predador do ácaro verde (*Mononychellus tanajoa*), uma praga de grande importância, responsável pela redução estimada de 13-80% na produção da mandioca em vinte e sete países (YANINEK; HERREN, 1988). A utilização desse conhecimento pode ser útil no processo de seleção de cultivares, a fim de se promover o controle biológico do ácaro verde na mandioca (ONZO et al., 2012).

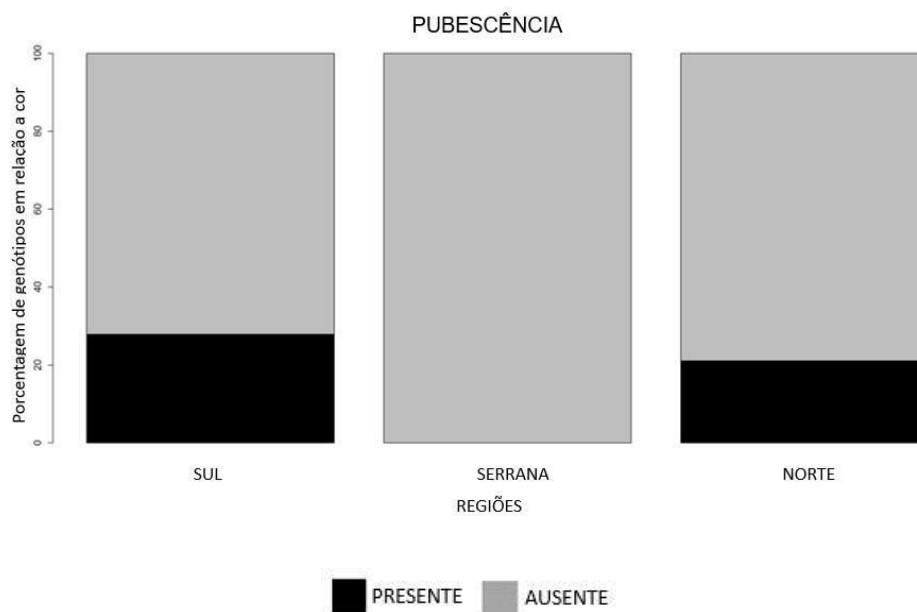


Figura 11. Proporção de indivíduos apresentando as categorias de características referentes à pubescência das folhas do broto apical de mandioca.

Diversos estudos de caracterização genética de acessos de mandioca utilizam apenas uma parte dos descritores fenotípicos disponíveis, principalmente porque a caracterização é laboriosa e demorada (OLIVEIRA et al., 2014). Além disso, o uso de muitos descritores podem gerar informações redundantes (DAHER et al., 1997), devido à alta taxa de correlação ou baixa diversidade genética, podendo ser menos informativos para discriminar alguns materiais (ALVES et al., 2003; SILVA et al., 2013; AFONSO et al., 2014).

Para a cultura da mandioca, a utilização desses caracteres na determinação da diversidade representa uma maior precocidade na predição das melhores combinações híbridas possíveis, quando comparada às variáveis quantitativas. De acordo com Fukuda e Guevara (1998), as avaliações de características quantitativas devem ser realizadas em diversos anos e locais, para evitar a influência ambiental nesse tipo de caráter, o que resulta em um maior tempo para a determinação precisa da diversidade. Ao contrário, caracteres morfológicos qualitativos possibilitam uma redução no tempo de obtenção de novas

cultivares, por serem avaliadas entre o 8º e o 10º mês de cultivo, com a vantagem de sofrerem pouca influência ambiental.

5.2 Análise de agrupamento morfológico

Na Figura 12 encontra-se o dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA, baseado na distância euclidiana média entre 141 genótipos tradicionais de *M. esculenta* (63 região sul, 40 região serrana e 38 região norte) e três genótipos comerciais da Embrapa (BRS Kiriris; BRS Jari; BRS Dourada).

Adotando esse critério, podê-se constatar a formação de nove grupos, sendo possível verificar distinção de genótipos colhidos na região Sul em relação às do Serrano e Norte (Figura 12). Contudo, os traços morfológicos ofereceram uma rápida e eficiente ferramenta para verificar a diversidade dos materiais e foram capazes de separar genótipos de acordo com locais de amostragem.

Os maiores grupos formados foram o G1 (32 genótipos) e G5 (48 genótipos), englobando materiais mistos entre as regiões do estado, abrangendo quase todos os locais de coleta. No entanto, os genótipos C_Inca, I_Cacau amarela, C_Alemão e B_Baiana e os genótipos I_Vassourinha e H_Manteiga, pertencentes ao grupo I, apresentaram as mesmas características, sugerindo que sejam o mesmo material com nome popular de cada região. O mesmo foi observado no grupo V, com os materiais B_Chumbo, M_Eucalipto e B_Bicolor; O_Mandioca amarela, B_04ufes e E_Amarela.

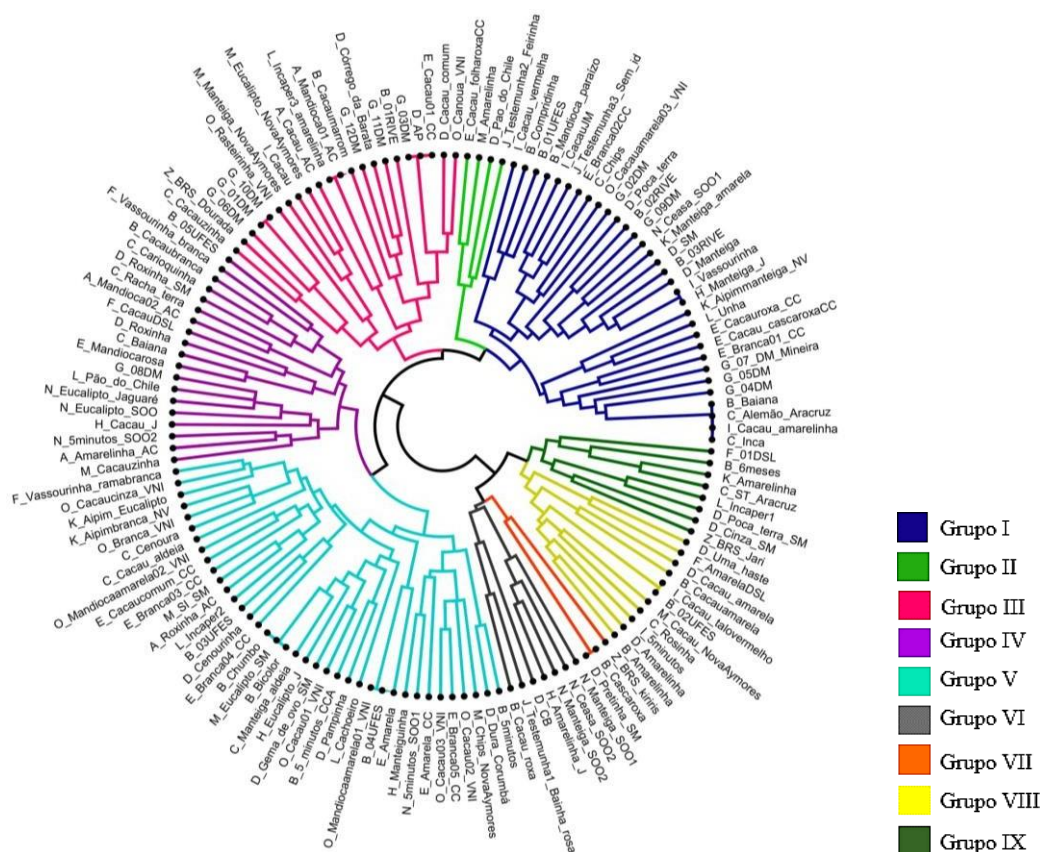
Os menores grupos foram os II, VI, VII e VIII. O grupo II foi composto por quatro materiais de localidades distintas. Os grupos VI e VIII englobaram na maioria, genótipos da região Norte (Sooretama e Jaguaré) e da região Sul.

Verificou-se que genótipos comerciais e crioulos estabeleceram-se em um mesmo grupo. Como exemplo, o grupo III formado principalmente por materiais de Domingos Martins, juntamente com BRS Dourada e o grupo VII e IX, representados por dois genótipos crioulos e um genótipo comercial BRS Kiriris e BRS Jari, respectivamente. Há existência de variabilidade de materiais crioulos para a seleção. Também há proximidade de crioulos com genótipos comerciais.

A caracterização morfológica e o estabelecimento de distância entre os materiais são um subsídio significativo no planejamento de programas de seleção, pois estes resultados

são direcionados a obtenção de híbridos heteróticos e na formação de população-base para os programas de melhoramento de mandioca para o estado do Espírito Santo.

A caracterização através de análises multivariadas foi realizada em muitas culturas, como soja (VAL et al., 2014), pimenta (COSTA et al., 2015), trigo (BERTAN et al., 2006) e mandioca (ALBUQUERQUE et al., 2009; CAMPOS et al., 2010; ADJEBENG-DANQUAH et al., 2016). Contudo, o melhorista precisa tomar cuidado ao eleger os genótipos para integrar os programas de melhoramento, dando preferência à seleção de materiais divergentes, mas que apresentem características de interesse para o produtor, a indústria e o consumidor.



Legenda: **A**-Afonso Cláudio; **B**-Alegre; **C**-Aracruz; **D**-Castelo; **E**-Conceição do Castelo; **F**-Divino de São Lourenço; **G**-Domingos Martins; **H**-Jaguare; **I**-Jerônimo Monteiro; **J**-Mimoso do Sul; **K**-Nova Venécia; **L**-Cachoeiro de Itapemirim; **M**-São Mateus; **N**-Sooretama; **O**-Venda Nova do Imigrante; **Z**-Embrapa.

Figura 11. Agrupamento baseado na distância euclidiana média entre 141 genótipos de mandioca coletados no estado do Espírito Santo (63 R. sul, 40 R. serrano e 38 R. norte) e três genótipos comerciais da Embrapa (BRS Kiriris; BRS Jari; BRS Dourada) de mandioca.

5.3 Diversidade dos *loci* e diferenciação entre e dentro de populações de *Manihot esculenta*

A mandioca apresenta altos níveis de diversidade genética, mesmo sendo propagada vegetativamente. Essa variabilidade é resultado da facilidade de polinização cruzada da espécie, de sua alta heterozigosidade, deiscência abrupta dos frutos e devido à maioria das variedades nativas serem selecionadas, frequentemente pelos próprios agricultores (FUKUDA et al., 2006). A diversidade genética dentro e entre os grupos de mandioca foi confirmada principalmente através do uso de marcadores moleculares, incluindo sequência simples repetida (SSR), polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD) e polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) (COLOMBO et al., 2000; MÜHLEN et al., 2000; EMPERAIRE et al., 2003).

A partir das ampliações dos microssatélites, foram realizadas análises descritivas de cada loco entre populações de *M. esculenta*, considerando-as como regiões Sul, Serrano e Norte. O maior número de alelos (105) foi detectado nas populações da região sul, com maior número de indivíduos amostrados (63) e média de 6 alelos por *loci*. Na região serrana foram identificados 92 alelos nos 40 indivíduos e para região norte 90 alelos nos 38 indivíduos (Tabela 7).

Segundo Nei (1978), o número médio de alelos por loco (A) é muito influenciado pelo tamanho da amostragem genética na coleta. A análise da variabilidade genética detectou média de cinco alelos por locus, sugerindo elevada variabilidade com valor superior ao encontrado em outros estudos. Siqueira et al. (2010), por exemplo, encontraram média de 3,55 alelos por locus avaliando genótipos originários do Mato Grosso do Sul. Carrasco et al. (2016) encontraram média de quatro alelos por *loci* em 211 acessos de variedades locais do Mato Grosso. Ndung'u et al. (2014) relataram um número maior de alelos por *loci*, com média de 6, estudando a constituição genética de 69 acessos de mandioca de diferentes regiões no Quênia usando sete *primers* SSR.

Os *loci* EME260, EME189 e NS198 apresentaram os maiores números de alelos para as populações da região sul, serrana e norte, com os valores 9, 8 e 8, respectivamente. O locus EME713 apresentou o menor número de alelos (3, 3 e 2) para as três regiões (Tabela 7). Valores inferiores no número de alelos e diversidade genética em mandioca foram previamente relatados em estudos usando SSRs (MOYIB et al., 2007; NDUNG'U et al. 2014). No presente estudo, o número dos alelos variou de 2 a 9 em dezessete SSRs. Do mesmo modo, Raghu et al. (2007) registraram uma média de 4 alelos que variam de 2 a 6

alelos em 15 marcadores SSR. Muitos autores relataram alta diversidade de mandioca na África (LYIMO et al., 2012), mas a diversidade permanece baixa em comparação com a diversidade da mandioca relatada na América do Sul, centro da diversidade da espécie (HURTADO et al., 2008; SILVA et al., 2015).

Neste trabalho foram observados números superior de alelos ao apresentado pelo autor, provavelmente pela maior variabilidade genética entre as variedades de mandioca avaliadas. Em estudos da variabilidade genética em etnovarietades de mandioca avaliada por marcadores microssatélites, Mühlen et al. (2000) obtiveram 97,96% de *primers* polimórficos e uma média geral de 4,5 alelos por locus.

A diversidade alélica variou de 0,55 a 0,83 (região sul), de 0,44 a 0,80 (região serrana) e 0,25 a 0,85 (região norte), com média de 0,71; 0,69 e 0,68, respectivamente. Todos os valores de heterozigosidade esperada foram elevados e também superaram o valor de 0,53 encontrado por Carrasco et al. (2016). E o valor médio de heterozigosidade observada (H_o) nas três regiões foi de 0,48; 0,41 e 0,51 (Tabela 7). A heterozigosidade esperada (H_e) ou diversidade alélica é um índice de diversidade que pode ser utilizado para comparar a diversidade genética entre espécies de diferentes formas de reprodução (FARALDO et al., 2002).

Quanto à heterozigosidade média observada (H_o), os valores deste estudo (0,48; 0,41 e 0,51) aproximaram-se aos encontrados em estudos sobre diversidade genética de mandioca em todo o Brasil: 0,51 (ELIAS et al., 2004), 0,67 (PERONI et al., 2007) e 0,60 (CARRASCO et al., 2016). Outros estudos sobre mandioca doce identificaram valores superiores para H_o , como o de Turyagyenda et al. (2012), que encontrou H_o com valor de 0,726 em acessos em Uganda. No entanto, existem estudos relatando heterozigose observada muito mais baixas com valores de 0,265 e 0,2255, respectivamente (SIQUEIRA et al., 2009; SREELEKHA et al., 2010).

Para Ott (1992) um marcador é considerado altamente polimórfico quando a heterozigosidade for superior a 70%, no entanto, os resultados obtidos indicaram que o marcador SSRY31 foi altamente polimórfico com $H_o = 0,81; 0,87$ e 1,00 (regiões sul, serrana e norte), mostrando elevado potencial discriminatório. Os valores elevados encontrados para heterozigosidade neste trabalho sugerem que existe uma grande heterose entre as variedades tradicionais de mandioca cultivadas pelos agricultores no estado. A heterose alta é uma característica típica de plantas que têm propagação vegetativa e um sistema de acasalamento cruzado, como *M. esculenta* (FREGENE et al., 2003).

O coeficiente de endogamia (f) refere-se à probabilidade de que os alelos de um loco sejam idênticos por ascendência, ou seja, quando derivam ou são cópias de um alelo comum. Se o valor de f encontrado for baixo ou negativo, a endogamia para aquele loco é nula na população estudada. No entanto, se o valor de f é elevado, a endogamia está presente, fazendo com que a frequência de homozigotos seja maior do que o esperado sob equilíbrio de Hardy-Weinberg (CRUZ et al., 2011). Os valores do coeficiente de endogamia (f) no presente estudo constatou-se que as populações estudadas apresentaram, em média, excesso de homozigose (sul= 0,35; serrana= 0,43 e norte= 0,26). Entretanto, estes coeficientes foram negativos para a região norte ($f=-0,02$ a $-0,27$), evidenciando um favorecimento aos heterozigotos nesta população (Tabela 7).

Analisando o Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), o valor do PIC variou entre 0,48 (EME345) a 0,81 (SSRY30 e SSRY31) na região sul, 0,39 (EME713) a 0,77 (SSRY93 e EME189) na região serrana e de 0,22 (EME713) a 0,83 (NS198) na região norte (Tabela 3). Para Botstein et al. (1980), os marcadores moleculares que apresentam valores de PIC 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 muito informativos. Neste estudo apenas um primer apresentou PIC inferior a 25% (EME713), sendo, portanto pouco informativo para a espécie em estudo. Porém, a maioria dos *loci* analisados apresentaram PIC superiores a 25%, evidenciando o elevado poder discriminativo e eficiência em estudos de quantificação da variabilidade genética em mandioca. Com relação à média geral, o valor foi maior que 0,6 para ambas as regiões, sugerindo uma alta qualidade do marcador molecular. Resultados inferiores de PIC foram encontrados por Vieira et al. (2010), no estudo com marcadores RAPD, ao caracterizarem a variabilidade genética de acessos elite de mandioca para fins industriais, com PIC de 0,21 a 0,27.

Tabela 7. Análise descritiva dos 17 loci microssatélites utilizados nas populações de mandioca das regiões Sul, Serrano e Norte do estado do Espírito Santo: número de alelos por loci (A); heterozigidade esperada (H_e); heterozigidade obser observada (H_o); coeficiente de endogamia (f) e conteúdo de informação polimórfico (PIC).

| <i>Loci</i> | <i>Região Sul</i> | | | | | <i>Região Serrana</i> | | | | | <i>Região Norte</i> | | | | |
|-------------|-------------------|----------------------|----------------------|----------|------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------|------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------|------------|
| | <i>A</i> | <i>H_e</i> | <i>H_o</i> | <i>f</i> | <i>PIC</i> | <i>A</i> | <i>H_e</i> | <i>H_o</i> | <i>f</i> | <i>PIC</i> | <i>A</i> | <i>H_e</i> | <i>H_o</i> | <i>f</i> | <i>PIC</i> |
| EME260 | 9 | 0,80 | 0,68 | 0,15 | 0,78 | 7 | 0,79 | 0,45 | 0,43 | 0,76 | 7 | 0,72 | 0,74 | -0,02 | 0,68 |
| EME345 | 4 | 0,55 | 0,10 | 0,83 | 0,48 | 4 | 0,69 | 0,18 | 0,74 | 0,63 | 2 | 0,49 | 0,03 | 0,95 | 0,37 |
| SSRY93 | 5 | 0,58 | 0,44 | 0,24 | 0,54 | 6 | 0,80 | 0,23 | 0,72 | 0,77 | 6 | 0,82 | 0,76 | 0,07 | 0,79 |
| EME445 | 5 | 0,64 | 0,00 | 1,00 | 0,60 | 4 | 0,67 | 0,00 | 1,00 | 0,62 | 4 | 0,66 | 0,00 | 1,00 | 0,60 |
| EME189 | 8 | 0,80 | 0,46 | 0,42 | 0,77 | 8 | 0,80 | 0,49 | 0,39 | 0,77 | 6 | 0,80 | 0,63 | 0,21 | 0,77 |
| SSRY27 | 6 | 0,78 | 0,43 | 0,45 | 0,74 | 4 | 0,62 | 0,10 | 0,84 | 0,55 | 4 | 0,48 | 0,21 | 0,56 | 0,39 |
| EME313 | 6 | 0,67 | 0,62 | 0,07 | 0,62 | 4 | 0,68 | 0,36 | 0,47 | 0,61 | 6 | 0,77 | 0,71 | 0,08 | 0,74 |
| SSRY75 | 5 | 0,69 | 0,69 | 0,00 | 0,64 | 3 | 0,48 | 0,34 | 0,28 | 0,41 | 4 | 0,51 | 0,58 | -0,15 | 0,42 |
| EME713 | 3 | 0,58 | 0,38 | 0,34 | 0,51 | 3 | 0,44 | 0,18 | 0,60 | 0,39 | 2 | 0,25 | 0,24 | 0,04 | 0,22 |
| SSRY80 | 7 | 0,77 | 0,56 | 0,28 | 0,73 | 6 | 0,77 | 0,80 | 0,04 | 0,73 | 6 | 0,78 | 0,74 | 0,05 | 0,75 |
| SSRY30 | 7 | 0,83 | 0,76 | 0,09 | 0,81 | 6 | 0,77 | 0,83 | 0,08 | 0,73 | 5 | 0,71 | 0,79 | -0,11 | 0,67 |
| NS198 | 7 | 0,77 | 0,40 | 0,48 | 0,74 | 7 | 0,79 | 0,48 | 0,40 | 0,76 | 8 | 0,85 | 0,53 | 0,38 | 0,83 |
| SSRY49 | 6 | 0,74 | 0,59 | 0,21 | 0,70 | 5 | 0,77 | 0,42 | 0,45 | 0,73 | 5 | 0,79 | 0,32 | 0,60 | 0,75 |
| SSRY182 | 4 | 0,62 | 0,02 | 0,97 | 0,55 | 4 | 0,56 | 0,10 | 0,82 | 0,49 | 5 | 0,73 | 0,00 | 1,00 | 0,68 |
| SSRY31 | 7 | 0,83 | 0,81 | 0,03 | 0,81 | 7 | 0,78 | 0,87 | 0,12 | 0,75 | 6 | 0,79 | 1,00 | -0,27 | 0,76 |
| SSRY82 | 4 | 0,72 | 0,75 | 0,03 | 0,67 | 4 | 0,71 | 0,75 | 0,05 | 0,66 | 4 | 0,68 | 0,84 | -0,24 | 0,62 |
| SSRY94 | 6 | 0,75 | 0,42 | 0,44 | 0,72 | 5 | 0,63 | 0,35 | 0,44 | 0,59 | 5 | 0,73 | 0,58 | 0,21 | 0,70 |
| Média | 6 | 0,71 | 0,48 | 0,35 | 0,67 | 5 | 0,69 | 0,41 | 0,43 | 0,64 | 5 | 0,68 | 0,51 | 0,26 | 0,63 |
| Total | 105 | - | - | - | - | 92 | - | - | - | - | 90 | - | - | - | - |

*Região sul = 63 indivíduos; Região serrana = 40 indivíduos e Região norte = 38 indivíduos.

Os 17 *loci* microssatélites foram na maioria polimórficos e informativos, apresentando um total de 102 alelos nos 141 genótipos, com uma média de seis alelos por *loci*. Os *loci* EME260, EME189 e NS198 amplificaram nove, oito e oito alelos respectivamente, e o loco EME713 com três. O Conteúdo de Informação Polimórfica (*PIC*) variou de 0,43 (EME713) a 0,82 (SSRY31) com média de 0,70, portanto, esses *primers* foram considerados informativos.

A heterozigiosidade esperada (H_e) variou de 0,48 (EME713) a 0,84 (SSRY31) com média de 0,74 (Tabela 8). Segundo Ferreira et al. (2012) e Cruz et al. (2008) a proporção de indivíduos heterozigotos é considerada um indicativo de variabilidade genética eficaz no estudo, pois esta variabilidade é a matéria prima necessária para que a seleção natural e artificial atue na população.

A heterozigiosidade observada (H_o) neste trabalho apresentou variação de 0,00 (EME445) a 0,88 (SSRY31) e média 0,47 (Tabela 8). Em geral os valores de H_e foram maiores que H_o , evidenciando que as populações analisadas apresentaram endogamia. Roa et al. (2000) encontraram resultados similares de deficiência de heterozigotos entre espécies de *Manihot* utilizando marcadores microssatélites.

Dentro da população o coeficiente de endogamia (f) foi positivo, cuja média total foi de 0,37. O loco EME445 apresentou o maior valor de f (1,00) e SSRY30 com o menor valor (0,03). De acordo com Cruz et al (2012), os valores obtidos geralmente variam de zero a um, entretanto, valores negativos também podem ocorrer e os mesmos devem ser interpretados como nulos, de forma a caracterizar a ausência de acasalamento entre aparentados na população.

Apesar de a espécie ser preferencialmente alógama e altamente heterozigota, há forte depressão endogâmica ocasionada pela autofecundação mesmo não existindo barreiras genéticas ou fisiológicas que impeçam a sua ocorrência (NOLASCO, 2011).

A deficiência de heterozigotos também sugere que as populações não estão cruzando aleatoriamente, e isso pode ser esperado para estes dados, devido às elevadas distâncias entre as populações, como também, pode ser decorrente do surgimento de recombinantes da reprodução sexuada e posterior incorporação desse material nas roças ou pelo efeito fundador, ou seja, as roças teriam sido implantadas a partir de material heterozigoto e mantido via propagação vegetativa ao longo do tempo.

A redução do tamanho populacional intensifica a endogamia e os efeitos da deriva genética, levando a perda da variação genética pela perda da heterozigosidade e de alelos de baixa frequência (WHITE et al., 1999). Conte (2004) complementa a ideia ao descrever que estes processos de alteração ambiental causam erosão da variabilidade genética e intensifica a divergência interpopulacional devido ao aumento da deriva, das taxas de endogamia e da redução do fluxo gênico.

O Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) (Tabela 8) representa a capacidade do marcador em detectar a variabilidade existente entre os indivíduos, sendo que, quanto maior essa capacidade, maior o seu valor. (PRECZENHAK, 2013). O PIC na população apresentou valores acima de 0,60 na maioria dos loci, à exceção do EME713 (0,43), que foi o menos informativo, com o menor valor de PIC na população estudada. Com relação à média geral, o valor foi de 0,70, sugerindo que os SSRs foram informativos, permitindo uma melhor captura da variabilidade entre os indivíduos estudados.

Tabela 8. Análise descritiva dos 17 loci microssatélites utilizados na população de *M. esculenta* Crantz: número de alelos por loci (*A*); heterozigosidade esperada (H_e); heterozigosidade observada (H_o); coeficiente de endogamia (*f*) e conteúdo de informação polimórfico (*PIC*).

| <i>Loci</i> | <i>A</i> | H_e | H_o | <i>f</i> | <i>PIC</i> |
|-------------|----------|-------|-------|----------|------------|
| EME260 | 9 | 0,83 | 0,63 | 0,24 | 0,80 |
| EME345 | 4 | 0,69 | 0,10 | 0,85 | 0,63 |
| SSRY93 | 6 | 0,76 | 0,47 | 0,39 | 0,73 |
| EME445 | 5 | 0,72 | 0,00 | 1,00 | 0,67 |
| EME189 | 8 | 0,83 | 0,51 | 0,38 | 0,81 |
| SSRY27 | 6 | 0,70 | 0,28 | 0,60 | 0,65 |
| EME313 | 6 | 0,74 | 0,57 | 0,22 | 0,69 |
| SSRY75 | 5 | 0,63 | 0,56 | 0,11 | 0,60 |
| EME713 | 3 | 0,48 | 0,28 | 0,41 | 0,43 |
| SSRY80 | 7 | 0,78 | 0,67 | 0,14 | 0,75 |
| SSRY30 | 7 | 0,81 | 0,79 | 0,03 | 0,78 |
| NS198 | 8 | 0,82 | 0,46 | 0,44 | 0,80 |
| SSRY49 | 6 | 0,78 | 0,46 | 0,41 | 0,75 |
| SSRY182 | 5 | 0,69 | 0,04 | 0,95 | 0,64 |
| SSRY31 | 7 | 0,84 | 0,88 | 0,05 | 0,82 |
| SSRY82 | 4 | 0,73 | 0,77 | 0,05 | 0,68 |
| SSRY94 | 6 | 0,73 | 0,44 | 0,39 | 0,70 |
| Média | 6 | 0,74 | 0,47 | 0,37 | 0,70 |
| Total | 102 | - | - | - | - |

Com relação aos índices de diversidade de *M. esculenta* apresentado na Tabela 5, foi observada distinção genética entre as populações de estudo. Contudo, a população sul se destacou com os valores de maior magnitude para os índices número de alelos por população (6), número de alelos raros (18,00), número de alelos da população/número total de alelos na espécie (0,97), heterozigosidade esperada (0,71) e conteúdo de informação polimórfica (0,67). Nesta região, houve maior número de alelos raros, podendo ser justificado pelo grande tamanho populacional.

Dentre os índices de diversidade, o número de alelos raros é encontrado apenas em uma única população, podendo servir como marcadores específicos de um determinado genótipo e contribuir na diferenciação genética entre as populações (SZPIECH; ROSENBERG 2011). Além disso, eles são considerados importantes e informativos ao determinar as áreas prioritárias para conservação *in situ*.

Tabela 9. Índices de diversidade genética de populações de *M. esculenta* Crantz: número de alelos por população (*A*); número de alelos raros (*Ar*); número de alelos da população/número total de alelos na espécie (*Pa*); heterozigosidade esperada (*H_e*); heterozigosidade observada (*H_o*); coeficiente de endogamia (*f*) e conteúdo de informação polimórfico (*PIC*).

| <i>População</i> | <i>A</i> | <i>Ar</i> | <i>Pa</i> | <i>H_o</i> | <i>H_e</i> | <i>f</i> | <i>PIC</i> |
|------------------|----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|----------|------------|
| SUL | 6,00 | 18,00 | 0,97 | 0,47 | 0,71 | 0,33 | 0,67 |
| SERRANA | 5,00 | 17,00 | 0,85 | 0,41 | 0,69 | 0,41 | 0,64 |
| NORTE | 5,00 | 13,00 | 0,83 | 0,51 | 0,68 | 0,25 | 0,63 |
| Média | 5,31 | 16,00 | 0,88 | 0,46 | 0,69 | 0,33 | 0,63 |

5.4 Análise de agrupamento molecular

Segundo Cruz e Regazzi (2004), o método hierárquico UPGMA permite ao pesquisador verificar o grau de similaridade entre genitores e grupos similares, ou distintos. Na Figura 13, pode-se observar a formação de nove grupos, sendo os maiores V (24 genótipos), VI (36 genótipos), VII (48 genótipos).

O grupo I concentrou genótipos da região Serrana (Venda Nova do Imigrante e Conceição do Castelo) e o genótipo comercial BRS Jari (Embrapa). O grupo V foi composto por genótipos da região Sul (Alegre e Castelo). Enquanto o grupo IV concentrou

genótipos da região Norte (Nova Venécia, Aracruz, Jaguaré, São Mateus e Sooretama), abrangendo aproximadamente todos os materiais colhidos nessa região.

O grupo VII foi formado pelo maior número de genótipos (48), abrangendo na maioria os genótipos da região Sul (Castelo, Alegre e Cachoeiro de Itapemirim), indicando que, embora haja genótipos com grande divergência genética entre grupos, dentro do grupo a maioria é similar. De acordo com Vieira et al. (2005), o estabelecimento de grupos com genótipos com homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos é o ponto de partida para uma avaliação mais minuciosa dos mesmos, a fim de realizar seu aproveitamento nos programas de melhoramento.

Pode-se também observar a dispersão dos grupos II (G02DM) e IX (BRS Kiriris) reunindo apenas um genótipo, sugerindo que estes são mais divergentes em relação aos demais genótipos estudados. No entanto, o grupo III foi formado por três genótipos (sendo o genótipo comercial BRS Dourada caracterizado pelo alto teor de carotenóides (pró-vitamina A) e os genótipos crioulos E_Amarela_CC e E_Amarela. O aprimoramento dos carotenóides de pró-vitamina A é um alvo nutricional importante para a melhoria de culturas como a mandioca, o arroz, a banana e outras culturas alimentares básicas nos países em desenvolvimento (BOUIS; SALTZMAN, 2017, MAYER et al., 2008; SAYRE et al., 2011). A similaridade entre esses materiais é um ponto favorável, uma vez que genótipos comerciais passaram por algum processo de melhoramento.

Os genótipos Manteiga Amarela (Nova Venécia) e Inca (Aracruz) foram os mais similares, em razão de terem exibido o menor valor (0,034), demonstrando uma base genética muito estreita entre os acessos avaliados (Figura 1). No entanto, os genótipos Pão do Chile (Castelo) e Mandioca 02 (Afonso Claudio) foram consideradas as mais dissimilares entre si, com uma distância genética de 1,00, com base no complemento aritmético do índice ponderado.

A distância entre os genótipos é um subsídio significativo para a escolha dos progenitores no desenvolvimento de populações segregantes, visando à utilização de distintos conjuntos gênicos em cruzamentos, para obtenção de híbridos superiores, seja para avaliar o grau de erosão genética ou mesmo para conhecer a amplitude da base genética (MIRANDA et al., 2003; DANDOLINI et al., 2008; MUNHOZ et al., 2009). Sendo assim, ressalta-se que há diversidade genética entre as variedades de mandioca estudadas, uma vez que o método de agrupamento (UPGMA) permitiu a formação de vários grupos. Observou-

se, durante as visitas às propriedades, a existência de intercâmbio de variedades de mandioca entre agricultores de diferentes comunidades, municípios e estados, podendo resultar na homogeneidade de genótipos dentro de uma região e heterogeneidade entre diferentes regiões. Desse modo, o conhecimento da diversidade genética de mandioca contribui para a conservação e manutenção dos recursos genéticos.

Legenda: **A**-Afonso Cláudio; **B**-Alegre; **C**-Aracruz; **D**-Castelo; **E**-Conceição do Castelo; **F**-Divino de São Lourenço; **G**-Domingos Martins; **H**-Jaguará; **I**-Jerônimo Monteiro; **J**-Mimoso do Sul; **K**-Nova Venécia; **L**-Cachoeiro de Itapemirim; **M**-São Mateus; **N**-Sooretama; **O**-Venda Nova do Imigrante; **Z**-Embrapa.

Figura 12. Agrupamento baseado na distância genética de Nei (1973) entre 141 genótipos crioulos coletados do estado do Espírito Santo (63 R. sul, 40 R. serrano e 38 R. norte) e 3 genótipos comerciais da Embrapa (BRS Kiriris; BRS Jari; BRS Dourada) de mandioca.

5.5 Estrutura genética populacional

A ferramenta Bayesiana implementada no software STRUCTURE sugeriu a existência de quatro agrupamentos genéticos na coleção de genótipos (Figura 14) de acordo com Evanno et al. (2005), o valor de ΔK considerado foi obtido selecionando o melhor número de subpopulações (K).

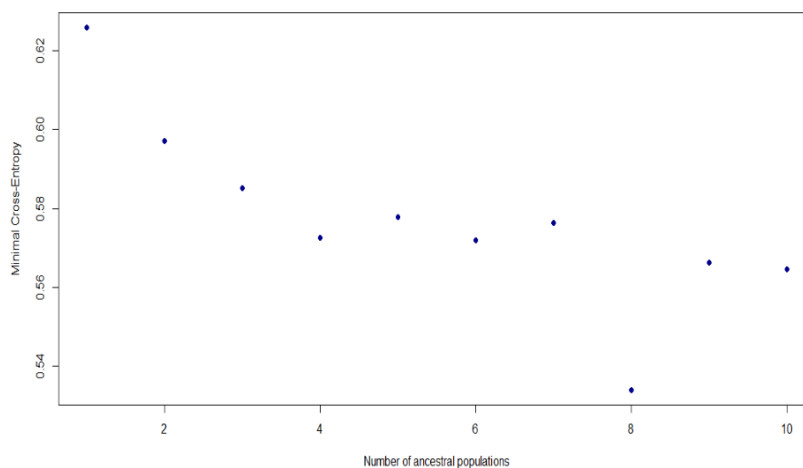


Figura 13. Valor de ΔK de possíveis agrupamentos de 144 genótipos de mandioca obtidos de dez simulações de análise da estrutura.

A estrutura genética avaliada nas regiões do estado foi analisada considerando dados de marcadores microssatélites, por meio de análise Bayesiana implementada no software STRUCTURE. Essa análise considera a separação do número total de indivíduos em agrupamentos (clusters), atribuindo-os um número K de populações e assumindo que está em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foram calculados ΔK para cada valor de K (EVANNO et al., 2005), o que permite a fácil interpretação de qual K é mais provável para representar o número de grupos na matriz de dados.

O conhecimento de estrutura genética das populações é essencial para o uso eficiente dos recursos genéticos, bem como para uma melhor compreensão de sua história evolutiva (VENCOVSKY et al., 2007; CLEMENT et al., 2010).

Conforme observado na Figura 15, quando K=3, os genótipos da região Sul e Serrana foram formados por dois grandes grupos ancestrais basicamente o verde e o azul. Os materiais de Mimoso do Sul, Jerônimo Monteiro e Cachoeiro de Itapemirim pertencendo apenas ao grupo verde, enquanto os genótipos de Divino de São Lourenço, Alegre e Castelo aos grupos das cores verde e azul. Quanto à região Serrana houve a formação de dois

grandes grupos (cores verde e vermelha), nos quais Conceição do Castelo e Venda Nova do Imigrante (verde) e Afonso Cláudio e Domingos Martins (vermelha).

Os genótipos da região Norte foram divididos em três grupos. As cidades de Sooretama e São Mateus compoem o grupo 1 (cor vermelha), Jaguaré e Nova Venécia ao grupo 2 (verde) e Aracruz formando o grupo 3 (azul), isso pode ser explicado pela maior distância entre esses locais.

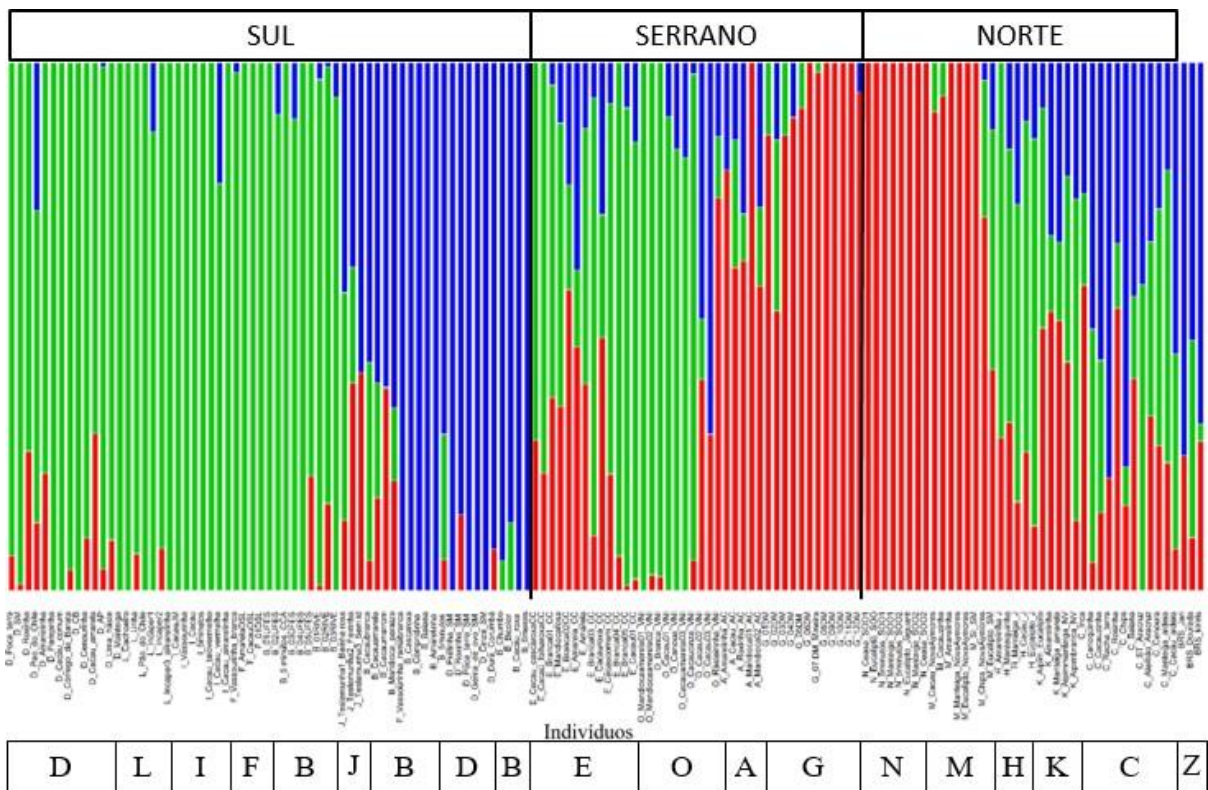
Esses resultados sugerem grupos geneticamente definidos, correspondendo a grupos regionais predefinidos, onde agricultores selecionam variedades de mandioca para diferentes propósitos, mas também mostra a troca de material ou fluxo de genes entre os municípios, e principalmente na direção serrana e norte, sendo mais heterogênea dentro do grupo.

Quando o $K=4$ as populações da região Sul e Serrana permaneceram em dois grandes grupos azul e vermelho na região sul e azul e verde na serrana. Na região Norte, houve a junção dos genótipos de Aracruz, que estavam em um grupo distinto quando $K=3$.

Para $K=5$ observa-se que a população da região Sul permanece basicamente em dois grandes grupos, como observado quando $K=3$ e $K=4$. Já, a região Serrana formou três grupos ancestrais mais pronunciados, com os materiais de Conceição do Castelo e Venda Nova em grupos distintos, enquanto materiais de Afonso Cláudio e Domingos Martins pertencem ao mesmo grupo, como no $K=3$ e $K=4$.

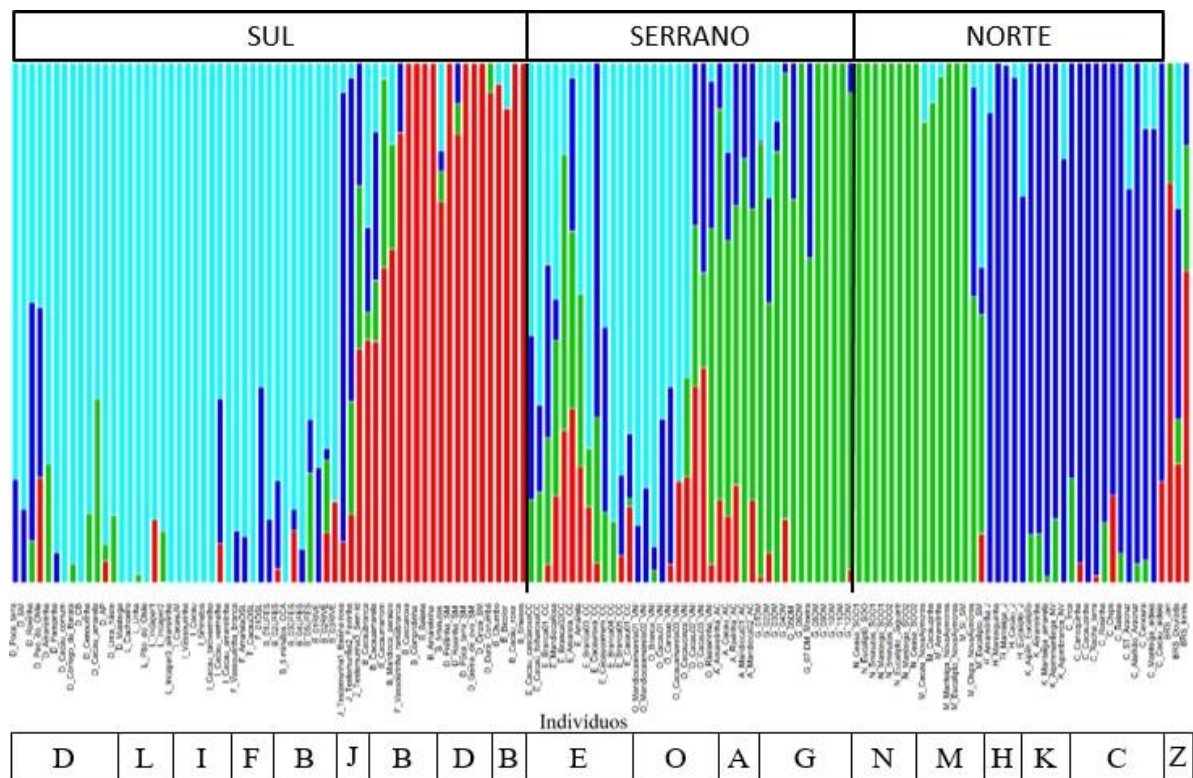
Para a região norte, as cidades de Jaguaré, Nova Venécia e Aracruz pertencem a um grupo e Sooretama e São Mateus a outro grupo, como nos $K=3$ e $K=4$ (Figura 15 e 16). Em todos os valores de K foi observado que as populações Sul e Serrana se mantiveram mais homogêneas por cidade que a população do Norte do estado (Figura 15, 16 e 17).

Com esta análise foi possível prever a estrutura das populações e a ascendência dos indivíduos, contribuindo no desenvolvimento de novas variedades. A maior concentração da variabilidade genética nas regiões Sul e Serrana estão possivelmente relacionados com a ocorrência da troca ou introdução de material nas roças. A variabilidade encontrada pode ser explicada pela adaptação da espécie em diferentes ambientes.



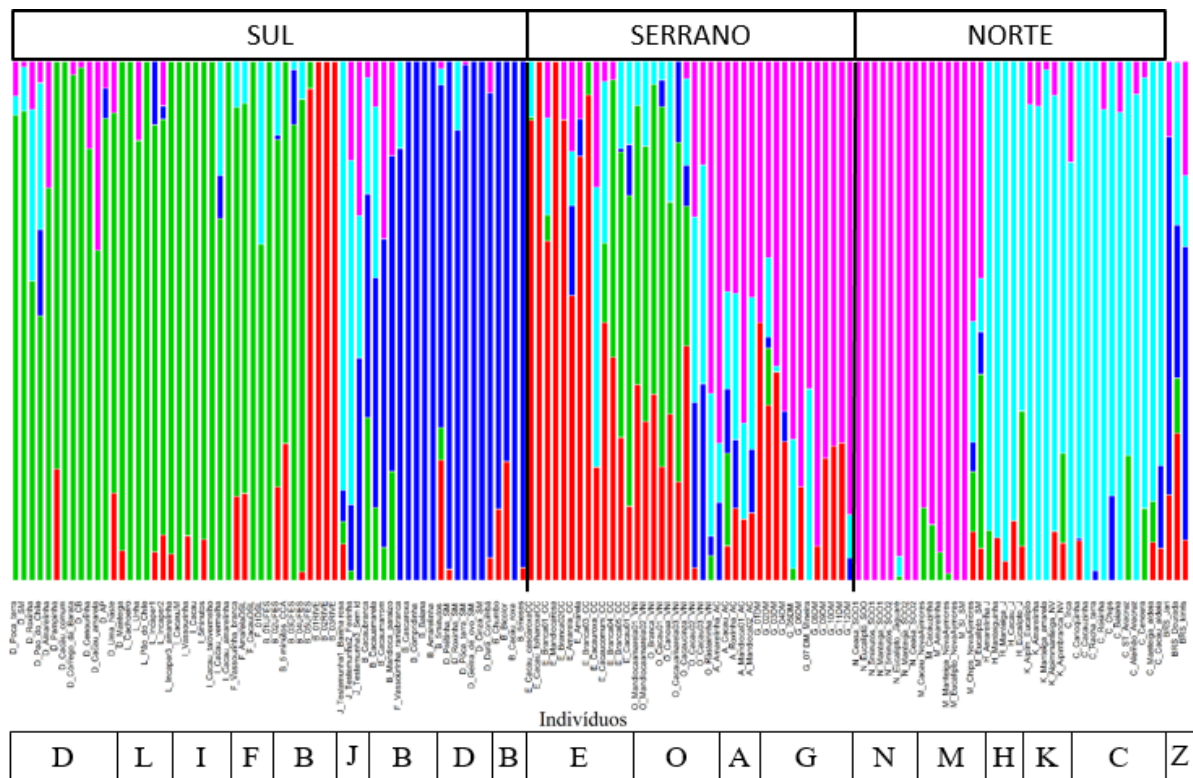
Legenda: A-Afonso Cláudio; B-Alegre; C-Aracruz; D-Castelo; E-Conceição do Castelo; F-Divino de São Lourenço; G-Domingos Martins; H-Jaguaré; I-Jerônimo Monteiro; J-Mimoso do Sul; K-Nova Venécia; L-Cachoeiro de Itapemirim; M-São Mateus; N-Sooretama; O-Venda Nova do Imigrante; Z-Embrapa

Figura 14. Gráfico obtido pela análise no STRUCTURE, em populações de mandioca coletadas no estado do Espírito Santo, onde cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo por uma barra vertical (K=3).



Legenda: **A**-Afonso Cláudio; **B**-Alegre; **C**-Aracruz; **D**-Castelo; **E**-Conceição do Castelo; **F**-Divino de São Lourenço; **G**-Domingos Martins; **H**-Jaguaré; **I**-Jerônimo Monteiro; **J**-Mimoso do Sul; **K**-Nova Venécia; **L**-Cachoeiro de Itapemirim; **M**-São Mateus; **N**-Sooretama; **O**-Venda Nova do Imigrante; **Z**-Embrapa

Figura 15. Gráfico obtido pela análise no STRUCTURE, em populações de mandioca coletadas no estado do Espírito Santo, onde cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo por uma barra vertical (K=4).



Legenda: **A**-Afonso Cláudio; **B**-Alegre; **C**-Aracruz; **D**-Castelo; **E**-Conceição do Castelo; **F**-Divino de São Lourenço; **G**-Domingos Martins; **H**-Jaguaré; **I**-Jerônimo Monteiro; **J**-Mimoso do Sul; **K**-Nova Venécia; **L**-Cachoeiro de Itapemirim; **M**-São Mateus; **N**-Sooretama; **O**-Venda Nova do Imigrante; **Z**-Embrapa

Figura 16. Gráfico obtido pela análise no STRUCTURE, em populações de mandioca coletadas no estado do Espírito Santo, onde cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo por uma barra vertical (K=5).

6 CONCLUSÕES

As populações avaliadas apresentaram variabilidade genética para ambas análises.

Os materiais tradicionais ficaram em grupos diferentes, para os dados qualitativos e moleculares. Alguns genótipos comerciais e tradicionais estabeleceram-se dentro de um mesmo grupo.

Tanto na caracterização morfológica, quanto na molecular, alguns genótipos comerciais e tradicionais estabelecem-se dentro de um mesmo grupo.

Com o uso de descritores qualitativos, a caracterização foi realizada de forma eficiente, destacando os caracteres, cor externa do caule, cor do pecíolo e forma do lóbulo central das folhas.

Existe alta diversidade no material estudado, com a maior parte desta variabilidade distribuída nas regiões sul e serrana.

7 REFERÊNCIAS

ADJEBENG-DANQUAH J, GRACEN VE, OFFEI SK, ASANTE IK, MANU-ADUENING, J. Agronomic performance and genotypic diversity for morphological traits among cassava genotypes in the Guinea Savannah Ecology of Ghana. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 99–108, 2016.

AFONSO, S.D.; LEDO, C.A.S.; MOREIRA, R.F.C.; SILVA, S.O.; LEAL, V.D.J.; CONCEIÇÃO, A.L.S. Selection of descriptors in a morphological characteristics considered in cassava acessions by means of multivariate techniques. **IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 7, p. 13-20, 2014.

ALBUQUERQUE, J. A. A; SEDIYAMA, T; SILVA, A. A.; SEDIYAMA, C.S.; ALVES, J. M. A.; ASSIS NETO, F. Caracterização morfológica e agronômica de clones de mandioca cultivados no Estado de Roraima. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 4, p. 388-394, 2009.

ALLEM, A C. The origin of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae). **Genetic Resource and Crop Evolution**, v. 41, n. 3, p. 133-150, 1994.

ALLEM, A. C. The origins and taxonomy of cassava. In: Hillocks, R. J., Tresh, J. M., Bellotti, A. C. (Eds.), **Cassava: Biology, Production and Utilization**. CABI Publishing Oxon, UK and New York, USA, p. 1-16, 2002.

ALVES, A. A. C. Fisiologia da mandioca. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-**(INFOTECA-E), 1999. Xp.

ALVES, R. M.; GARCIA, A. A. F.; CRUZ, E. D.; FIGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 7, p. 807-818, 2003.

ANDERSEN, O. M.; JORDHEIM, M. The Anthocyanins. In: **Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications**; Andersen, O. M., Markhan, K. R., Eds. CRC Press: Boca Raton. p. 471-553, 2006.

BARBOSA, G. M. **Caracterização morfofisiológica de clones de mandioca em Cândido Sales – BA**. 2013. Xfl. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2013.

BERNARDES, M.; PEIXOTO, C.V.; CÂMARA, G.M.S. **Mandioca**. Departamento de Produção Vegetal. ESALQ. Piracicaba. 2009. Xp.

BERTAN, I.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; HARTWIG, I.; SILVA, J.A.G.; SHIMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; BUSATO, C.C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 279-286, 2006.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, H.; DAVIS, R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p. 314-331, 1980.

BOUIS, H.E.; SALTZMAN, A. Improving nutrition through biofortification: a review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. **Global Food Security**. v. 12, p. 49–58, 2017.

CAGNON, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. Glicosídeos cianogênicos da mandioca: biossíntese, distribuição, destoxificação e métodos de dosagem. In: Cereda, M. P. (Coord). **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargil, v.2, p 83-99, 2002.

CAMÂRA, G. **Mandioca - Produção, Pré-processamento e Transformação Agroindustrial** - Série Extensão Agroindustrial, n. 4, ESALQ, 1983.

CAMPOS, A. L. de; ZACARIAS, A. J.; COSTA, D. L.; NEVES, L. G; BARELLI, M. A. A; SOBRINHO, S. P; LUZ, P. B. Avaliação de acessos de mandioca do banco de germoplasma da UNEMAT Cáceres - Mato Grosso. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 44-54, 2010.

CARRASCO, N. F.; OLER, J. R. L.; MARCHETTI, F. F.; CARNIELLO, M.A.; AMOROZO, M. C. M.; VALLE, T.; VEASEY, E. A. Growing Cassava (*Manihot esculenta*) in Mato Grosso, Brazil: Genetic Diversity Conservation in Small-Scale Agriculture. **Economic Botany**, v.70, n. 1, p. 15-28, 2016.

CARVALHO, P. C. L. de. Biosistemática de Manihot. In: **Aspectos Socioeconômicos e Agrônômicos da Mandioca**. Embrapa, Cruz das Almas, Bahia. 1 Ed. , cap. 5, p. 127-137, 2006.

CEASA- CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DO ESPÍRITO SANTO S. A. **Santa Leopoldina é destaque na comercialização de mandioca.** 2016. Disponível em: <<https://ceasa.es.gov.br/destaquemandioca>>. Acesso em: 5 nov. 2017.

CEBALLOS, H. N.; MORANTE, T.; SÁNCHEZ, D.; ORTIZ, I.; ARAGÓN, A.L.; CHÁVEZ, M.; PIZARRO, F.; CALLE AND D.DUFOUR (2013) Rapid cycling recurrent selection for increased carotenoids content in cassava roots. **Crop Sci.** 53: 2342–2351.

CEBALLOS, H.; MORANTE, N.; SÁNCHEZ, T.; ORTIZ, D.; ARAGÓN, I.; CHÁVEZ, A.L.; PIZARRO, M.; CALLE, F.; DUFOUR D. Rapid cycling recurrent selection for increased carotenoids content in cassava roots. **Crop Science**, v. 53, p. 2342–2351, 2013.

CHALKER-SCOTT, L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. **Photochemistry and Photobiology**, v. 70, n. 1, p.1-9, 1999.

CHETTY, C.C.; ROSSIN, C.B.; GRUISSEM, W.; VANDERSCHUREN, H.; REY, M.E. Empowering biotechnology in southern Africa: establishment of a robust transformation platform for the production of transgenic industry-preferred cassava. **New Biotechnology**, v. 30, p. 136–143, 2013.

CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). **Cassava research and development in Asia: exploring new opportunities for an ancient crop.** In: Howeler R, ed. 7th regional workshop. Bangkok, Thailand: CIAT, p. 174- 314, 2007.

CLEMENT, C.R.; CRISTO-ARAÚJO, M.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; PEREIRA, A.A.; PICANÇO-RODRIGUES, D. Origin and domestication of native Amazonian crops. **Diversity**, Basel, v. 2, p. 72-106, 2010.

COIMBRA, S. T. **MANDIOCA: A cultura, a sua análise econômica e a respectiva cadeia produtiva no Brasil.** 2013. xfl Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical e Desenvolvimento Sustentável) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2013.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germ plasm based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology.** v. 23, p. 189-199, 2000.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Conjuntura mensal, agosto de 2015.** Brasília: Conab, 2015. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_18_09_18_33_mandioca_conjuntura_agosto_2015.pdf>. Acesso em: 11 out. 2017.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Conjuntura mensal, fevereiro de 2017**. Brasília: Conab, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_03_15_14_37_41_17.pdf> Acesso em: 16 out. 2017.

CONCEIÇÃO, A. J. da. **A mandioca**. 3. ed., Nobel, São Paulo, p. 382, 1987.

CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microssatélites**. 2014. Xfl Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, São Paulo, 2004.

CORDEIRO, C.M.T.; MORALES, E.A.V.; FERREIRA, P.; ROCHA, D.M.S.; COSTA, I.R.S.; VALOIS, C.C.; SILVA, S de O. Towards a brasilian core collection of cassava. In: HODGKIN, T.; BROWN, A H.D.; HINTUM, T.J.L.; MORALES, E. A V. **Core Collection of plants genetic resources**. Chichester: John & Sons, 1995.

CORDEIRO, I.; SECCO, R.; SILVA, M.J. da; SODRÉ, R.C.; MARTINS, M.L.L. **Manihot** In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB17591>>. Acesso em: 27 nov. 2017.

COSTA, L.V; BENTES, J.L.S.; LOPES, M.T.G.; ALVES, S.R.M.; VIANA JÚNIOR, J.M. Caracterização de acessos de pimentas do Amazonas. **Horticultura Brasileira**. v. 33, p. 290-298, 2015.

COSTA, I.R.S.; MORALES, E. A V. Cassava genetics in South America. In: **Report of the first meeting of the International Network for Cassava Genetic Resources**, held at CIAT, Cali, Colombia, 18-23 August, 1992. IPGRI, Rome, p. 16-20, 1994.

COSTA, I.R.S.; MONTENEGRO, E.E.; FUKUDA, W.M.G. Coleta de germoplasma de mandioca no Nordeste (Bahia e Piauí). In: **Congresso Brasileiro de Mandioca**, VIII, Salvador, BA, p. 85, 1994.

COSTA, I.R.S.; SILVA, S. de O. Coleta de germoplasma de mandioca no Nordeste (Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará). **Revista Brasileira de Mandioca**, v. 1, n. 1, p.19-27, 1992.

- CRUZ, C. D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos Biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, v. 2, p. 688, 2014.
- CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Viçosa, MG: Ed. Suprema, p. 620, 2011.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Diversidade Genética**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 480 p, 2004.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. v. 1, 4 ed, Viçosa, MG: Ed. UFV, 2012.
- DAHER, R.F.; MORAES, C.F.; CRUZ, C.D. Seleção de caracteres morfológicos em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, p. 247-259, 1997.
- DANDOLINI, T.S.; SCAPIM, C.A.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; MANGOLINI, C.A.; MACHADO, M.F.P.S.; MOTT, A.S.; LOPES, A.D. Genetic divergence in popcorn lines detected by microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 8, p. 313-320, 2008.
- DOURADO, D. P.; MACÊDO, D. A.; TONANI, F. L.; MURAIISHI, C. T. Caracterização bromatológica e classificação da casca da mandioca como fonte para alimentação animal. **RIU-Revista de Integralização Universitária**, v. 12, n. 16, 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.
- DUPUTIÉ, A.; SALICK, J.; MCKEY, D. Evolutionary biogeography of *Manihot* (Euphorbiaceae), a rapidly radiating Neotropical genus restricted to dry environments. **Journal of Biogeography**. v. 1, p. 1-11, 2011.
- EKANDEM, M.J. Cassava research in Nigeria before 1967. **Ibadan: Federal Department of Agricultural Research**, p. 16, 1970.

- EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, Netherlands, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2011.
- EKANAYAKE, I. J.; OSIRU, D. S. O.; PORTO, M. C. M. **Physiology of cassava**. IITA Research Guide 55. Training Program, IITA, Ibadan, Nigeria, p. 22, 1998.
- ELIAS, M.; MÜHLEN, G.S.; MCKEY, D.; ROA, A.C.; TOHME, J. Genetic diversity of traditional South American landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): an analysis using microsatellites. **Economic Botany**, v. 58, p. 242-256, 2004.
- EL-SHARKAWY, M. A. Cassava biology and physiology. **Plant Molecular Biology**, v. 56, p. 481-501, 2004.
- EMBRATER. **Manual Técnico: Cultura da Mandioca**. Brasília. 1979.
- EMPERAIRE, L.; MÜHLEN, G.S.; FLEURY, M. Approche comparative de la diversité génétique et de la diversité morphologique des maniocs em Amazonie (Brésil et Guyanes). **Les Actes du Bureau des Ressources Génétiques**. v. 4, p. 247-267, 2003.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611-2620, 2005.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: UFV, p. 279, 1987.
- FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. **Molecular Ecology**. v. 7, p. 574-578, 2007.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION). 2017. **Statistics of production**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 15 out. 2017.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION). 2016. **Statistics of production**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>> . Acesso em: 15 out. 2017.
- FARALDO, M.I.F.; SILVA, R.M.; ANDO, A.; VEASEY, E.A. **Marcadores moleculares em mandioca**. In: Cereda MP. Agricultura: tuberosas amiláceas latino-americanas. São Paulo-Fundação Cargill. p. 36-48, 2002.

FARIAS, A. R. N.; SOUZA, L. S.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA, W. M. G.

Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 817, 2006.

FERREIRA C.B.B.; LOPES, M.T.G.; LOPES, R.; CUNHA, R.N.V. DA; MOREIRA, D.A.M.; BARROS, W.S.; MATIELLO, R.R. Diversidade genética molecular de progênies de dendezeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.3, p.378-384, 2012.

FERREIRA, C.F. Molecular characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with yellow-orange roots for betacarotene improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.8, n. 1, p.23-29, 2008.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética.** 3 ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, p. 220, 1998.

FIALHO, J. de F.; VIEIRA, E.A. (Eds.). **Mandioca no cerrado: orientações técnicas.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, , 2011. p. 208

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION. 2016. **Statistics of production.** Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 15 outubro 2017.

FREGENE, M.; SUAREZ, M.; MKUMBIRA, J.; KULEMBEKA, H.; NDEDYA, E.; KULAYA, A.; MITCHEL, S.; GULLBERG, U.; ROSLING, H.; DIXON, A.; DEAN, R.; KRESOVICH, S. Simple sequence repeat marker diversity in cassava landraces: genetic diversity and differentiation in asexually propagated crop. **Theoretical and Applied Genetics**, v.107, p.1083-1093, 2003.

FREGENE, M.; OKOGBENIN, E.; MBA, C.; ANGEL, F.; SUARE, M. C.; GUTIERREZ, J.; CHAVARRIAGA, P.; ROCA, W.; BONIERBALE, M.; TOHME, J. Genome mapping in cassava improvement: Challenges, achievements and opportunities. **Euphytica**, v. 120, p. 159-165, 2001.

FUKUDA, W.M.G.; GUEVARA, C.L. **Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1998, 38p. (EMBRAPACNPMPF. Documentos, 78). Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/638631/descriptores-morfologicos-e-agronomicos-para-a-caracterizacao-de-mandioca-manihot-esculenta-crantz>. Acesso em: 16 de setembro de 2017.

FUKUDA, W. M. G. Melhoramento da mandioca. In: Aluizio Borém. **Melhoramento de Espécies cultivadas**. Viçosa. UFV, p. 409-428, 1999.

FUKUDA, W. M. G.; IGLESIAS, C. Melhoramento da mandioca. In: SOUZA, L. S. et al. (Ed). **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical, v. 13, p. 324-363, 2006.

FUKUDA, W. M. G.; SILVA, S. O. E. Melhoramento de mandioca no Brasil. In: CEREDA, M. P. (Ed.). **Cultura de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, p. 242-257, 2002.

FUKUDA, W.M.G., FUKUDA, C., DIAS, M.C., XAVIER, J.J.B.N., FIALHO, J.F. Variedades. In: Souza LS, Farias ARN, Mattos PLP, Fukuda WMG. **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. p. 433-454, 2006.

FUKUDA, W.M.G.; ALVES, A. A. C. Germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no Brasil. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, BA, v. 6, n. 2, p. 109-11, 1987.

FUKUDA, W.M.G.; CAVALCANTI, J.; MAGALHÃES, J. A; IGLESIAS, C. Avaliação de germoplasma de Mandioca para Resistência ao ácaro Verde (*Mononychellus tanajoa*) em quatro ecossistemas do Nordeste semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de mandioca**, Cruz das Almas (BA), v. 15, n.1/2, p. 67-78, 1996.

FUKUDA, W.M.G.; GUEVARA, C.L. **Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, p. 38, 1998 (EMBRAPA-CNPMF, Documentos, 78).

GABRIEL, L. F., STRECK, N. A., UHLMANN, L. O., DA SILVA, M. R., & DA SILVA, S. D. Mudança climática e seus efeitos na cultura da mandioca. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 18, n. 1, 2014.

GAZAFFI, R.; MATTA, F. P; GARCIA, A. A. F. Métodos genético-estatísticos para mapeamento de *QTL*. In: FERREIRA, A.; LIMA, A. B. P.; MATTA, F. P.; AMARAL, J. A. T.; LOPES, J. C.; PEZZOPANE, J. E. M.; FERREIRA, M. F. S.; POLANCZYK, R. A.; SOARES, T. C. B. (Eds.). **Tópicos especiais em produção vegetal I** -1. ed. - Alegre, ES: UFES, Centro de Ciências Agrárias, cap. 4, p. 57-74, 2009.

GONZALEZ, C.; PEREZ, S.; CARDOSO, C. E. L.; ANDRADE, R.; JOHNSON, N.

Analysis of diffusion strategies in northeast Brazil for new cassava varieties with improved nutritional quality. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 47, n. 3, p. 539-552, 2011.

GULICK, R.; HERSHEY, C.H; ALCAZAR, J. E. **Genetic resources of cassava and wild relatives**. Rome: IBPGR, p. 56, 1983.

HURTADO, P.; OLSEN, K.; BUITRAGO, C.; OSPINA, C.; MARIN, J.; DUQUE, M.; DE VICENTE, C.; WONGTIEM, P.; WENZEL, P.; KILLIAN, A.; ADELEKE, M.; FREGENE, M. Comparison of simple sequence repeat (SSR) and diversity array technology (DArT) markers for assessing genetic diversity in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**. v. 6: p. 208–214, 2008.

ICGMC (INTERNATIONAL CASSAVA GENETIC MAP CONSORTIUM). High-resolution linkage map and chromosome-scale genome assembly for cassava (*Manihot esculenta* Crantz) from ten populations. **G3: Genes | Genomes | Genetics** (Bethesda) v. 5, p. 133-144, 2015.

INCAPER (INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL). **Ações do Estado para a agricultura familiar é tema de reunião na Sede do Incaper**, 2016. Disponível em: <https://incaper.es.gov.br/Not%C3%ADcia/acoes-do-estado-para-a-agricultura-familiar-e-tema-de-reuniao-na-sede-do-incaper>. Acesso em: 15 nov. 2017.

INCAPER (INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL). **Santa Leopoldina é destaque na comercialização de mandioca**, 2016. Disponível em: <https://incaper.es.gov.br/Not%C3%ADcia/santa-leopoldina-e-destaque-na-comercializacao-de-mandioca>. Acesso em: 9 set. 2017.

IRITI, M.; ROSSONI, M.; BORGIO, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole enhances resveratrol and anthocyanin biosynthesis in grapevine, meanwhile improving resistance to *Botrytis cinerea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 4406- 4413, 2004.

JAVARIS, A; RAMIREZ-VILLEGAS, J; CAMPO, B.V.H; NAVARO-RACINES, C. Is Cassava the Answer to African Climate Change Adaptation? **Tropical Plant Biology**, v. 5, p. 9-29, 2012.

LOPES, A.C.; VIANA, A.E.S.; MATSOMOTO, S.N.; CARDOSO JÚNIOR, N. dos S.; SÃO JOSÉ, A.R. Complementação da irrigação e épocas de colheita de mandioca cv.

coqueiro no Planalto de Conquista, BA. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 579-587, 2010.

LUCENA, R. S.; DANTAS, J. L. L. Divergência genética por meio de caracteres morfoagronômicos e de qualidade de frutos de linhagens e híbridos de mamoeiro. **Magistra**, v. 27, n. 1, p. 101-109, 2017.

LYIMO, H. J. F.; PRATT, R. C.; MNYUKU, R. S. O. W. Composted cattle and poultry manures provide excellent fertility and improved management of gray leaf spot in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 126, n. 1, p. 97-103, 2012.

MATTOS, F. S.; FELICIO, R.; SILVEIRA, P.; GUIMARÃES, R. R.; SANTOS, P.; NASCENTE, A. C. S.; SILVA, L. Produtividade de cultivares de mandioca sob déficit hídrico. **Agri-Environmental Sciences**, v. 2, p. 15-24, 2016.

MAYER, J.E.; PFEIFFER, W.H; BEYER, P. Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Curr. Opin. Plant Biol.* v. 11, p. 166–170, 2008.

MIRANDA, G.V; COIMBRA, R.R.; GODOY, C.L.; SOUZA, L.V.; GUIMARÃES, L.J.M.; MELO, A.V. Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 38, p. 681-688, 2003.

MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 8, p. 17 - 27, 2009.

MOURA, G.M. Avaliação de cultivares de mandioca em diferentes épocas de colheita, no estado do Acre. **Revista Brasileira de Mandioca**. v. 17, p. 13-23, 1998.

MOYIB, O. K.; ODUNOLA, O. A.; DIXON, A. G. O. SSR markers reveal genetic variation between improved cassava cultivars and landraces within a collection of Nigerian cassava germplasm. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 6, n. 23, p. 2666-2674, 2007.

MÜHLEN, G.S.; MARTINS, P.S.; ANDO, A. Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca, avaliada por marcadores de DNA. **Scientia Agrícola**, Piracicaba. v. 57, p. 319-328, 2000.

MUNHOZ, R.E.F.; PRIORI, A.J.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SCAPIM, C.A.; SIMON, G.A. Genetic distances among popcorn populations based on molecular marker and the

correlations with the heterosis estimates on the hybrids made by diallel analysis. **Genetics and Molecular Research**. v. 8, p. 321-328, 2009.

NARINA, S. S.; ODENY, D. Cassava. Cap.13, p.303-313. In: KOLE, C.; JOSHI, C. P.; SHONNARD, D. R. **Handbook of bioenergy crop plants**. New York: CRC Press, 2012.

NASSAR, N. M.; SILVA, J. D.; VIEIRA, C. Hibridação interespecífica entre mandioca e espécies silvestres de *Manihot*. **Ciência e Cultura**, v. 38, n. 6, p. 1050-1085, 1986.

NASSAR, N.M.A. Mandioca: Uma opção contra a fome estudos e lições do Brasil e do mundo. **Ciência hoje**, v. 39, n. 231, p. 31-34, 2006.

NASSAR, N.M.A.; GRATTAPAGLIA, D. Variabilidade de clones de mandioca em relação a fertilidade e aspectos morfológicos. **Turrialba**, v.36, p.555-559, 1986.

NDUNG'U, J. N.; WACHIRA, F. N.; KINYUA, M. G.; LELGUT, D. K.; NJAU, P.; OKWARO, H.; OBIERO, H. Genetic diversity study of Kenyan cassava germplasm using simple sequence repeats. **African Journal of Biotechnology**. v. 13, p. 926-935, 2014.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.

NOLASCO, C.A. **Caracterização citogenética e morfológica de híbridos de mandioca (*Manihot esculenta*)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista – BA, 2011.

OLIVEIRA, A. C. B. de; SEDIYAMA, M. A. N. SEDIYAMA, T.; FINGER, F. L.; CRUZ, C. D. Variabilidade genética em batata-doce com base em marcadores isoenzimáticos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 576-582, 2002.

OLIVEIRA, E. J. de; OLIVEIRA FILHO, O. S. de; SANTOS, V. da S. Seleção dos descritores morfoagronômicos mais informativos para germoplasma de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. [online]. v. 49, n. 11, p. 891-900, 2014.

OLIVEIRA, F. N. S. **Considerações sobre os princípios tóxicos da mandioca**. Brasília: Embrapa- UEPAE Rondônia. p. 14, 1986.

OLSEN, K.M. SNPs, SSRs and inferences on cassava's origin. **Plant Molecular Biology**, v. 56, p. 517-526, 2004.

ONZO, A.; HANNA, R.; SABELIS, M. W. The predatory mite *Typhlodromalus aripo* prefers green-mite induced plant odours from pubescent cassava varieties. **Experimental & Applied Acarology**, vol. 58, n. 4, p. 359-370, 2012.

OTT, J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, v. 51, p. 283-290, 1992.

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

PRECZENHAK, A. P. **Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate**. 2013. Xfl. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. 2000. -perence of population

R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 02 jan 2018.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <http://www.r-project.org> >. Acesso em: 02 jan 2018.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013. Disponível em: < <http://www.r-project.org> >. Acesso em: 02 jan 2018.

RAGHU, D.; SARASWATHI, N.; RAVEENDRAN, M.; VENKATACHOLAM, R.; SHANMUGASUNDARAM, P.; MOHAN, C. Morphological and simple sequence repeats (SSR) based finger printing of south Indian cassava germplasm. **IJIB: International Journal of Integrative Biology**. p. 141-149, 2007.

RAMOS, P. A. S. **Caracterização morfológica e produtiva de nove variedades de mandioca cultivadas no sudoeste da Bahia**. 2007. Xfl. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

ROA A.C.; CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P.; DUQUE, M.C.; MAYA, M.A.M.; BONIERBALE, M.W.; IGLESIAS, C.; JOE, T. Cross-species amplification of cassava

(*Manihot esculenta*) (Euphorbiaceae) microsatellites: allelic polymorphism and degree of relationship. **American Journal of Botany**. v. 87, n. 11, p. 1647–1655, 2000.

ROGERS, D. J.; APPAN, S. J. *Manihot, Manihotoides* (Euphorbiaceae). **Flora Neotropica**. New York: Hafner Press., p. 271, 1976.

SALES FILHO, J. B. **Caracterização de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) pela morfologia e padrões isoenzimáticos**. 1991. Xfl. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Federal de Viçosa-MG, 1991.

SARMIENTO, F. M. Z. 1993. **Utilização de farinha de macaxeira (*Manihot esculenta* Crantz) obtida pelo método HEIM em panificação**. 1993. Xfl. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 1993.

SAYRE, R.; BEECHING, J.R.; CAHOON, E.B.; EGESI, C.; FAUQUET, C.; FELLMAN, J.; FREGENE, M. The BioCassava plus program: biofortification of cassava for sub-Saharan Africa. **Annual Review of Plant Biology**. v. 62, p. 251–272, 2011.

SCHLENKER, W.; LOBELL, D. B. Robust negative impacts of climate change on African agriculture. **Environmental Research Letters**. v.5, p. 8, 2010.

SIDRA (SISTEMA IBGE DE RECUPERAÇÃO AUTOMÁTICA. LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA), 2016. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>. Acesso em: 16 nov. 2017.

SILVA, L.I.; FILHO, P.S.V.; COSTA, T.R.; MOIANA, L.D.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C. Molecular characterization of traditional sweet cassava accessions from the periurban region. Toledo, Paraná. **Journal of Global Biosciences**. v. 4, p. 1268–1278, 2015.

SILVA, W.C.J.; CARVALHO, S.I.C.; DUARTE, J.B. Identification of minimum descriptors for characterization of *Capsicum* spp. germplasm. **Horticultura Brasileira**. v. 31, p. 190-202, 2013.

SILVA, B. S. **Caracterização botânica e agrônômica da coleção de trabalho de mandioca da Embrapa Acre**. 2010. N. fls. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal). Universidade Federal do Acre, 2010.

SILVA, K. N. ; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. de F.; CARVALHO, L. J. C. B.; SILVA, M. S. Potencial agrônômico e teor de carotenoides em raízes de reserva de mandioca. **Ciência Rural** (UFMS. Impresso), v. 44, p. 1348-1354, 2014.

SILVA, K.V.P.; ALVES, A.A.C.; BENKO-ISEPPON, A.M.; CARVALHO, R. **Estudo do comportamento meiótico em acessos do gênero *Manihot***. XIII Congresso Brasileiro de Mandioca. Botucatu/SP. 2009.

SIQUEIRA, M.V.B.M.; QUEIROZ-SILVA, J.R.; BRESSAN, E.A.; BORGES, A.; PEREIRA, K.J.C.; PINTO, J.G.; VEASEY, E.A. 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.

SIQUEIRA, M.V.; PINHEIRO, T.T.; BORGES, A.; VALLE, T.L.; ZATARIM, M.; VEASEY, E.A. Microsatellite Polymorphisms in Cassava Landraces from the Cerrado Biome, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Biochemical Genetics**, v. 48, n. 9, p. 879-895, 2010.

SOTO, J. C.; ORTIZ, J. F.; JIMÉNEZ, L. P.; VÁSQUEZ, A. X.; BECERRA, L. A. L. L.; MATHEW, B.; LÉON, J.; BERNAL, A. J.; BALLVORA, A.; LÓPEZ, C. E. A genetic map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with integrated physical mapping of immunity-related genes. **BMC Genomics**, v. 16, p. 190, 2015.

SOUZA, P. F.; DE SOUZA, E. B.; QUEIROZ, J. C. B.; JUNIOR, J. D. A. S. Impactos dos anos climáticos extremos no rendimento da lavoura temporária de mandioca na região rural da metrópole de Belém-Pará. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 21, 2017.

SREELEKHA, S.; KUMAR, S.; PILLAI, S.V. Assessing genetic diversity of Indian cassava: A comparison of old and new collection using microsatellite markers. *Asian Austral. Journal of Crop Science and Biotechnology*. v. 4, n. 1, p. 43-52, 2010.

SURESH, R.; SARAVANAKUMAR, M.; SUGANYADEVI, P. Anthocyanins from indian cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and antioxidant properties. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 7, p. 1819-1828, 2011.

SZPIECH, Z. A.; ROSENBERG, N. A. On the size distribution of private microsatellite alleles. **Theoretical Population Biology**, v. 80, n. 2, p. 100–113, 2011.

TAVARES, K. M.; VIEIRA, J. C.; LIMA, T. M.; DE SOUSA, M. K.; DA SILVA FILHO, J. E. M.; MURAIISHI, C. T. Análise de peso de raiz de diferentes cultivares de mandioca (*Manihot esculenta*) na região de Palmas-TO. **RIU-Revista de Integralização Universitária**, v. 9, n. 14, 2016.

TROMBINI, F. R. M.; LEONEL, M. Composição físico-química e propriedades tecnológicas da farinha de folhas de mandioca. **Energia na Agricultura**, v. 29, n. 1, p. 76-81, 2014.

TURYAGYENDA, L.F.; KIZITO, E.B.; FERGUSON, M.E.; BAGUMA, Y.; HARVEY, J.W.; GIBSON, P.; WANJALA, B.W.; OSIRU, D.S.O. Genetic diversity among farmer-preferred cassava landraces in Uganda. **African Crop Science Journal**. v. 20, p. 15-30, 2012.

VAL, B.H.P.; FERREIRA JUNIOR, J.Á.; BIZARI, E.H.; DI MAURO, A.O.; TREVISOLI, S.H.U. Diversidade genética de genótipos de soja por meio de caracteres agromorfológicos. **Ciência e Tecnologia**. v. 6, n. 1, p. 72-83, 2014.

VENCOVSKY, R.; NASS, L.L.; CORDEIRO, C.M.T.; FERREIRA, M.A.J.F. Amostragem em recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. p. 231-280, 2007.

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; FALEIRO, F.G.; FUKUDA, W.M.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Variabilidade genética para caracteres morfológicos entre acessos do banco de germoplasma de mandioca da Embrapa Cerrados. In: XI Congresso Brasileiro de Mandioca, Campo Grande. CBM, CD ROM. 2005.

VIEIRA, E. A., FIALHO, J. D., FALEIRO, F. G., BELLON, G., FONSECA, K. G., CARVALHO, L. J. C. B.; SILVA, M.S. Caracterização molecular e variabilidade genética de acessos elite de mandioca para fins industriais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 12, p. 2467-2471, 2010.

VIEIRA, E. A., FIALHO, J. D., FALEIRO, F. G., BELLON, G., FONSECA, K. G., CARVALHO, L. J. C. B. Caracterização molecular de acessos de mandioca açucarados e não açucarados. **Ciência Agrotecnologia**, v. 35, n. 3, p. 455-461, 2011.

VIEIRA, E. A., FIALHO, J. D., FALEIRO, F. G., BELLON, G., FONSECA, K. G., CARVALHO, L. J. C. B. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1707-1715, 2008.

VIGOUROUX, Y.; GLAUBITZ, J.C.; MATSUOKA, Y. Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. **American Journal of Botany**, v. 95, p. 1240-1253, 2008.

WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POSELL, W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, v. 8, p. 1899-1909, 1999.

YANINEK, J. S.; HERREN, R. H. Introduction and spread of the cassava green mite, *Mononychellus tabajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae), an exotic pest in Africa and the search for appropriate control methods: a review. **Bulletin of Entomological Research**, v. 78, n. 1, p. 1-13, 1988.

ZACARIAS, A.M.; BOTHA, A.M.; LABUSCHAGNE, M.T.; BENESI, I.R.M. Characterization and genetic distance analysis of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm from Mozambique using RAPD fingerprinting. **Euphytica**, v.138, n.1, p.49-53, 2004.

ZUNDEL, C.; NAGEL, P.; HANNA, R.; KORNER, F.; SCHEIDEGGER, U. Environment and host-plant genotype effects on the seasonal dynamics of a predatory mite on cassava in sub-humid tropical Africa. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 11, p. 321-331, 2009.

NATÁLIA ZARDO BARBIERO

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA NO
ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2018.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Adésio Ferreira

Universidade Federal do Espírito Santo

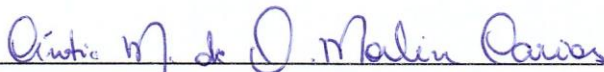
Orientador



Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira

Universidade Federal do Espírito Santo

Coorientadora



Dr.^a Cíntia Machado de O. M. Carias

Universidade Federal do Espírito Santo

Coorientadora



Prof. Dr. José Carlos Lopes

Universidade Federal do Espírito Santo