

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

JOAB LUHAN FERREIRA PEDROSA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA, MOLECULAR E
CITOGENÉTICA DE YACON (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.)
H. Rob.)**

ALEGRE, ES

2022

JOAB LUHAN FERREIRA PEDROSA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA, MOLECULAR E
CITOGENÉTICA DE YACON (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.)
H. Rob.)**

Tese apresentada a Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz de Oliveira.

Coorientador: Prof. Dr. Wellington Ronildo Clarindo.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Taís Cristina Bastos Soares.

ALEGRE, ES

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

F383c FERREIRA PEDROSA, JOAB LUHAN, 1994-
CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA,
MOLECULAR ECITOGENÉTICA DE YACON (*Smallanthus*
Sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Rob / JOAB LUHAN
FERREIRA PEDROSA. - 2022.
60 f. : il.

Orientador: Fábio Luiz de Oliveira.
Coorientadores: Wellington Ronildo Clarindo, Taís Cristina
Bastos Soares.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Asteraceae. 2. Cariótipo. 3. Diversidade genética. 4.
Germoplasma. 5. *Smallanthus sonchifolius*. 6. Valor nuclear 2C.
I. de Oliveira, Fábio Luiz. II. Clarindo, Wellington Ronildo. III.
Bastos Soares, Taís Cristina. IV. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 63


JOAB LUHAN FERREIRA PEDROSA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA, MOLECULAR E
CITOGENÉTICA DE YACON (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H.
Rob.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências na obtenção do título de *Doctor Scientiae* em Agronomia, na área de concentração em Produção de Plantas Cultivadas e Nativas.


Aprovada em 27 de setembro de 2022

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **FABIO LUIZ DE OLIVEIRA**
 Data: 01/12/2022 14:19:21-0300
 Verifique em <http://verificador.itl.br>

Dr. Fabio Luiz de Oliveira (Orientador)

UFES

Documento assinado digitalmente
 **DIEGO MATHIAS NATAL DA SILVA**
 Data: 30/11/2022 19:19:45-0300
 Verifique em <http://verificador.itl.br>

Dr. Diego Mathias Natal da Silva

IF Sudeste MG

Cintia dos Santos Bento

Dra. Cintia dos Santos Bento

UFES

Milene Miranda Praça Fontes

Dra. Milene Miranda Praça Fontes

UFES

Monique Moreira Moulin

Dra. Monique Moreira Moulin

UFES

À minha mãe, Waldeth Pedrosa e à minha avó Maria de Nazaré Ferreira Alves (céu),
por todo amor e confiança.

Dedico!

“Não me envergonho de mudar de opinião, porque não me envergonho de pensar”

(Blaise Pascal)

AGRADECIMENTOS

A Jesus por ser um exemplo de ser já existente a ser seguido;

A Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de realizar o curso;

A Universidade Federal de Viçosa (UFV) por permitir parcerias, realizar disciplinas e experimentos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pelo apoio financeiro;

Ao professor Fábio Luiz de Oliveira, pela orientação, amizade, confiança e profissionalismo. Por me acolher no mestrado e ter aceito continuar a jornada até a conclusão do doutorado, muito obrigado por tudo;

Aos meus coorientadores, professores (a) Wellington Ronildo Clarindo e Taís Cristina Bastos Soares, pela colaboração, suporte e aconselhamento ao longo do desenvolvimento da pesquisa;

A toda equipe do Laboratório de Citogenética e Citometria da UFV, Jessica, Bruna, Paulo, Fernanda, Alex, Nathalia, Mariana e Ana Paula. Pela amizade, ensinamentos, trocas de experiências e momentos de descontração;

À banca examinadora, que prontamente aceitaram o convite para participar, e pela contribuição na melhoria deste trabalho;

Ao Laboratório de Bioquímica e Biologia molecular da (UFES), pelo suporte e por permitir a realização das análises, em especial minha amiga Conceição pela parceria nas análises na vida;

Meus amigos Tati, Vanessa, Paty, Davi, Breno, Tamy, Lucimara, Gustavo, Larissa, Luís;

Meu amigo e companheiro Renan por todo o apoio e carinho nessa fase final;

E, a todos que de alguma forma, fizeram ou fazem parte da minha trajetória, me apoiaram e impulsionaram.

BIOGRAFIA

Joab Luhan Ferreira Pedrosa, filho de Waldeth Ferreira Pedrosa, nasceu em 04 de fevereiro de 1994, em Itapecuru-Mirim, estado do Maranhão. Coursou o ensino fundamental, em três escolas: Paroquial São Vicente de Paulo, Leonel Amorim e Mariana Luz, cidade de Itapecuru-Mirim, MA. Coursou o ensino médio na Escola Estadual Ayrton Senna, na mesma cidade. Em julho de 2011, ingressou no curso de graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão (CCAA-UFMA) na cidade de Chapadinha- MA. Durante a graduação, participou como bolsista do CNPq de projetos de iniciação científica (PIBIC). Em maio de 2016, recebeu o título de Engenheiro Agrônomo, e ingressou em julho do mesmo ano no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do (CCAUE-UFES), onde iniciou o curso de Mestrado em Produção Vegetal, submetendo-se à defesa em 12 de julho de 2018. Foi aprovado no curso de doutorado em Agronomia no mês posterior, onde iniciou suas atividades iniciais, após concluir um semestre mudou-se para Viçosa- MG em mobilidade acadêmica, em que o mesmo cursou disciplinas e realizou experimentos referentes sua tese na Universidade Federal de Viçosa. Após período e um ano o mesmo voltou para Alegre-ES para conduzir as demais demandas de sua tese e representou o estado do Espírito Santo no programa jovens líderes do Agro da Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA). Assim como, desenvolveu outras atividades no meio acadêmico e comercial, como professor substituto na Universidade Federal do Piauí e como assistente de negócios Agro na cooperativa Sicredi União RS/ES.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| AGRADECIMENTOS | v |
| BIOGRAFIA | vi |
| INTRODUÇÃO GERAL | 9 |
| REFÊRENCIAS..... | 11 |
| CAPÍTULO 1 | 15 |
| Caracterização morfoagronômica e molecular de yacon cultivadas nos Estados da região Sudeste do Brasil..... | 15 |
| RESUMO | 15 |
| ABSTRACT..... | 16 |
| INTRODUÇÃO..... | 17 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 19 |
| RESULTADOS | 25 |
| DISCUSSÃO..... | 29 |
| CONCLUSÕES | 33 |
| REFERÊNCIAS..... | 34 |
| CAPÍTULO 2 | 39 |
| Utilização de técnicas citogenéticas e de citometria de fluxo para caracterização do genoma de yacon..... | 39 |
| RESUMO | 39 |
| ABSTRACT..... | 40 |
| INTRODUÇÃO..... | 41 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 43 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 45 |
| CONCLUSÃO | 52 |
| REFERÊNCIAS..... | 53 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 60 |

RESUMO GERAL

O yacon (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp.] H. Rob., Asteraceae) é uma planta de origem andina, rica em propriedades nutracêuticas que promovem efeito benéfico ao organismo, devido às altas concentrações de frutooligossacarídeos (FOS), adoçante natural capaz de reduzir os níveis de lipídios e glicose no sangue, auxiliando na prevenção de doenças crônicas, como diabetes. O crescente interesse global por suas propriedades benéficas a saúde humana promove o avanço e expansão do seu cultivo comercial além da fronteira andina, e com isso diferentes desafios adaptativos. Desta forma, com a presente pesquisa objetivou-se realizar uma caracterização fenotípica e genotípica entre os diferentes materiais de yacon, cultivados nos estados da região sudeste brasileira, assim como mensurar o valor $2C$ nuclear e determinar o número cromossômico. Os resultados demonstraram que há baixa diversidade genética entre os materiais cultivados na região sudeste do Brasil, situação que pode se repetir por todo país, tendo em vista que os materiais cultivados nas demais região do Brasil tem origem comum na região sudeste. A análise fenotípica revelou diferenças entre os materiais para características de interesse agrônomo e comercial, apontando para possibilidade de formação de ecótipos. Em todos os genótipos o conteúdo de DNA nuclear é $2C = 6,39$ pg, com genoma $1C = 3.124,710$ Mpb. Todos apresentaram $2n = 58$ cromossomos, sendo treze pares submetacêntricos (1–5, 7 – 12, 14, 20) e dezesseis pares metacêntricos (6, 13, 15–19, 21–29) com seus tamanhos variando de 3,64 a 1,67 μm , e constrição secundária no par de cromossomos 21. Toda essa informação gerada contribui com a formação do conhecimento genético da yacon, relevante para sua conservação, evolução e diversificação, refletindo, conseqüentemente, na capacidade de cultivo agrícola fora das fronteiras andinas.

Palavras-chave: Asteraceae; Cariótipo; Diversidade genética; Germoplasma; *Smallanthus sonchifolius*; Valor nuclear $2C$

GENERAL ABSTRACT

Yacon (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp.] H. Rob., Asteraceae), is a plant originally from Andes, rich in nutraceutical properties, with beneficial effects on the organism, due to high concentrations of fructooligosaccharides (FOS), a natural sweetener capable of reducing blood lipid and glucose levels, helping to prevent chronic diseases such as diabetes. The growing global interest in its beneficial properties to human health promotes the advancement and expansion of its commercial cultivation beyond its natural Andean frontier of production, original site, and thus, different adaptive challenges. Therefore, this work aimed to evaluate the genetic diversity among the different yacon accessions, cultivated in states of southeastern Brazil. The results showed a low genetic diversity among the materials cultivated in southeastern Brazil, a situation that can be common throughout the country because materials cultivated in other Brazil regions have a common origin in the southeast. The phenotypic analysis revealed differences between the materials for characteristics related to agronomic and commercial interest, highlighting the possibility of ecotype formation. In all genotypes, the nuclear DNA content is $2C = 6.39$ pg, with genome $1C = 3,124,710$ Mpb. All with $2n = 58$ chromosomes, with a karyotype characterized by the occurrence of 29 pairs of chromosomes, thirteen submetacentric (1–5, 7 – 12, 14, 20), and sixteen metacentrics (6, 13, 1–19, 21-29). Their sizes varied from 3.64 to 1.67 μm , and secondary constriction in the pair of chromosomes 21. All this information contributes to the increase the genetic knowledge on yacon, relevant for its conservation, evolution, and diversification, reflecting, consequently, on the agricultural cultivation capacity outside the Andean borders.

Keywords: Asteraceae; $2C$ nuclear value, Genetic diversity, Germplasm; Karyotype, *Smallanthus sonchifolius*.

INTRODUÇÃO GERAL

Yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) (Asteraceae) é uma cultura andina consumida em várias partes do mundo, que nos últimos anos tem atraído interesse significativo, por possuir substâncias, como os frutooligossacarídeos (FOS), que têm ação benéfica a saúde humana.

Diferente da maioria das raízes de armazenamento, em que a energia se encontra na forma de amido, na yacon a reserva é feita na forma de frutanos, destacando-se os do tipo inulina e FOS, compostos que existem naturalmente nas plantas, mas em concentrações geralmente inferiores às das raízes do yacon, e que são considerados prebióticos eficazes e seguros (Souza et al., 2022). Inclusive com alegações de efeitos imunomoduladores, ou seja, que atuam no seu sistema imunológico, responsável pelo combate a microorganismos (vírus, bactérias, fungos) e todo tipo de elemento que ameaça à saúde do organismo (Marques et al., 2022).

Com o aumento do interesse na yacon seu cultivo tem ocorrido em distintas condições edafoclimáticas e com diferentes respostas no seu crescimento e produção (Silva et al., 2018a). Inclusive Silva et al. (2018b) ressaltaram que o cultivo em diferentes condições edafoclimáticas podem interferir na quantidade e qualidade das raízes produzidas.

As técnicas de manejo também interferem no crescimento e desempenho produtivo da yacon (Quaresma et al., 2021), assim como, as características genéticas. Sabe-se que a yacon apresenta variações genotípicas, inclusive refletindo em algumas características como a cor da polpa da raiz por exemplo, que pode variar de branco a amarelo, laranja e roxo, dependendo do genótipo (Seminário et al., 2003). Também, as características químicas, tais como compostos fenólicos e sacarídeos, podem variar significativamente entre os genótipos (Khajehei, et al., 2018).

De forma geral, os estudos com yacon são mais direcionados para o seu potencial como alimento funcional e medicinal (Ribeiro et al., 2021; Martins et al., 2022). Há também pesquisas realizadas sobre seu manejo agrônomico (Silva et al., 2015; Erlacher et al., 2015, Oliveira et al., 2018; Mendes et al., 2018; Silva et al., 2018; Silva et al., 2019; Camara et al., 2020; Cabral, et al. 2020; Quaresma et al., 2020; Pedrosa et al., 2020a; Pedrosa et al., 2020b; Teixeira, et al., 2020, Quaresma et al., 2021; Sales et al. 2021;

Carvalho et al., 2021; Teixeira et al., 2021; Vargas et al., 2022; Sales et al., 2022). No entanto, quanto as questões genéticas, há uma escassez de informações.

Acredita-se que a yacon seja uma espécie aloploide, ou seja, com cromossomos provenientes de espécies diferentes e resultante de uma duplicação cromossômica. Uma característica proveniente da baixa eficiência da propagação sexual, via sementes, que determina a formação de gametas desequilibrados e inviáveis durante a meiose (Ibañez et al., 2017). No entanto, número cromossômico em células somáticas e os valores C nuclear de yacon reportados e citado por diferentes autores é muito diverso dependendo do material vegetal utilizado (Doležalová et al., 2004; Valentová et al., 2006; Viehmannová, et al. 2009; Svobodová et al. 2013).

Com base nestas informações, é importante conhecer a dissimilaridade genética e fenotípica entre os genótipos, na busca de caracteres de interesse biológico e agrônomico, em que a informação genética é única para cada genótipo e é independente de fatores ambientais (Voss-fels et al., 2019). Assim, para o sucesso na construção do conhecimento genético da yacon é necessário a obtenção da máxima variabilidade genética disponível e avaliação de genótipos divergentes com características desejáveis.. Assim, é importante o levantamento de informações quanto à diversidade dos genótipos disponíveis para o estabelecimento de coleções com variação genética representativas da yacon.

Neste sentido, Lorenzoni et al. (2017) apresentaram um relato sobre variabilidade em material genético cultivado no estado do Espírito Santo (Brasil), que mostra um alto grau de similaridade. No entanto, não existem relatos sobre a variabilidade da cultura nos demais estados brasileiros que apresentam cultivo comercial da espécie, tal como, relatos sobre características agrônomicas individuais nos distintos materiais genéticos da yacon, como viés de possibilidades na localização variantes genotípicas, sua relação com produção, tolerância a fatores bióticos e abióticos, entre outras características agrônomicas que são possíveis de serem exploradas.

Isto reforça a hipótese que é necessário conhecer os materiais genéticos de yacon cultivados nos demais estados que apresentam cultivo comercial da planta no país, na busca por diferentes genótipos contrastantes, que, inclusive, poderiam ser introduzidos no estado do Espírito Santo, aumentando a diversidade regional com a finalidade de maior segurança na produção dos materiais cultivados no estado, o que pode servir como base de apoio genético e reflexo em prospecção futura expansão da cultura do país.

Dentro deste contexto, visando conhecer melhor alguns aspectos da diversidade genética da yacon, objetivou-se com esse estudo realizar uma caracterização

morfoagronômica e molecular entre os diferentes materiais de yacon, cultivados nos estados da região sudeste brasileira, assim como mensurar o valor 2C nuclear e determinar o número cromossômico.

REFÊRENCIAS

- BRILHANTE, et al. 2021. Phenotypic and Molecular Characterization of Brazilian Capsicum Germplasm. *Agronomy*, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 854, 27 abr. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy11050854>.
- CABRAL, M. O. et al. Influence of weeds on yacon initial growth and development. *Planta daninha*, v. 38, 2020.
- CAMARA, G. R. et al. First report of *Meloidogyne inornata* on *Smallanthus sonchifolius* in Brazil. *Plant. Dis*, v. 104, p. 595, 2020.
- CARVALHO, A. H. O. et al. Developing row spacing and planting density recommendations for yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in tropical highland conditions. *Chilean journal of agricultural research*, v. 81, n. 2, p. 237-245, 2021.
- EL-MANSY, A. B. et al. Genetic diversity analysis of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with morphological, cytological, and molecular markers under heat stress. *Horticulturae*, v. 7, n. 4, p. 65, 2021.
- ERLACHER, W. et al., Models for estimating yacon leaf area. *Horticultura Brasileira*, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 422-427, set. 2016. FapUNIFESP (SciELO).
- GUERRA, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, v. 146, n. 3, p. 703-710, 2012.
- IBAÑEZ, M. S. et al. Flower structure and developmental stages of the capitulum of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae): reproductive implications. *Journal of plant research*, 130: 2. 327-337, 2017.
- IKRAM, S. F. et al. 2022. Prospects and constraints in studying the biodiversity of agriculturally important microalgae and cyanobacteria and useful statistical tools. *Biodiversity and Conservation*, p. 1-30, 2022.
- KADLUCZKA, D. et al., Using carrot centromeric repeats to study karyotype relationships in the genus *Daucus* (Apiaceae). *BMC genomics*, v. 22, n. 1, p. 1-17, 2021.
- KHAJEHEI, F. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) as a novel source of health promoting compounds: Antioxidant activity, phytochemicals and sugar

- content in flesh, peel, and whole tubers of seven cultivars. *Molecules*, v. 23, n. 2, p. 278, 2018.
- KHAJEHEI, F. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) as a novel source of health promoting compounds: Antioxidant activity, phytochemicals and sugar content in flesh, peel, and whole tubers of seven cultivars. *Molecules*, v. 23, n. 2, p. 278, 2018.
- LORENZONI, R. M. et al. Genetic diversity of yacon accessions using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, n. 2, p. 1-8, 2017.
- MARQUES, B. C. et al. Convective drying of yacón (*Smallanthus sonchifolius*) slices: A simple physical model including shrinkage. *LWT*, v. 159, p. 113151, 2022.
- MARTINS, J.F. L. et al. Yacon-based product improves intestinal hypertrophy and modulates the production of glucagon-like peptide-1 in postmenopausal experimental model. *Life Sciences*, v. 291, p. 120245, 2022.
- MENDES, T. P. et al. Aluminum toxicity effect on the initial growth of yacon plantlets. *Revista Ceres*, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 120-126, mar. 2018. Fap UNIFESP (SciELO).
- MORAES, W. B et al. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Fusarium Root Rot on Yacon Potatoes in Brazil. *Plant Disease*, [S.L.], v. 101, n. 4, p. 629-629, abr. 2017. Scientific Societies.
- MOUSA, R. et al. Molecular Characterization of Some Syrian Pomegranate (*Punica granatum* L.) Genotypes. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, v. 15, n. 3, p. 83-92, 2019.
- OLIVEIRA, F. L. et al. Mulches for yacon cultivation. *Horticultura Brasileira*, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 389-394, set. 2018. FapUNIFESP (SciELO).
- PEDROSA, J. L. F. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*), propagation from rhizophores with different numbers of buds. *Revista De La Facultad De Ciencias Agrarias UNCuyo*, v. 52, n. 2, p. 52-63, 2020a.
- PEDROSA, J.L.F et al. Yacon potato propagation from herbaceous cuttings with different numbers of buds. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, v. 47, n. 1, p. 46-57, 2020b.
- QUARESMA, M. A. L. et al. Planting methods and depths for the yacon (*Smallanthus sonchifolius*) crop. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, v. 14, n. 2, p. 249-256, 2020.

- QUARESMA, M. A. L. et al. Planting recommendations for yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in lowland conditions. April 2021, [S.L.], n. 15042021, p. 564-569, 10 abr. 2021.
- RIBEIRO, D. M, et al. Effect of the consumption of yacon flour and energy-restricted diet on glycation markers, and association between these markers and factors linked to obesity in adults with excess body weight: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrition*, v. 91, p. 111395, 2021.
- SALES, R. A. et al. Base temperature, cycle duration, and thermal constant for yacon culture. *Acta Scientiarum. Agronomy*, [S.L.], v. 44, p. 315, 21 dez. 2021.
- SALES, R. A. et al. Calibration and validation of FAO-AquaCrop model to estimate the total biomass and yacon root yield. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, v. 13, n. 3, p. 123-128, 2020.
- SEMINARIO, J. et al. El yacon: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). Lima. 61 p. 2003.
- SILVA, D. et al. Physical and chemical characterization of yacon tuberous roots at different altitudes and planting times. *Horticultura Brasileira*, v. 36, p. 199-204, 2018.
- SILVA, D. M. N et al. Yacon production at different planting seasons and growing environments. *Bioscience Journal*, v. 35, n. 4, p. 992-1001, 2019.
- SILVA, D. M. N et al., Occurrence of insects causing injuries to the yacon crop. *Horticultura Brasileira*, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 394-397, set. 2015.
- SILVA, D. M. N. et al. A Physical and chemical characterization of yacon tuberous roots at different altitudes and planting times. *HORTICULTURA BRASILEIRA*, v. 36, p. 199-204, 2018.
- SILVA, D. M. N. et al. Growth and development of yacon in different periods of planting and growing regions. *ACTA SCIENTIARUM-AGRONOMY*, v. 40, p. 39442, 2018a.
- SOUSA, et al., Genetic divergence among white-type acai palm accessions based on morpho-agronomic characters. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, [S.L.], v. 52, n. 9, p. 751-760, set. 2017.

- SOUZA, D. H. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) peel as a promising peroxidase source for the treatment of phenolic wastewater. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 39, p. 102254, 2022.
- STETTER, M. G. et al. Analysis of phylogenetic relationships and genome size evolution of the *Amaranthus* genus using GBS indicates the ancestors of an ancient crop. *Molecular phylogenetics and evolution*, v. 109, p. 80-92, 2017.
- SVOBODOVÁ, E. et al. Genetic diversity of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) and its wild relatives as revealed by ISSR markers. *Biochemical systematics and ecology*, v. 50, p. 383-389, 2013.
- SVOBODOVÁ, E. et al. Genetic diversity of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) and its wild relatives as revealed by ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50: 383-389, 2013.
- TEIXEIRA, A. G. et al. Cultivo de yacón intercalado con *Coffea canéfora*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, v. 23, p. 17, 2020.
- TEIXEIRA, A.G. et al. Growth of yacon under artificial shading. *Horticultura Brasileira*, v. 39, p. 133-139, 2021.
- TEMSCH, E. M. et al. Reference standards for flow cytometric estimation of absolute nuclear DNA content in plants. *Cytometry Part A*, 2021.
- VALENTOVÁ, Kateřina et al. The biological and chemical variability of yacon. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 54, n. 4, p. 1347-1352, 2006.
- VARGAS, A. D. et al. Yacon development and production under different potassium fertilisation doses. February 2022, [S.L.], n. 16022022, p. 252-258, 2 fev. 2022. Southern Cross Publishing.
- VIEHMANNOVÁ, I. et al. In vitro induction of polyploidy in yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 97: 1, 21-25 2009.
- VIEHMANNOVÁ, Iva et al. In vitro induction of polyploidy in yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, v. 97, n. 1, p. 21-25, 2009.
- VOSS-FELS, K. et al. Q&A: Modern crop breeding for future food security. *BMC biology*, v. 17, n. 1, p. 1-7, 2019.

CAPÍTULO 1

Caracterização morfoagronômica e molecular de yacon cultivadas nos Estados da região Sudeste do Brasil

RESUMO

A yacon tem despertado atenção devido às propriedades nutracêuticas encontradas em suas folhas e raízes. O aumento no consumo dessa cultura, que está relacionado com os vários benefícios à saúde humana que ela apresenta, tem demandado a geração de conhecimentos em torno do seu cultivo. Uma dessas demandas é a caracterização morfoagronômica e molecular dos genótipos cultivados. Assim, diferentes genótipos da espécie foram coletados nos principais municípios de cultivo comercial da cultura nos estados da região Sudeste do Brasil. As características morfoagronômicas avaliadas como produção de flores, produtividade de raízes tuberosas, cor da folha, cor externa da raiz, cor interna da raiz, cor dos rizóforos e os marcadores moleculares Inter Sequence Simple Repeats (ISSR) forma importantes para para determinar a diversidade genética dos genótipos. A análise morfoagronômica revelou diferenças fenotípicas entre os genótipos estudados. No nível molecular um total 14 iniciadores ISSR, de 35 iniciadores selecionados apresentaram bandas nítidas com espectros claros e reprodutíveis. O tamanho dos fragmentos amplificados variou de 350 a 2000 pb. As distâncias genéticas entre as amostras variaram de 0,01 a 0,26. Foi gerado um dendrograma obtido pelo método UPGMA que possibilitou a separação dos genótipos em 4 grupos de indivíduos com relação próxima entre os membros. Com a presente pesquisa conclui-se que os genótipos estudados são geneticamente próximos e fenotipicamente variados, o que pode representar a presença de ecótipos.

Palavras-chave: Diversidade genética; Germoplasma.; Marcador molecular; *Smallanthus sonchifolius* [(Poepp. And Endl.) H. Robinson].

ABSTRACT

Yacon has attracted attention due to the nutraceutical properties found in its leaves and roots. The consumption increasing of this culture, which is related to the various benefits to human health, has shown that knowledge about its cultivation is essential., specifically about its morphoagronomic and molecular characterization of cultivated genotypes. Thus, a set of different genotypes were collected in the main municipalities of commercial cultivation in Southeast Brazil. The morphoagronomic characteristics evaluated such as flower production, tuberous root productivity, leaf color, external root color, internal root color, rhizophores color and molecular markers Inter Sequence Simple Repeats (ISSR) were important to determine genetic diversity of the genotypes. Morphoagronomic analysis revealed phenotypic differences between the studied genotypes. At the molecular level, a total of 14 ISSR primers out of 35 selected primers showed sharp bands with clear and reproducible spectra. The size of the amplified fragments varied from 350 to 2000 bp. Genetic distances between samples varied from 0.01 to 0.26. A dendrogram obtained by the UPGMA method was generated, and it separated the genotypes into 4 groups of individuals with close relationships between them. This work concludes that the genotypes studied are genetically close and phenotypically varied, which may represent the presence of ecotypes.

Keywords: Genetic diversity; Germplasm; Molecular marker; *Smallanthus sonchifolius* [(Poepp. And Endl.) H. Robinson];

INTRODUÇÃO

Smallanthus sonchifolius [(Poepp. And Endl.) H. Robinson] (Asteraceae), conhecida de maneira popular como “yacon”, é uma espécie sul-americana cultivada para obtenção de raízes tuberosas comestíveis, por mais de mil anos nas encostas dos Andes, do Equador ao noroeste da Argentina (Mercado et al 2014). Essas raízes estão sendo consideradas alimento funcional, devido à presença de probióticos, principalmente frutanos, como os frutooligossacarídeos (FOS) e inulina, além de outros compostos fenólicos conhecidos por promover benefícios à saúde humana (Marques et al., 2021). Essas características tem promovido um rápido aumento do interesse por essa cultura em todo o mundo, sobretudo devido a seu potencial para uso na agroindústria e na indústria farmacêutica (Pedrosa et al., 2020; Carvalho et al., 2021; Marques et al.,2021).

É uma espécie propagada vegetativamente (Seminario et al. 2003; Pedrosa et al., 2020), pois produz um número limitado de flores e conjuntos de sementes empobrecidos em quantidade, dificultando a reprodução convencional, assim como a aplicação de métodos de conservação, como coletas de sementes (Mansilla et al. 2010; Manrique et al. 2014; Vitali e al 2020). Apresenta origem aloploplóide, originada por cruzamentos complexos entre *S. macroscyphus* ($2n = 28$, $A = 7$) e *S. riparius* ($2n = 32$, $B = 8$). Isso explicaria a natureza octoplóide ($2n = 6A + 2B = 58$) e dodecaplóide ($2n = 9A + 3B = 87$) (Viehmannová, et al. 2009). Portanto, a origem híbrida da yacon, assim como sua natureza aloploplóide, também podem ser uma das causas da baixa produção de sementes e sua baixa viabilidade (Manrique et al. 2014).

A variabilidade da yacon foi mantida por pequenos agricultores *in situ* e parte desses recursos genéticos foram armazenados principalmente nos bancos de genes no Peru, Bolívia e Equador (Svobodová et al., 2013). No entanto, a planta vem sendo cultivada em outros países como Japão, República Tcheca, Nova Zelândia, Itália, Alemanha, Argentina, Peru e no Brasil (Ojansivu et al., 2011; Kamp et al., 2019; Pedrosa et al.,2020; Molina et al.,2021; Vargas et al., 2022; Rodríguez, et al.2022).

Onde a sua produção agrícola comercial leva a desafios como o enfrentamento de patógenos, adaptações climáticas, manutenção ou geração das características comerciais exigidas pelos diferentes mercados mundiais, principalmente tendo em vista os apontamentos de que genótipos da espécies cultivados em diferentes regiões apresentam similaridade genética (Svobodová et al., 2013; Lorenzoni et al., 2017; Žiarovská, Jana et al.2019).

Nessa perspectiva, devido à gama de características morfológicas e diferenças no seu número cromossômico, tais como $2n = 30, 32, 58, 87$ e 116 , estudos sobre a diversidade genética da yacon podem ser o caminho para se solucionar os desafios relacionados ao seu cultivo. Nos estudos da diversidade genética, o uso de marcadores moleculares tem trazido grandes contribuições para investigar a estrutura do genoma, caracterização de germoplasma, assim como, para definir combinações de cruzamento e identificação de cultivares (Adhikari et al., 2017).

A análise de diversidade genética baseada em marcadores moleculares também tem potencial para avaliar mudanças na diversidade genética ao longo do tempo e do espaço (Chen et al., 2020). Ou seja, o desenvolvimento dos marcadores moleculares revolucionou a compreensão da organização e evolução dos genomas das plantas e a detecção da variação genética em plantas, oferecendo uma oportunidade para compreender a base molecular de vários fenômenos biológicos (Adhikari et al., 2017).

A yacon é uma das espécies cultivadas com menos informações sobre seu genoma, possivelmente devido a sua recente exploração com caráter comercial (Lorenzoni et al., 2017). Žiarovská et al. (2019) relatam que existem apenas duas correspondências para yacons no National Center for Biotechnology Information (banco de dados de nucleotídeos do NCBI). Isso constitui um fator limitante para a escolha de marcadores baseados em DNA que contribuem efetivamente na diferenciação de clones individuais de yacon, uma vez que esses estudos avaliam os indivíduos ao nível do DNA, o que exclui a influência de fatores ambientais.

Alguns estudos já foram realizados com diferentes marcadores moleculares para o mapeamento da diversidade da espécie: AFLP - (Milella et al., 2005; Milella et al., 2011; Soto et al., 2019; Ovesná et al. 2018), RAPD - (Milella et al., 2011) e iPBS (Žiarovská et al., 2019). Há também os Inter Simple Sequence Repeats - ISSR, que são uma variante do ensaio de microssatélites e combinam as vantagens de outros tipos de marcadores, como AFLP, RAPD por serem altamente polimórficos, simples e fáceis de usar.

Outra vantagem deste marcador é o fato de não ser necessário ter um conhecimento prévio do genoma a ser estudado (Mosa et al., 2019; Vargas et al., 2020). Os únicos três estudos que utilizaram a técnica ISSR para avaliar a diferença genética na yacon (Svobodová et al., 2013; Viehmannova et al., 2014; Lorenzoni et al., 2017), relatam baixa variabilidade dentro do gênero, indicando a necessidade de mais pesquisas com

diferentes genótipos a fim de promover o aumento da variabilidade, o que minimizaria os efeitos adversos causados por fatores bióticos e abióticos.

Análise da variabilidade genética de uma espécie qualquer, baseada em características agronômicas morfológicas tem limites, uma vez que a maioria das mesmas podem ser afetadas por estágios de desenvolvimento da planta, assim como, por fatores ambientais. Embora o yacon seja uma cultura clonal, existe alguma variação morfológica e fisiológica. No entanto, essa variação pode refletir até certo ponto em suas características fenotípicas expressas nos ambientes contrastantes onde é cultivada, ao invés da variação genética (Milella et al. (2011).

As análises genéticas moleculares, por outro lado, independem do efeito do ambiente, são mais informativas e estão amplamente disponíveis para a caracterização de materiais genéticos, pois são realizadas com marcadores de DNA. A diversidade genética em feijoeiro tem sido estudada através da caracterização morfológica combinada com marcadores moleculares, sendo uma ferramenta complementar às avaliações morfológicas (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011).

Desta forma, aumentar o conhecimento sobre a variabilidade genética da espécie, pode contribuir para a seleção de genótipos apropriados para potenciais programas de melhoramento. Espera-se que tal informação reflita na renda dos agricultores, visto que a seleção e conhecimento genético e fenotípico dos genótipos cultivados pode exercer papel estratégico na produção e expansão de cultivos comerciais da cultura. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo realizar a caracterização morfoagronômica e genética entre populações de yacon cultivadas na região sudeste brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Sessenta e quatro genótipos de yacon foram coletados em diferentes municípios produtores nos estados da região Sudeste do Brasil (Figura 1, Tabela 1) e selecionados por seus diferentes traços morfológicos e produtivos (Tabela 3), importantes para a identificação de diferentes cultivares, com base em Milella et al. (2005) e Milella et al. (2011).

Os genótipos foram cultivados após a propagação vegetativa por meio de rizóforos (Pedrosa et al., 2021) em cinco fileiras espaçadas de 1,0 m entre linhas e 0,5 m entre

plantas e acompanhados durante dois anos consecutivos no município de Alegre- ES (20°45' S e 41°29' W, 113 m a. s. l.) caracterizada como uma microrregião tropical quente (baixada), com temperaturas mais elevadas (22°). A temperatura média mensal variou de 22°C a 26°C, e a precipitação atingiu 201,6 mm durante o experimento.

Tabela 1 Dados de passaporte de 64 genótipos yacon.

| Genótipo | Local de origem | Genótipo | Local de origem |
|----------|-------------------|----------|-------------------|
| 1 LB1 | (ES) ¹ | 33 DK3 | (ES) ² |
| 2 LB2 | (ES) ¹ | 34 DK4 | (ES) ² |
| 3 LB3 | (ES) ¹ | 35 DK5 | (ES) ² |
| 4 LB4 | (ES) ¹ | 36 RK1 | (ES) ² |
| 5 LB5 | (ES) ¹ | 37 RK2 | (ES) ² |
| 6 AS1 | (ES) ¹ | 38 RK3 | (ES) ² |
| 7 AS2 | (ES) ¹ | 39 RK4 | (ES) ² |
| 8 AS3 | (ES) ¹ | 40 RK5 | (ES) ² |
| 9 AS4 | (ES) ¹ | 41 MC1 | (ES) ² |
| 10 AS5 | (ES) ¹ | 42 MC2 | (ES) ² |
| 11 LS1 | (ES) ¹ | 43 MC3 | (ES) ² |
| 12 LS2 | (ES) ¹ | 44 MC4 | (ES) ² |
| 13 LS3 | (ES) ¹ | 45 MC5 | (ES) ² |
| 14 LS4 | (ES) ¹ | 46 DL1 | (ES) ² |
| 15 LS5 | (ES) ¹ | 47 DL2 | (ES) ² |
| 16 HS1 | (ES) ¹ | 48 DL3 | (ES) ² |
| 17 HS2 | (ES) ¹ | 49 DL4 | (ES) ² |
| 18 HS3 | (ES) ¹ | 50 DL5 | (ES) ² |
| 19 HS4 | (ES) ¹ | 51 NC1 | (ES) ² |
| 20 HS5 | (ES) ¹ | 52 NC2 | (ES) ² |
| 21 KZ1 | (ES) ¹ | 53 NC3 | (ES) ² |
| 22 KZ2 | (ES) ¹ | 54 NC4 | (ES) ² |
| 23 KZ3 | (ES) ¹ | 55 NC5 | (ES) ² |
| 24 KZ4 | (ES) ¹ | 56 RP1 | (ES) ² |
| 25 KZ5 | (ES) ¹ | 57 RP2 | (ES) ² |
| 26 LK1 | (ES) ¹ | 58 RP3 | (ES) ² |
| 27 LK2 | (ES) ¹ | 59 RP4 | (ES) ² |
| 28 LK3 | (ES) ¹ | 60 RP5 | (ES) ² |
| 29 LK4 | (ES) ¹ | 61 SP | (SP) ³ |
| 30 LK5 | (ES) ¹ | 62 RJ | (RJ) ⁴ |
| 31 DK1 | (ES) ² | 63 MGC | (MG) ⁵ |
| 32 DK2 | (ES) ² | 64 MGDM | (MG) ⁶ |

Santa Maria de Jetibá -ES¹/ Domingos Martins - ES²/ Piedade - SP³/ Teresópolis - RJ⁴/ Coimbra - MG⁵/Delfim Moreira-MG⁶

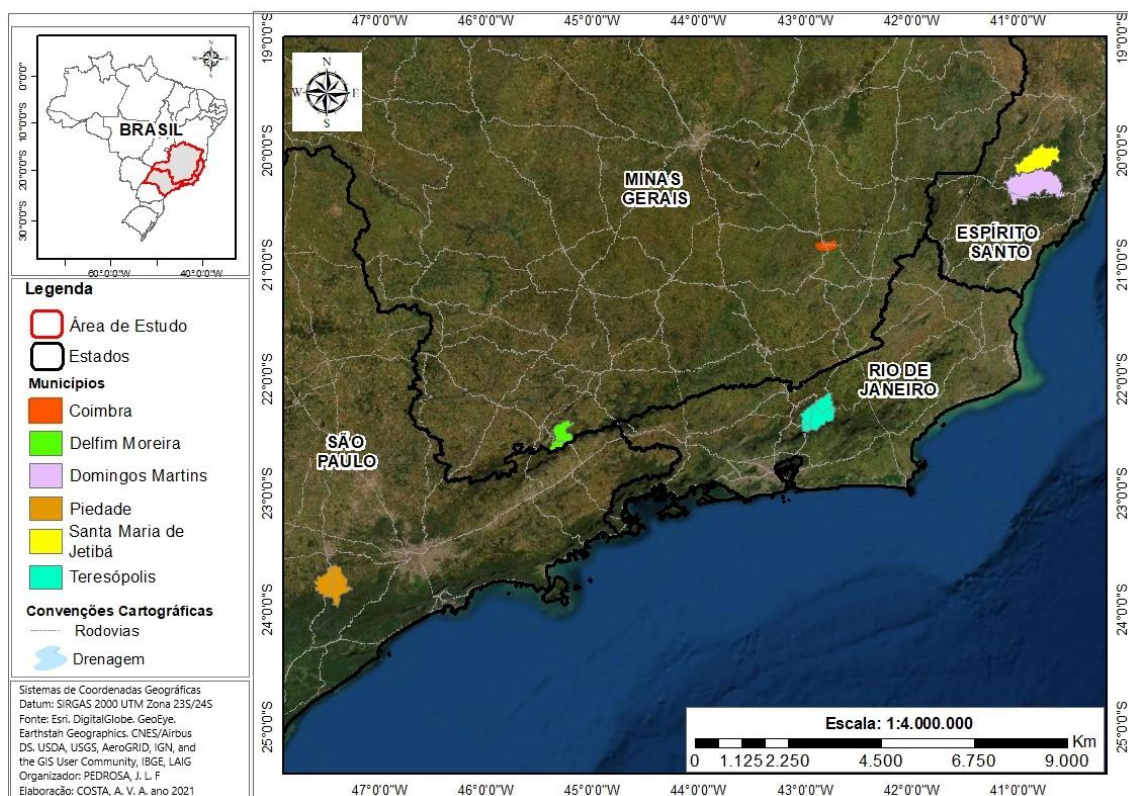


Figura 1 Mapa de localização das áreas de coletas dos genótipos de yacon, em diferentes municípios produtores nos Estados da Região Sudeste brasileira.

Caracterização morfoagronômica

Seis principais características baseadas em genótipos de yacon que são importantes para a identificação de diferentes cultivares foram selecionadas e observadas durante dois anos consecutivos. Essas características foram: produção de flores, produtividade de raízes tuberosas, cor da folha, cor externa da raiz, cor interna da raiz, cor dos rizóforos (Seminario et al. 2003; Svobodová et al., 2013). Todas as cores escalonadas de acordo com Milella et al., (2011;). A produtividade de yacon em $t\ ha^{-1}$ de raízes tuberosas foi dividida em abaixo da média, média e acima da média com base nos principais trabalhos que avaliaram a produção da cultura no país com média estimada de $44\ t\ ha^{-1}$ (Silva et al., 2015; Mendes et al., 2018; Silva et al., 2018; Silva et al., 2019; Quaresma et al., 2020; Pedrosa et al., 2020a; Pedrosa et al., 2020b; Teixeira, et al., 2020, Quaresma et al., 2021; Carvalho et al., 2021; Teixeira, et al., 2021; Vargas al., et al.,2022).

Coleta e armazenamento das amostras

Para as análises moleculares foram utilizadas folhas jovens e completamente expandidas de cada um dos genótipos. As folhas foram coletadas no período da manhã entre 06:00 e 8:00 h e acondicionadas em sacos de papel kraft, devidamente identificados, em seguida armazenados em saco plástico contendo sílica para minimizar o processo de oxidação. Posteriormente, o material foi transportado ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo. As amostras foram transferidas para sacos de alumínio e armazenadas em *freezer* -30 °C até o momento da extração de DNA.

Extração do DNA e análise com os marcadores ISSR

Para a extração do DNA utilizou-se o método de maceração com nitrogênio líquido com auxílio de almofariz e pistilo, empregando cerca de 300 mg de material de cada genótipo. O DNA obtido por meio do protocolo de Doyle e Doyle (1990) foi ressuspenso em 40 µL de água ultrapura e colocado em banho-maria a 37 °C por 30 minutos.

Após a extração, as amostras foram quantificadas por espectrofotometria no aparelho NanoDrop® (*Thermo Scientific* 2000C) para identificar a qualidade e concentração do DNA obtido. Para a determinação da pureza do DNA foi adotado o parâmetro da relação A260/A280, considerado ideal quando dentro do intervalo de 1,8 a 2,0. Razão inferior a 1,8 indica contaminação por proteínas, e superior a 2,0 indica contaminação com clorofórmio ou fenol (BARBOSA, 1998).

No início da análise, o conjunto de 35 iniciadores ISSR foram selecionados para gerar os perfis moleculares e todo o conjunto de iniciadores foram testados. 14 iniciadores ISSR reprodutíveis (polimórficos) desenvolvidos pela *University of British Columbia* (UBC) Vancouver, Canadá foram selecionados para o presente estudo nos diferentes genótipos de yacon (Tabela 2).

Tabela 2. Iniciadores ISSR (UBC), usados para análise de DNA de genótipos de yacon e suas respectivas sequências (5' - 3').

| <i>Primer UBC</i> | <i>Sequência (5' - 3')</i> |
|-------------------|-------------------------------|
| 1 _ 807 | AGA GAG AGA GAG AGA GT |
| 2 _ 808 | AGA GAG AGA GAG AGA GC |
| 3 _ 810 | GAG AGA GAG AGA GAG AT |
| 4 _ 811 | GAG AGA GAG AGA GAG AC |
| 5 _ 812 | GAG AGA GAG AGA GAG AA |
| 6 _ 813 | CTC TCT CTC TCT CTC TT |
| 7 _ 814 | CTC TCT CTC TCT CTC TA |
| 8 _ 815 | CTC TCT CTC TCT CTC TG |
| 9 _ 818 | CAC ACA CAC ACA CAC AG |
| 10 _ 824 | TCT CTC TCT CTC TCT CG |
| 11 _ 840 | GAG AGA GAG AGA GAG AYT |
| 12 _ 842 | GAG AGA GAG AGA GAG AYG |
| 13 _ 845 | CTC TCT CTC TCT CTC TRG |
| 14 _ 849 | GTG TGT GTG TGT GTG TYA TCC A |

* A = Adenina; T = Timina; C = Citosina; G = Guanina; H = (A, T ou C); R = (A ou G); V = (A, C ou G) e Y = (C ou T).

Nos ensaios de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foram utilizados os seguintes componentes da reação: tampão 1X (10 mmol.L⁻¹, Tris-HCl (pH 8.5) e 50 mmol.L⁻¹ de KCl), MgCl₂ (2,5 mmol.L⁻¹), dNTP (1 mmol.L⁻¹), primer (0,2 mmol.L⁻¹), 1 unidade de Taq DNA polimerase e 50 ng de DNA genômico, totalizando um volume de 20 µL por amostra. As amplificações foram realizadas nas seguintes condições: 94 °C por 5 min para a desnaturação, 35 ciclos de 45 segundos à 94 °C, 45 segundos à 52 °C e 90 segundos à 72 °C para o anelamento e 72 °C por 7 minutos para extensão. A reação foi realizada em termociclador *Applied Biosystem*, modelo Veriti®.

Os fragmentos amplificados foram separados por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose a 2%. As corridas eletroforéticas foram realizadas em TBE 1X com voltagem de 100 Volts e duração de aproximadamente 4 horas. Após o fim da corrida os géis foram fotografados sob luz UV em fotodocumentador (*ChemiDoc MP Imaging System* – Bio Rad®). O tamanho dos fragmentos amplificados foi estimado com marcador de peso molecular (Ladder) de 100 pares de base (pb).

Análise dos dados moleculares e morfológicos

Os dados da análise com os marcadores ISSR permitiram a formação da matriz binária formada por 1 (presença de bandas) e zero (ausência de bandas). A matriz foi utilizada para análise de comparação genética entre os genótipos por meio do índice de dissimilaridade baseado no complemento do coeficiente de Jaccard (1901) transformado por meio do complemento (1-c). Os agrupamentos genéticos presentes no dendrograma foram obtidos por meio da utilização do método de agrupamento de médias não ponderadas (UPGMA). O ponto de corte para o dendrograma obtido foi estabelecido pelo método proposto por Mojena (1977). A consistência dos agrupamentos foi estimada pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC), entre a matriz de dados originais e a gerada graficamente.

Os dados passaram pelas seguintes análises descritivas: número total de bandas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de bandas polimórficas (PBP) por iniciadores, variação de tamanho dos fragmentos gerados, em pares de bases (TPB) e conteúdo de informação polimórfica (PIC). O conteúdo de informação polimórfica (PIC), foi estimado segundo a metodologia de Roldan-ruiz et al. (2000).

$$PIC\ i = 2fi (1 - fi)$$

Em que f_i é a frequência da presença dos fragmentos amplificados e $1 - f_i$ é a frequência da ausência de fragmentos.

As análises para a obtenção dos agrupamentos foram realizadas com auxílio dos programas Genes versão 38 (CRUZ, 2016) e com o software de código aberto R. A obtenção dos valores de PIC foi possível com o auxílio do programa Popgene 32, versão 1.31 (YEH et al., 1999).

Foi feita uma análise de UPGMA dos dados morfológicos utilizando a distância de Gower.

RESULTADOS

A caracterização morfoagronômica apontou algumas diferenças entre os genótipos notando-se que em algumas características não houve variação, como a cor de casca das raízes (externa), onde a maioria era creme, com exceção do material com origem em Delfim Moreira – MG que apresentou cor roxa. A cor da folha era verde na maioria dos genótipos, com exceção do material com origem em Delfim Moreira – MG e Santa Maria de J.- ES, que apresentaram cor verde em tom mais escuro de acordo com escala de cores utilizada por Milella et al. (2011). Cabe ressaltar que a presença do florescimento apenas não ocorreu no genótipo de Santa Maria de J.- ES e que todos os genótipos apresentaram rizóforos de cor arroxeada (Tabela 3).

Algumas características apresentaram uma variação maior, como a cor da polpa das raízes (interna), onde se propôs uma divisão em dois grupos, um com os genótipos de cor alaranjada, que incluem os genótipos de Piedade-SP, Coimbra- MG e Santa Maria de J.- ES. e o grupo dos de cor branco cristal, que incluem os genótipos de Delfim Moreira – MG, Teresópolis- RJ e Domingos Martins – ES. Quanto à produtividade, também se propôs uma divisão em dois grupos, os com valores acima da média (44 t/ha^{-1}), que incluem os genótipos de Piedade-SP, Delfim Moreira – MG, Teresópolis- RJ e Domingos Martins – ES. E o grupo dos materiais dentro da média, que incluem genótipos de Coimbra- MG e Santa Maria de J.- ES (Tabela 3).

Tabela 3. Características morfoagronômicas dos genótipos de yacon estudados.

| Origem | Cor Externa da Raiz | Cor Interna da Raiz | Cor da Folha | Cor do Rizóforo | Produção de Flores | Produtividade (t ha^{-1}) ° |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|--------------|-----------------|--------------------|--|
| Piedade-SP | Creme | Laranja | Verde | Roxo | Sim | Acima da média |
| Delfim Moreira – MG | Roxo | Branco cristal | Verde escuro | Roxo | Sim | Acima da média |
| Coimbra- MG | Creme | Laranja | Verde | Roxo | Sim | Média* |
| Teresópolis- RJ | Creme | Branco Cristal | Verde | Roxo | Sim | Acima da média |
| Santa Maria de J.- ES | Creme | Laranja | Verde escuro | Roxo | Não | Média* |
| Domingos Martins – ES ² | Creme | Branco cristal | Verde | Roxo | Sim | Acima da média |

*Produtividade em raízes tuberosas de yacon com média de 44 t ha^{-1} .

A cor interna das raízes tuberosas apresentou 50 % dos genótipos avaliados apresentaram raízes tuberosas de coloração laranja e 50 % de coloração branco cristal já em relação a parte externa das raízes 83 % genótipos avaliados demonstraram coloração creme e 17 % coloração roxa. Em relação aos rizóforos, importante parte propagativa da planta, não foram encontradas diferenças entre a coloração nos diferentes genótipos em estudo, que apresentaram em sua totalidade a cor roxo (Tabela 3).

A cor das folhas com seis meses de cultivo apresentou variação de verde (Piedade - SP/ Coimbra- MG/ Domingos Martins – ES) a verde escuro (Delfim Moreira – MG/ Santa Maria de J.- ES) (Tabela 3). A coloração predominante nesta etapa de cultivo foi a verde, que representou a percentagem de 67 % das plantas cultivadas. Em relação a produção de flores apenas os materiais de Santa Maria de Jequitibá - (ES) não foram capazes de produzir flores, o que representou 17 % dos genótipos estudados (Tabela 3). A produtividade de raízes tuberosas variou dentro da média para os genótipos oriundos de Coimbra - (MG) e Santa Maria de J.-(ES), que representaram 33% das plantas cultivadas. Os demais materiais estudados apresentaram produção acima da média (44 t ha⁻¹), representando 67 % das plantas estudadas.

Nesse contexto, de acordo com a análises de agrupamento Figura 2 os dados morfológicos revelam que existem três grupos distintos de genótipos Delfim Moreira- MG/, Piedade – SP e Coimbra – MG.

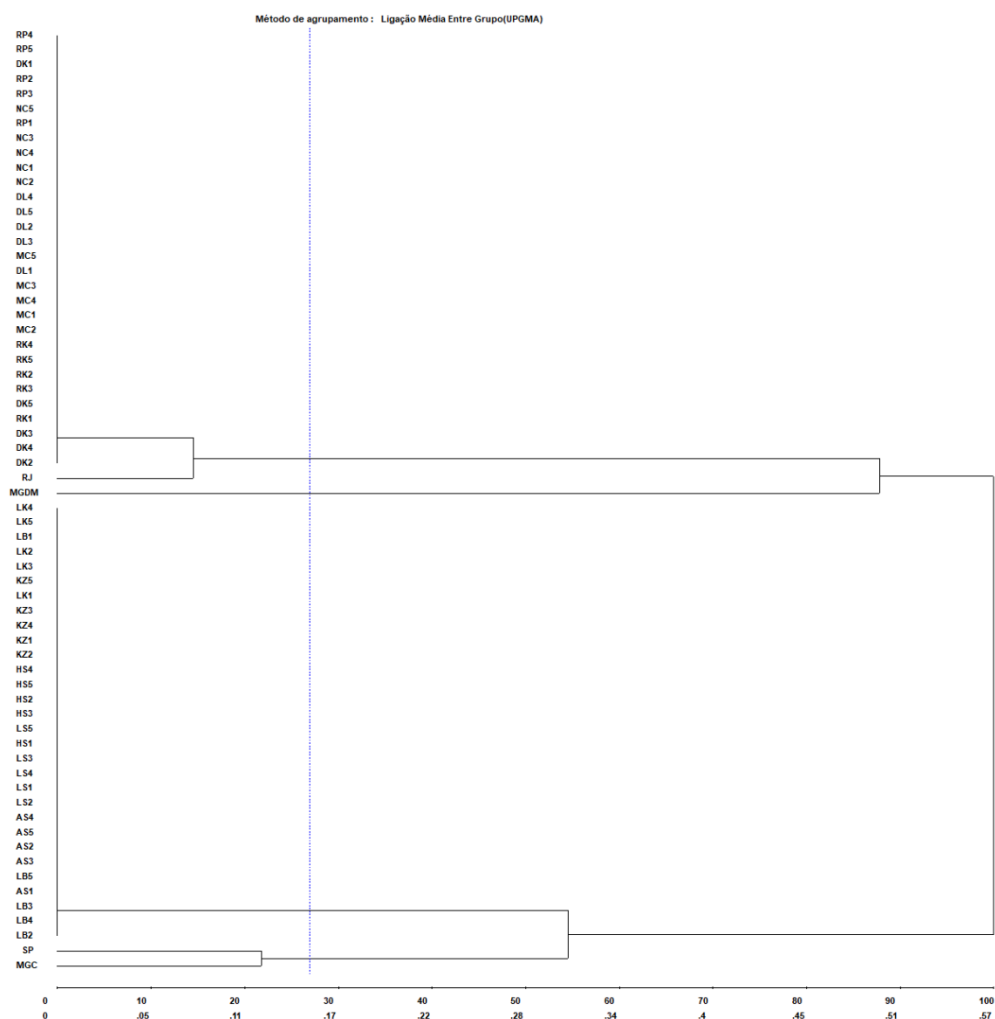


Figura 2 Análise de agrupamento pelo método UPGMA usando a distância de Gower de dados qualitativos morfológicos.

A análise de diversidade dos 64 genótipos de yacon foi realizada usando o conjunto de 35 iniciadores ISSR. Com base nos critérios de detecção de maior polimorfismo, bandas com maior clareza e fácil visualização foram selecionados 14 iniciadores dos 35 testados (Tabela 4).

Esses 14 iniciadores ISSR produziram um número total de bandas (NTB) que variou de 1 a 10 entre os iniciadores analisados. Ao todo amplificaram 82 fragmentos nos 14 iniciadores selecionados, dos quais 43 (53,44 %) foram polimórficos. O maior número de bandas polimórficas foi produzido por UBC811 (09 bandas polimórficas), seguido por UBC 840 (08 bandas polimórficas). A média de porcentagem polimórfica entre os marcadores foi de 49,69%. O tamanho dos fragmentos variou de 350 a 2000 pares de bases (pb). O PIC variou entre os genótipos de 0,01 a 0,26 com média de 0,09 com variação de resultado entre mediano e pouco informativo (Tabela 4).

Tabela 4. Descrição dos iniciadores ISSR selecionados para os 64 genótipos de *yacon*.

| <i>Primer</i> UBC | NTB | NBP | PBP (%) | TPB (máx-min.) | PIC |
|-------------------|-----------|-----------|--------------|----------------|------|
| 1_807 | 7 | 1 | 14,29 | 1050 - 710 | 0,01 |
| 2_808 | 4 | 2 | 50,00 | 1100 - 600 | 0,02 |
| 3_810 | 8 | 2 | 25,00 | 1500 - 750 | 0,02 |
| 4_811 | 9 | 9 | 100,00 | 1000 - 650 | 0,10 |
| 5_812 | 9 | 4 | 44,44 | 1100 - 750 | 0,14 |
| 6_813 | 6 | 2 | 33,33 | 1100 - 780 | 0,02 |
| 7_814 | 5 | 1 | 20,00 | 1800 - 860 | 0,03 |
| 8_815 | 4 | 2 | 50,00 | 1000 - 600 | 0,14 |
| 9_818 | 3 | 3 | 100,00 | 950 - 450 | 0,26 |
| 10_824 | 4 | 2 | 50,00 | 930 - 350 | 0,12 |
| 11_840 | 10 | 8 | 80,00 | 1000 - 350 | 0,19 |
| 12_842 | 7 | 2 | 28,57 | 1000 - 350 | 0,01 |
| 13_845 | 5 | 5 | 100,00 | 2000 - 500 | 0,18 |
| 14_849 | 1 | 0 | 0,00 | 700 | 0,00 |
| MÉDIA | - | - | 49,69 | - | - |
| TOTAL | 82 | 43 | - | - | |

Nº total de bandas amplificadas (NTB) por *primer* ISSR, nº de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de bandas polimórficas (PBP), variação de tamanho dos fragmentos gerados em pares de bases (TPB) estabelecido com base em marcador de 100pb e conteúdo de informação polimórfica (PIC).

As distâncias gênicas observadas pela análise de agrupamento, pelo método UPGMA, possibilitaram a separação dos genótipos em quatro grupos: G1 (cor azul no dendrograma) com apenas um genótipo (identidade 26, oriundo de Santa Maria de J.-ES), G2 (lilás) alocou cinco genótipos (com diferentes identidades: 3 Santa Maria de Jetibá ES, 61 Piedade – SP, 62 Teresópolis-RJ, 63 Coimbra- MG, 64 Delfim Moreira - MG, já G3 (vermelho) foi com composto por quarenta e seis genótipos da espécie (identidades 2,4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 17, 18, 20,23, 25, 27, 28, 30 oriundos de Santa Maria de Jetibá-ES e as identidades, 29, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42,43, 44, 46, 47, 48, 49,50,51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 oriundos de Domingos Martins - ES e o G4 (verde) continha os demais genótipos 1, 10, 11, 15, 16, 19, 21, 22, 24 de Santa Maria de Jetibá-ES e 33, 41, 45 Domingos Martins - ES (Figura 3). A maior distância genética observada foi de 0,29. O ponto de corte realizado na distância genética foi de 0,21 (72,19%) e a correlação cofenética para os grupos formados foi de 86,70%. Duplicatas de genótipos considerados iguais após a análise com 14 marcadores ISSR foram: 30 e 60; 28 e 5; 56 e 57.

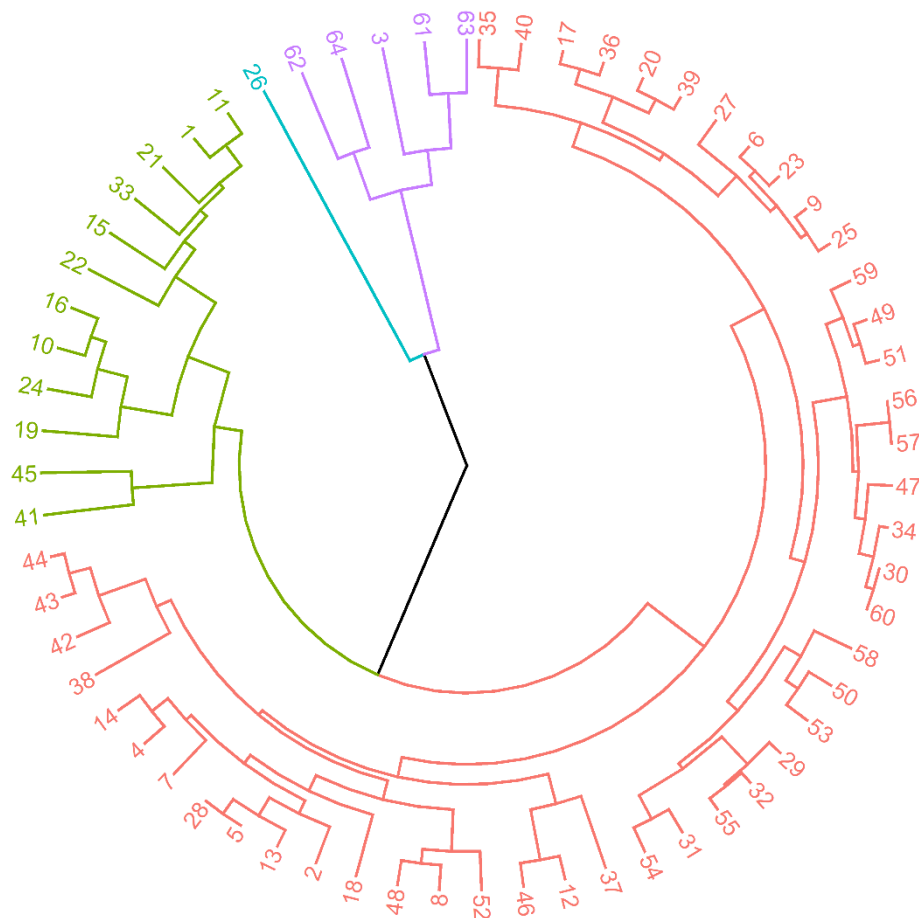


Figura 3 Dendrograma obtido pelo método UPGMA, representando a dissimilaridade genética entre 64 indivíduos de yacon. As diferentes cores representam a distâncias genéticas entre os quatro grupos: G1 (azul) com apenas um genótipo, G2 (lilás) cinco genótipos, G3(vermelho) quarenta e seis, G4 (verde) com doze genótipos da espécie.

DISCUSSÃO

As diferenças encontradas relacionadas as características morfológicas podem fornecer informações básicas para triagem preliminar dos genótipos (Constantino et al., 2020).). Indivíduos geneticamente diferentes podem desenvolvem-se de modo diferente no mesmo ambiente, mas também indivíduos geneticamente idênticos se desenvolvem de forma desigual em ambientes diferentes (Ramalho et al., 2021).

Ao avaliarem genótipos de yacon que apresentaram baixa diversidade genética, cultivados na república Checa em condições de campo Svobodová et al., (2013), corroboram com as diferenças encontradas em relação as características morfológicas como a cor da folha, produção de folhas, cor interna e externa da raiz tuberosa.

Embora os parâmetros morfológicos possam, em certa medida, ser utilizados para delimitar e classificar os genótipos (Ibirinde et al., 2019), eles apresentam limitações de sujeição à influência ambiental visto que na expressão de qualquer caráter é uma ação conjunta do genótipo e do ambiente, isto é: Fenótipo (F) = Genótipo (G) + Ambiente (A) (Animasaun, et al. 2021).

Com relação a produção de raízes tuberosas, nenhum material apresentou valores abaixo da média de 44 t/ha⁻¹ proposta a partir da estimativa dos principais trabalhos em que avaliaram a produção da cultura no Brasil (Silva et al., 2015; Oliveira et al., 2018; Mendes et al., 2018; Silva et al., 2018; Silva et al., 2019; Quaresma et al., 2020; Pedrosa et al., 2020a; Pedrosa et al., 2020b; Teixeira, et al., 2020, Quaresma et al., 2021; Sales et al.2021; Carvalho et al., 2021; Teixeira et al., 2021; Vargas et al.,2022; Sales et al.2022).

O que é uma característica interessante, que denota resposta de capacidade produtiva considerável da planta, indicando possibilidade de cultivo da espécie em ambiente tropical fora dos Andes, independente do genótipo utilizado. Além disso, é importante salientar que a diferença entre as produtividades acima da média sugerem que pode ocorrer variação de produtividade de acordo com o material utilizado, ou seja ecotipos diferentes, o que corroboraria com Silva et al. (2018) e Silva et al. (2019) ao sugerirem que a espécie pode apresentar diferentes resultados produtivos de acordo com as condições de cultivo e materiais usados.

Avaliar os caracteres morfológicos e agronômicos em yacon para a caracterização dos genótipos, apesar do baixo custo e a facilidade de serem detectados e quantificados, além de apresentarem alta herdabilidade, também podem sofrer influência ambiental. Assim, o uso isolado de caracteres morfológicos para agrupamento pode resultar em possíveis inconsistência e, por isso, uso da técnica de marcadores moleculares, por meio de genes expressos ou segmentos específicos de DNA, possibilita complementar a caracterização dos fenótipos.

O uso dos marcadores ISSR na presente pesquisa foram eficientes na identificação de polimorfismos entre os indivíduos de yacon dos diferentes municípios da região sudeste brasileira avaliados, pois podem medir polimorfismo suficiente e detectar variações genéticas de alta similaridade. Resultado este que pode ter apresentado influencia, ao levar em consideração o fato de que o yacon ser uma planta estritamente propagada de forma vegetativa (assexuada), que apresenta dificuldade na obtenção de sementes viáveis, devido a fatores como problemas durante a meiose (devido à sua

possível origem híbrida), e como consequência a predominância utilização da a propagação assexuada (Manrique et al. 2014).

Este tipo de procedimento pode resultar genótipos geneticamente idênticos. Portanto, o uso de marcadores moleculares, neste caso, tem a vantagem de sublinhar a variabilidade genética em um nível mais detalhado entre as populações cultivadas. Em estudo anterior, Svobodová et al., (2013), relatam 97,4% de polimorfismo usando marcadores ISSR para conjunto de 29 genótipos da yacon, e três espécie filogeneticamente próximas, mas considerando apenas os clones de yacon, a porcentagem de polimorfismo foi de 80,3%.

No entanto, de acordo com os autores, a alta porcentagem de bandas polimórficas provavelmente se deve ao envolvimento de espécies silvestres. Teoria essa, que corroboram com os resultados de 49,7% em porcentagem de bandas polimórficas no presente estudo, assim como, polimorfismo de 39,6% relatado por Lorenzoni et al. (2017), sem o envolvimento de espécies silvestres, utilizando o mesmo marcador.

A utilização do marcador ISSR, foi essencial para classificar a dissimilaridade genética dos diferentes indivíduos, visto que, a espécie apresenta limitadas informações sobre seu genoma. Até o momento, apenas duas correspondências para yacon podem ser encontradas no National Center for Biotechnology Information (banco de dados de nucleotídeos do NCBI). Ambas são as sequências do espaçador transcrito interno (ITS1) com o gene 5.8S rRNA e ITS2 (Žiarovská et al., 2013; Žiarovská et al., 2019). Portanto, a utilização desta classe de marcador neste estudo foi estratégica no sentido de exigir pequenas quantidades de DNA e não ser necessária a informação genômica prévia para o seu uso. Além dos benefícios de ser uma técnica simples, que permite detectar alto nível de polimorfismo, assim como, apresenta boa relação custo/benefício, fácil adaptabilidade e capacidade de direcionar sequências abundantes em todo o genoma (Santos et al., 2021).

Os valores de PBP (porcentagem de bandas polimórficas) observados foram superiores aos obtidos por Milella et al. (2011) que encontraram 28,7% de polimorfismo, baseado em marcadores RAPD e 23,4% - 37,7% em marcadores AFLP, em um grupo de cinco raças locais de yacon na República Checa. A eficiência de uma técnica de marcador molecular depende da quantidade de polimorfismo que pode ser detectado entre o conjunto de genótipos de plantas em estudo (Žiarovská et al. (2019). É importante destacar que a alta reprodutibilidade dos marcadores ISSR também pode estar relacionado ao uso de iniciadores mais longos e temperatura de anelamento mais alta do que aqueles usados para os marcadores RAPD e AFLP (Medhi, K. et al. 2014).

O maior valor de PIC (0,26) encontrado nos iniciadores UBC 818, serve para caracterizá-lo e considerar como o mais útil e informativo e para distinguir genótipos da yacon, já que é um parâmetro que permite inferir a qualidade do marcador. O PIC categoriza em três classes a informação de polimorfismo expressa por cada iniciadores, em que UBC 818 é considerado como de moderada informação $< 0,25$ de acordo com Chesnokov e Artemyeva (2015).

Os genótipos estudados foram separados de acordo com dendrograma obtido pelo método UPGMA em quatro grupos, este resultado traz a evidência que os genótipos utilizados na presente pesquisa apresentam indivíduos genotipicamente diferentes, mas apresentam alta afinidade genética e relação próxima entre os membros. Isso é de grande importância no manejo de recursos genéticos e no melhoramento de culturas, pois fornece informações básicas sobre similaridade e diversidade entre e dentro do germoplasma (Animasaun et al., 2017).

Portanto, a separação em grupos a partir dos dados moleculares não explicariam as características morfológicas em que se nota características fenotípicas diferentes entre os indivíduos do mesmo grupo genotípico. Esse fato pode demonstrar a formação de ecótipos, que são um conjunto de indivíduos de uma comunidade com um mesmo padrão genotípico de uma mesma espécie, mas que se diferem unicamente em alguns caracteres morfológicos e que se encontram adaptadas às condições locais e por isso são produtivos. Isso acontece com muita frequência com plantas que são propagadas vegetativamente (assexuada) conforme já descrito por Silva (2017) na cultura do inhame (*Dioscorea spp.*).

Diante disto, é importante salientar, que mesmo com a divisão dos genótipos em grupos, a alta similaridade genética entre os mesmos, sugere que esses genótipos, apesar de serem cultivados em diferentes localidades na região sudeste do Brasil, podem apresentar a mesma origem. Tomando como base o trabalho de Villhena et al. (2000) que aponta a introdução da espécie no Brasil por imigrantes japoneses, na região de Capão Bonito – SP, acredita-se que os materiais cultivados nas demais regiões brasileiras tenham sido obtidas a partir dessa única introdução. Essa hipótese é reforçada com a presença de um genótipo nesse estudo com origem de Piedade-SP, localidade na mesma região de Capão Bonito – SP. Esse fato é preocupante, pois mostra a fragilidade à fatores bióticos e abióticos que o cultivo de yacon apresenta, tendo em vista a uniformidade genética do material cultivado.

Portanto, ressalta-se a importância da introdução de novos genótipos contrastantes que possam promover heterozigosidade, ou seja, medida da variação genética entre as

populações de yacon cultivadas no Brasil visto o registro de ocorrência de pragas e doenças já realizado nesta condição de cultivo agrícola (Moraes et al., 2017; Camara et al., 2020; Oliveira et al., 2020).

CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares ISSR foram eficientes na identificação da diversidade de yacon, sendo que 14 iniciadores ISSR, de 35 iniciadores selecionados, apresentaram bandas nítidas com espectros claros e reprodutíveis.

O método de UPGMA dividiu os genótipos em quatro grupos, no entanto, com alta similaridade genética entre os mesmos.

Há características fenotípicas diferentes entre os indivíduos do mesmo grupo genotípico, o que sugere que teríamos a formação de ecótipos.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, S. et al. Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. *The Nucleus*, v. 60, n. 3, p. 283-297, 2017.
- ANIMASAUN D. A. et al. Genetic divergence of Nigerian and Indian pearl millet accessions based on agronomical and morphological traits. *Journal of Agricultural Sciences* 62: 115–131, 2017.
- BARBOSA, M. M. Quantificação e controle da qualidade do DNA genômico. In: MILACH, S. Marcadores moleculares em plantas. Porto Alegre, 1998. p.99-106.
- BHANDARI, H. R. et al. Assessment of genetic diversity in crop plants-an overview. *Adv. Plants Agric. Res*, v. 7, n. 3, p. 00255, 2017.
- BOTSTEIN, D. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal Human Genetic*, v. 32, p. 314–331. 1980.
- CAMARA, G. R. et al. First report of *Meloidogyne inornata* on *Smallanthus sonchifolius* in Brazil. *Plant. Dis*, v. 104, p. 595, 2020.
- CARVALHO, A. H. O. et al. Developing row spacing and planting density recommendations for yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in tropical highland conditions. *Chilean journal of agricultural research*, v. 81, n. 2, p. 237-245, 2021.
- CHEN, C. et al. Genetic diversity and population structure of black cottonwood (*Populus deltoides*) revealed using simple sequence repeat markers. *BMC genetics*, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2020.
- CHESNOKOV Y.V. et al. Artemyeva Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 50 (2015)
- CONSTANTINO, L. V. et al. Genetic variability in peppers accessions based on morphological, biochemical and molecular traits. *Bragantia*, v. 79, p. 443-446, 2020.
- CRUZ, C. D. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum. Agronomy*. v.38, p- 547-552, 2016.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12, p.13-15, 1990.
- Heiser C. 1963. Numeracion cromosomica de plantas ecuatorianas. *Ciencia y Naturaleza*. 6: 2-6.

- IBIRINDE D. O, et al. Assessment of seed and tuber production potential in varieties of *Sphenostylis stenocarpa* (Africa yam bean). *Agricultural Sciences* 10: 870–881, 2019.
- Ishiki K, eta al. Revision of chromosome number and karyotype of Yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Resumenes del Primer Taller Internacional sobre Recursos Fitogeneticos del Noroeste Argentino*. INTA, Salta, Argentina. 1997.
- JACCARD, P. Etude comparative de la distribution florale dans une porion des Alpes et des Jura. *Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles*, v.37, p. 547-579, 1901.
- KAMP, L. et al. Plant growth, tuber yield formation and costs of three different propagation methods of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products*, v. 132, p. 1-11, 2019.
- LEON J. Plantas alimenticias andinas. Lima: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas Zona Andina. 6:50-56p. 1964.
- LORENZONI, R. M. et al. Genetic diversity of yacon accessions using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, n. 2, p. 1-8, 2017.
- MANRIQUE, I. et al. Producción de semillas en yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)) mediante técnicas de polinización controladas. *Ecología aplicada*, v. 13, n. 2, p. 135-145, 2014.
- MANSILLA, R. Estudios de la biología reproductiva en cinco accesiones de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) Robinson. *Ecología aplicada*, v. 9, n. 2, p. 167-175, 2010.
- MARQUES, C. et al. Long-term storage of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) juice: Phytochemical profile, in vitro prebiotic potential and discriminant bioactive properties. *Food Bioscience*, v. 41, p. 100970, 2021.
- MEDHI, K. et al. High gene flow and genetic diversity in three economically important *Zanthoxylum* Spp. of Upper Brahmaputra Valley Zone of NE India using molecular markers. *Meta Gene*, v. 2, p. 706-721, 2014.
- MENDES, T. P. et al. Aluminum toxicity effect on the initial growth of yacon plant lets. *Revista Ceres*, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 120-126, mar. 2018. FapUNIFESP (SciELO).
- MERCADO, M.I. et al. Variability in sesquiterpene lactones from the leaves of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) accessions of different geographic origin. *Genetic resources and crop evolution*, v. 61, n. 6, p. 1209-1217, 2014.

- MILELLA, L. et al. Genetic diversity between yacon landraces from different countries based on random amplified polymorphic DNAs. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, v. 41, n. 2, p. 73, 2005.
- MILELLA, L. et al. Total phenolic content, RAPDs, AFLPs and morphological traits for the analysis of variability in *Smallanthus sonchifolius*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, v. 58, n. 4, p. 545-551, 2011.
- MOLINA, D. C. et al. Valorization of an Andean crop (yacon) through the production of a yeast cell-bound phytase. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 36, p. 102116, 2021.
- MORAES, W. B. et al. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Fusarium Root Rot on Yacon Potatoes in Brazil. *Plant Disease*, v. 101, n. 4, p. 629-629, 2017.
- OJANSIVU, I. et al. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, v. 22, n. 1, p. 40-46, 2011.
- OLIVEIRA, F. L. et al. Mulches for yacon cultivation. *Horticultura Brasileira*, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 389-394, set. 2018. FapUNIFESP (SciELO).
- OLIVEIRA, F. L. et al. Potentials Insect Pests of Yacon *Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson in Brazil. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 119-121, 2020. AI Publications.
- OVESNÁ, J. et al. Assessment of genetic diversity of *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) h. Robinson landraces by using AFLP markers. *Genetika*, v. 50, n. 3, p. 803-816, 2018.
- PEDROSA, J. L. F. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*), propagation from rhizophores with different numbers of buds. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, v. 52, n. 2, p. 52-63, 2020a.
- PEDROSA, J. L. F. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*), propagation from rhizophores with different numbers of buds. *Revista De La Facultad De Ciencias Agrarias UNCuyo*, v. 52, n. 2, p. 52-63, 2020a.
- PEDROSA, J.L.F et al. Yacon potato propagation from herbaceous cuttings with different numbers of buds. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, v. 47, n. 1, p. 46-57, 2020b.
- PEDROSA, J.L.F. et al. Yacon potato propagation from herbaceous cuttings with different numbers of buds. *International Journal of Agriculture and Natural Resources*, v. 47, n. 1, p. 46-57, 2020b.

- QUARESMA, M. A. L. et al. Planting methods and depths for the yacon (*Smallanthus sonchifolius*) crop. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, v. 14, n. 2, p. 249-256, 2020.
- QUARESMA, M. A. L. et al. Planting recommendations for yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in lowland conditions. April 2021, [S.L.], n. 15042021, p. 564-569, 10 abr. 2021.
- RAMALHO, M. A. P. et al. *Genética na Agropecuária*. 6. ed. Lavras: Ufla, 2021. 508 p.
- RODRÍGUEZ, L.S.Y. et al. Rendimiento agronómico de ocho cultivares de yacón [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.] del norte peruano. *Siembra*, v. 9, n. 1, 2022.
- ROLDÀN-RUIZ, I. et al. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular breeding*, v. 6, n. 2, p. 125-134, 2000.
- SILVA, D. et al. Physical and chemical characterization of yacon tuberous roots at different altitudes and planting times. *Horticultura Brasileira*, v. 36, p. 199-204, 2018.
- SILVA, D. M. N et al. Yacon production at different planting seasons and growing environments. *Bioscience Journal*, v. 35, n. 4, p. 992-1001, 2019.
- SILVA, D. M. N et al. Yacon production at different planting seasons and growing environments. *Bioscience Journal*, v. 35, n. 4, p. 992-1001, 2019.
- SILVA, L. R. G et al. Spatially structured morphological and molecular diversity among *Dioscorea cayenensis* and *D. rotundata* yam accessions. *Plant Genetic Resources*, v. 15, n. 4, p. 296-309, 2017.
- SOTO, J. et al. Genetic diversity of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in Peru. In: 15th Triennial of the Symposium of the International Society for Tropical Root Crops. 2009.
- SVOBODOVÁ, Eva et al. Genetic diversity of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) and its wild relatives as revealed by ISSR markers. *Biochemical systematics and ecology*, v. 50, p. 383-389, 2013
- TALLEDO D. E. M. 1996. Caracterización cariotípica de germoplasma RTA. *Laboratório de Biologia Celular y Genética. Memorias*.
- TEIXEIRA, A. G. et al. Cultivo de yacón intercalado con *Coffea canéfora*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, v. 23, p. 17, 2020.
- TEIXEIRA, A.G. et al. Growth of yacon under artificial shading. *Horticultura Brasileira*, v. 39, p. 133-139, 2021.

- VARGAS, A. D. et al. Physical and chemical characterization of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots cultivated with different doses of potassium fertilization. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, p. XXX-XXX, 2022.
- VARGAS, A. D. et al. Yacon development and production under different potassium fertilisation doses. February 2022, [S.L.], n. 16022022, p. 252-258, 2 fev. 2022. Southern Cross Publishing.
- VIEHMANNNOVA, Iva et al. Assessment of somaclonal variation in somatic embryo-derived plants of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson] using inter simple sequence repeat analysis and flow cytometry. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 17, n. 2, p. 102-106, 2014.
- VIEHMANNNOVÁ, I. et al. In vitro induction of polyploidy in yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, v. 97, n. 1, p. 21-25, 2009.
- VILHENA, S.M.C et al. O cultivo do yacon no Brasil. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 18, n. 1, p. 5-8, 2000.
- VITALI, M. S. et al. A revision of *Smallanthus* (Asteraceae, Millerieae), the “yacón” genus. *Phytotaxa*, v. 214, 2020.
- YEH, F. C. POPGENE (version 1.3. 1). Microsoft Window-Bases Freeware for Population Genetic Analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>, 1999.
- ŽIAROVSKÁ, J. et al. Genetic and chemical diversity among yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] accessions based on iPBS markers and metabolomic fingerprinting. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 141, p. 183-192, 2019.

CAPÍTULO 2

Utilização de técnicas citogenéticas e de citometria de fluxo para caracterização do genoma de yacon

RESUMO

A yacon é uma raiz tuberosa originária da região andina e cultivada em vários países. Apresenta propriedades nutracêuticas com resultados positivos na saúde humana, incluindo efeitos probióticos, antidiabéticos, antioxidantes e antimicrobianos. Diferentes números de cromossomos têm sido reportados para a espécie, tais como $2n = 30, 32, 58, 87$ e 116 . A maioria dos estudos em yacon focam no seu potencial como alimento funcional e medicinal. Apesar do impacto da diversidade genética na expressão das características e dos fenótipos, o genoma de yacon tem sido pouco investigado, sendo o número de cromossomos o único reportado acerca do cariótipo. Assim, a presente pesquisa teve como objetivos mensurar o tamanho do genoma nuclear, determinar o número de cromossomos e caracterizar o cariótipo de diferentes genótipos de yacon. Pela primeira vez é apresentado o kariograma e calculado o valor $2C$ nuclear de genótipos de yacon cultivados em ambiente tropical, fora da região andina. O cariótipo foi caracterizado pela ocorrência de 29 pares de cromossomos, treze submetacêntricos (1–5, 7 – 12, 14, 20) e dezesseis metacêntricos (6, 13, 15 –19, 21- 29) com seus tamanhos variando de 3,64 a 1,67 μm , e constrição secundária no par de cromossomos 21. Assim como, apresentou número cromossômico $2n = 58$, importante visto que, até o momento, os indivíduos de yacon cultivados em ambiente tropical apresentaram número cromossômico $2n = 32$. O conteúdo de DNA $2C$ médio encontrado correspondeu a $2C = 6,39$ pg e corrobora com relatos anteriores da espécie que apresentam variação relativa $2C = 5,82$ a $6,12$ pg. O genoma $1C = 3.124,710$ Mpb observado foi considerado pequeno. Cromossomos prometáfásicos e metafásicos foram obtidos, livres de traços citoplasmáticos e sem sobreposições. A presente pesquisa contribuiu com dados sobre o conhecimento genético básico de yacon, relevante para sua conservação, evolução e diversificação, refletindo, conseqüentemente, na capacidade de cultivo agrícola fora das fronteiras andinas.

Palavras-chave: Asteraceae; Cariótipo; *Smallanthus sonchifolius*; Valor $2C$ nuclear.

ABSTRACT

Yacon is a tuberous root native from the Andean region and cultivated in several countries. It has nutraceutical properties with positive results in human health, including probiotic, antidiabetic, antioxidant, and antimicrobial effects. Different numbers of $2n$ chromosomes have been reported for the species, such as $2n = 30, 32, 58, 87,$ and 116 . Most studies on yacon focus on its potential as a functional and medicinal food. Despite the impact of genetic diversity on the traits and phenotypes expression, yacon genome has not been widely investigated, with the $2n$ chromosome number, the only one reported about the karyotype. Thus, this work aimed to measure the nuclear genome size, determine the number of chromosomes and describe the karyotype of different yacon genotypes. For the first time, the karyogram is presented and the $2C$ nuclear value of yacon genotypes cultivated in a tropical environment outside the Andean region is calculated. The yacon karyotype is characterized by 29 pairs of chromosomes, thirteen submetacentric (1–5, 7 – 12, 14, 20) and sixteen metacentric (6, 13, 1 –19, 21-29) with their sizes varying from 3.64 to $1.67 \mu\text{m}$, and secondary constriction in the pair of chromosomes 21. Likewise, it presented a chromosome number $2n = 58$, important since, until now, individuals of yacon cultivated in a tropical environment presented a chromosome number $2n = 32$. The $2C$ DNA content mean found corresponded to $2C = 6.39$ pg and corroborates with previous reports of the species with a relative variation from $2C = 5.82$ to 6.12 pg. The genome $1C = 3,124.710$ Mpb observed was considered small, which is an interesting characteristic in relation to plants with large genomes, as they can reach a much wider characteristic variation of interest, such as better adaptation to different growing conditions, for example. Prometaphase and metaphase chromosomes were obtained, free of cytoplasmic traces and without overlaps. The work contributed with data on the basic genetic knowledge of yacon, relevant for its conservation, evolution, and diversification, showing, consequently, the agricultural capacity to grow it outside the Andean borders.

Keywords: Asteraceae; Flow cytometry; *Smallanthus sonchifolius*; $2C$ nuclear value; Karyotype;

INTRODUÇÃO

A yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) é uma planta herbácea perene nativa dos Andes, mas que tem sido cultivada em ciclo anual (Gurung et al., 2018). O yacon faz parte dos cultivos andinos desde os tempos pré-colombianos, principalmente nas regiões com altitudes de 1800 até 2800 m (Szokalo et al., 2020). No entanto, a planta foi levada para fora da região andina e, atualmente, seu cultivo é registrado em diferentes países, como: Brasil, Japão, República Tcheca, Estados Unidos, Nova Zelândia, Itália e Alemanha (Ojansivu et al., 2011; Kamp et al., 2019). O interesse mundial na produção da yacon tem crescido, principalmente, pela indústria alimentícia e farmacêutica, por ser considerado um alimento funcional que apresenta em sua composição compostos que oferecem benefícios à saúde humana (Gusso et al., 2015; Silva et al., 2018).

Como complemento alimentar, o yacon contribui para prevenção e tratamento de doenças crônicas, como câncer de cólon, colesterol e obesidade (Caetano et al., 2016). Além disso, o yacon é rico em frutooligossacarídeos e compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante (Valentova et al., 2003; Oliveira et al., 2018) e efeito antidiabético (Leidi et al., 2018). O extrato de folhas secas de yacon tem uma variedade de atividades fitoquímicas, incluindo atividades antimicrobiana (Cruz et al., 2020), anti-inflamatória (Ambriz et al., 2016) e antioxidante (Cruz et al., 2019).

Todos esses benefícios do consumo do yacon têm contribuído para o aumento da procura comercial da planta e contribuído para o aumento da demanda pela sua produção agrícola para além de suas tradicionais áreas de cultivo na América Andina (Ueda et al., 2019). Esse cenário resulta em diferentes desafios adaptativos, pois, para atender a demanda atual, as plantas são cultivadas sob novas condições ambientais, com novos desafios de estresse biótico e abiótico. Portanto, o desenvolvimento e a seleção de genótipos adaptados tornam-se crucial. Para tanto, uma melhor compreensão do genoma do yacon é um pré-requisito (Singh et al., 2019; Wagner et al., 2019).

Estudos sugerem que o yacon seja um aloploiploide, originado por cruzamentos entre *Smallanthus macroscyphus* ($2n = 28$, com número básico $x = 7$) e *Smallanthus riparius* ($2n = 32$, com número básico $x = 8$) (Viehmannová et al., 2009; Mansilla et al., 2010). Esta origem explicaria a natureza do octoploide ($2n = 6A + 2B = 58$) e do decaploide ($2n = 9A + 3B = 87$). Apesar de ser uma cultura que é propagada de forma

vegetativa, o yacon pode exibir uma diversidade considerável no número de cromossomos (Grau & Rea, 1997). O relato mais recente para definição do número de cromossomos da espécie reporta indivíduos com $2n = 58$ (Bolívia), $2n = 87$ (Peru), $2n = 58$ e 116 (Equador), $2n = 30$ e 32 (Brasil/USA) (Svobodová et al., 2013).

No entanto, o conhecimento acerca do cariótipo de yacon refere-se basicamente a determinação do número cromossômico. Poucos estudos citogenéticos objetivaram descrever o seu perfil cromossômico utilizando a citogenética clássica (Fernández et al., 2000). Além disso, alguns números cromossômicos relatados para a espécie devem ser tratados com cautela, pois não apresentam metodologias citogenéticas, ou não citam referências que possam confirmar esses dados (Svobodová et al. 2013).

A caracterização do cariótipo gera informações abrangentes sobre o genoma de uma espécie, e é a base para aplicação de técnicas de bandeamento e de citogenética molecular. O número e a morfologia cromossômica são relevantes à citotaxonomia, podendo fornecer percepções sobre o nível de ploidia (euploidia) e disploidia (rearranjos cromossômicos numéricos e/ou estruturais) (Li et al., 2021). Dessa forma, a caracterização do cariótipo contribui para classificação de plantas e para compreensão das relações taxonômicas e evolutivas entre as espécies, assim como aos processos que levam à diversificação e especiação, ajudando na elucidação da origem e relações filogenéticas (Medeiros., et al. 2017).

Muitas espécies apresentam variação intraespecífica (citótipos) do número de cromossomos e também no nível de ploidia (Zonneveld., 2021). Como consequência, essas espécies também apresentam variação intraespecífica do conteúdo de DNA nuclear. Portanto, o valor C nuclear pode ser empregado para diagnosticar e mensurar as diferenças genômicas entre indivíduos de uma espécie. Dessa forma, o valor C nuclear, assim como os dados sobre o cariótipo, vem sendo incluído em estudos taxonômicos, evolutivos e filogenéticos, como também em programas de melhoramento.

O valor C nuclear é a quantidade total de DNA no núcleo mensurado em picogramas ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$) ou pares de megabases (Mbp, com $1 \text{ pg} = 978 \text{ Mbp}$) (Kreplak et al., 2019), que pode ser mensurado através da citometria de fluxo (Zwyrtková et al., 2020). Os valores C nuclear de yacon reportados variam de $1C = 2,905 - 3,06 \text{ pg}$ (Doležalová et al., 2004) e $1C = 2,980 - 3,005 \text{ pg}$ (Valentová et al., 2006). Em yacon não existem informações de investigações citogenéticas em materiais cultivados no Brasil até

o momento. Portanto, o mapeamento do número cromossômico em células somáticas e os valores C nuclear da espécie cultivada no país deve ser realizado para ampliar a caracterização cariotípica e investigações citotaxonômicas.

Sendo assim, esse estudo teve o objetivo de mensurar o conteúdo de DNA nuclear, determinar o número de cromossomos e caracterizar o cariótipo de diferentes genótipos cultivados de yacon.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

Foram coletados 44 genótipos de yacon da coleção *in vivo* do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo. Os germoplasmas foram coletados de propriedades rurais nos principais municípios produtores do Estado do Espírito Santo, Brasil: Santa Maria de Jetibá, Afonso Cláudio, Santa Teresa, Santa Leopoldina, Domingos Martins e Venda Nova do Imigrante.

Mudas de yacon foram produzidas por meio de propágulos obtidos a partir da divisão dos rizóforos (porção subterrânea do caule), sendo posteriormente cultivadas em vasos, preenchidos com substrato constituído de areia, solo e composto orgânico. Os vasos foram mantidos em ambiente de casa vegetação, com irrigação realizada em dias alternados para manutenção da umidade do substrato próxima da capacidade de campo. Após o crescimento das folhas jovens e do sistema radicular, selecionou-se aleatoriamente 20 plantas representativas para realização do mensuramento do conteúdo de DNA nuclear e caracterização do cariótipo.

Mensuramento do valor C nuclear

Os parâmetros da citometria de fluxo foram determinados para a amostra *S. sonchifolius* “yacon” e para as espécies padrão. Foram utilizados como referência os padrões internos *Pisum sativum* “ervilha” ($2C = 9,16$ pg) e *Solanum lycopersicum*

“tomate” (2C = 2,00 pg) (Praça-Fontes et al., 2011). Fragmentos foliares (2 cm²) de *S. sonchifolius* (amostra) e de um dos padrões internos foram dispostos em placas de Petri, e retalhados (Galbraith et al., 1983) em 500 µL de tampão de extração nuclear OTTO-I (0,1 M de ácido cítrico, 0,5% de Tween 20, 50 µg mL⁻¹ RNase), pH = 2,3 (Otto, 1990). Após 3 min, 500 µL do mesmo tampão foi adicionado, as suspensões filtradas em membranas de nylon de 30 µm para um microtubo de 2 µL, e centrifugadas a 100 ×g por 5 min. O sobrenadante foi descartado, e o pellet ressuspensionado e incubado por 10 min em 100 µL de OTTO-I (Clarindo e Carvalho, 2009; Silva et al., 2018). As suspensões foram coradas em 1,5 µL de OTTO-II (Otto, 1990) contendo 75 µM de iodeto de propídio (Sigma[®]), 2,0 mM de ditioneitol (Sigma[®]) e 50 µg µL⁻¹ de RNase, por 30 min no escuro e filtradas em membranas de nylon de 20 µm (Praça-Fontes et al., 2011). As suspensões nucleares foram analisadas em citômetro de fluxo BD Accuri C6 (Accuri cytometers, Belgium) equipado com laser 488 nm de 50 mW, dois detectores de dispersão de luz (dispersão direta – FSC, e dispersão lateral – SSC) e quatro detectores de fluorescência. O tamanho médio do valor C nuclear das amostras foi mensurado em pg por meio da análise dos histogramas com ferramentas do programa FlowMax[®] (Partec[®]).

Caracterização do cariótipo

Raízes foram retiradas de plantas de yacon cultivadas em vasos, lavadas em água corrente e incubadas em solução contendo 3, 4 ou 5 µM do agente antitubulínico amiprofos-metil (Sigma[®]) suplementada com 0,3% de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma[®]) por 4, 6, 8, 12, 14, 18 e 24 h em ambiente refrigerado a 5°C. Em seguida as raízes foram seccionadas em cerca de 1,5 cm e lavadas em água destilada três vezes por 10 min, fixados em uma solução de metanol: ácido acético (3:1) com três trocas da solução, e armazenados a -20°C.

Após as três lavagens em água destilada, a maceração enzimática dos meristemas radiculares foi realizada por 2 h a 36°C. As raízes foram maceradas em pool enzimático (4% de celulose Onozuka R10 Yakult + 2,0% de celulose Sigma[®] C1184 + 0,4% de hemicelulase Sigma[®] H077 + 0,5% de macerozime Onozuka R10 Yakult) diluído em tampão citrato (10 mM de ácido cítrico + 10 mM de citrato de sódio tribásico, pH = 4,8) na proporção de 15:100 (pool de enzimas + tampão), e suplementado com 1% de

pectinase Sigma[®]. Em seguida, as raízes foram lavadas em dH₂O, fixadas em metanol: ácido acético (3:1) e armazenadas a -20°C (Silva et al., 2018).

As lâminas foram preparadas usando as técnicas de dissociação celular e secagem ao ar, e coradas com uma solução de Giemsa 5% (Merck[®]). As lâminas foram analisadas usando um fotomicroscópio trinocular Olympus TM BX-60. Prometáfases, metáfases e anáfases foram capturadas usando uma câmera de vídeo digital CCD de 12 bits (Olympus[®] DP71), acoplada ao fotomicroscópio. Além do número cromossômico, a morfometria dos cromossomos de yacon foi caracterizada de acordo com o tamanho do braço (µm) conforme descrito por Levan et al. (1964) e revisado por Guerra (1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os histogramas apresentaram picos G₀/G₁ das amostras e dos padrões exibindo coeficientes de variação abaixo de 5%, indicando que as suspensões continham núcleos intactos, isolados e estequiometricamente corados. O valor médio do conteúdo de DNA nuclear 2C de yacon foi de 6,390 ± 0,0017 pg, IC = 3,195 equivalente a IC = 3.124,710 Mpb. Com base no valor IC, o genoma de yacon pode ser considerado pequeno, conforme a lista de valores IC de DNA (2,8 pg < 2C ≤ 7,0 pg) proposta para angiospermas (Pellicer e Leitch, 2020).

Esse resultado é interessante no sentido que informações sobre o tamanho do genoma, podem ter impacto em muitas escalas, desde influência na dinâmica do gene e do genoma (Dodsworth et al., 2015) até desempenhar um papel no nível da planta inteira, influenciando, por exemplo, as estratégias de crescimento da planta, composição da comunidade vegetal e trajetórias evolutivas (Suda et al., 2015).

No entanto, é importante salientar que o papel de genomas pequenos, em relação aos grandes, em plantas, ainda é pouco compreendido (Pellicer et al., 2018), apesar de que se acredita que genomas pequenos, como é o caso yacon, podem apresentar vantagens, como adotar estratégias de ciclo de vida, característica importante para espécies como yacon que encontra-se em processo de expansão agrícola com diferentes desafios adaptativo. Esses apontamentos corroboram e podem estar relacionados aos resultados de Carvalho et al. (2021) que observaram na yacon capacidade de se recuperar após estresse térmico e hídrico. Isso denota uma resposta adaptativa considerável da

planta, indicando a sua busca a se adequar, crescer e produzir, sob condições tropicais fora dos andes.

Quanto ao valor $2C$ observado ($6,390 \pm 0,0017$ pg), este foi um pouco acima dos reportados por Doležalová et al. (2004), que variou de 5,81 - 6,12 pg e por Valentová et al. (2006) 5,96 - 6,01 pg. Cabe ressaltar que neste estudo foram utilizados dois padrões internos *Pisum sativum* ($2C = 9,16$ pg) e *Solanum lycopersicum* ($2C = 2,00$ pg), considerados adequados para análise citometria de fluxo (Praça-Fontes et al., 2011; Doležel et al., 2021), pois possuem tamanho de genoma próximo e semelhante ao da espécie-alvo, mas não idêntico a yacon. Assim, as possíveis diferenças de conteúdo de DNA nuclear entre os estudos podem estar relacionadas a possíveis variações interespecíficas, importante fenômeno durante a especiação de plantas, fato este que pode preceder diferenças fenotípicas na planta (Huang, 2016; Fernández et al., 2017; Motsa et al., 2018 Žiarovská et al., 2019).

O tratamento das raízes de yacon por 18 h em 3 μ M amiprofos-metil + 0,3% de dimetilsulfóxido em ambiente refrigerado a 5°C, resultou em maior índice metafásico. Cromossomos com centrômeros e telômeros bem definidos e preservados, e sem sobreposições, foram obtidos como resultado do uso das técnicas de dissociação celular dos meristemas e secagem ao ar (Figura 1C). As demais combinações de tratamentos empregados, principalmente quando as raízes foram retiradas das plantas e mantidas em ambiente não refrigerado (temperatura ambiente), resultaram em menor número de metáfases. Além disso, os cromossomos apresentaram elevado nível de compactação da cromatina e geralmente maior número de cromossomos sobrepostos.

A partir dos cariótipos (Figura 1), os cromossomos foram caracterizados, e os cariogramas montados pela primeira vez para yacon (Figura 2). A espécie possui $2n = 58$ cromossomos, resultado que corrobora com o número de cromossomos $2n$ reportado por Ishiki et al. (1997). Os autores sugeriram que yacon é uma espécie aloploide originária do cruzamento de duas espécies selvagens relacionadas (*S. macroscyphus* e *S. riparius*). Esta hipótese é consistente com os níveis de ploidia e o número de cromossomos relatados em diferentes germoplasmas da yacon incluindo os resultados obtidos na presente investigação (Fernández et al., 2000; Viehmannová et al., 2009).

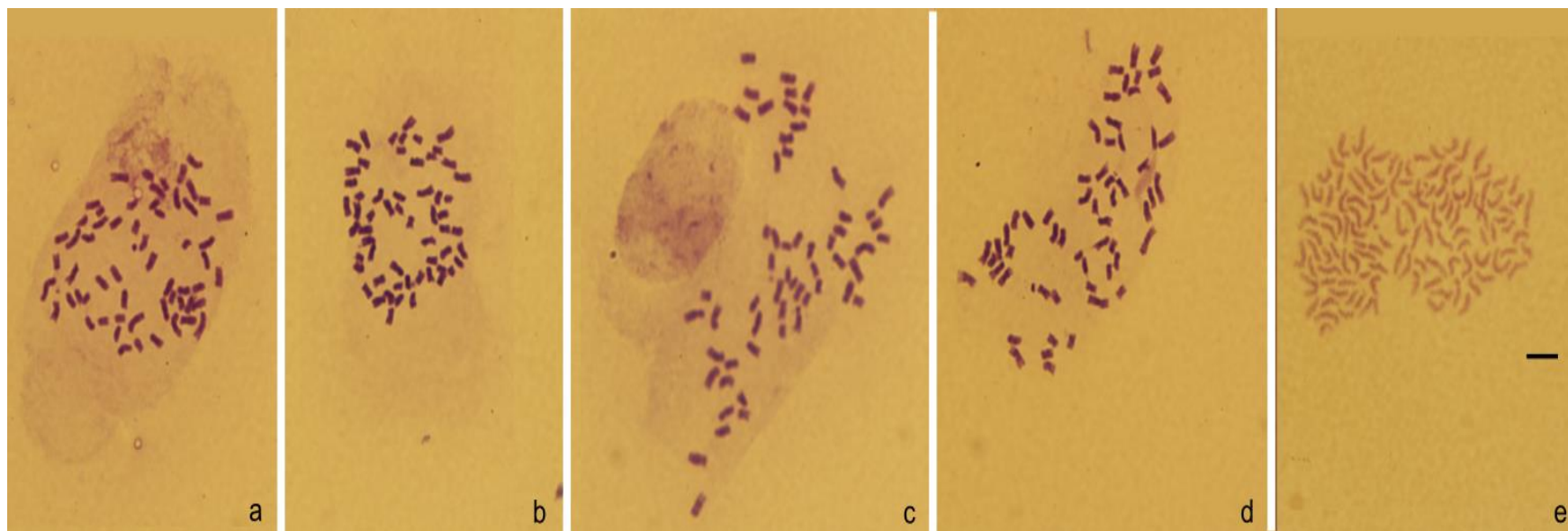


Figura 1. Cariótipos de yacon com cromossomos em diferentes níveis de compactação da cromatina apresentando centrômeros e telômeros bem definidos. Os cromossomos foram obtidos de meristemas apicais de raízes de yacon, tratados com 3 μM amiprofos-metil + 0,3% de

dimetilsulfóxido por 18 h a 5°C. (a – d) Metáfases exibindo $2n = 58$ cromossomos. (e) anáfase com $2n = 116$ cromossomos. Barra = 5 μm

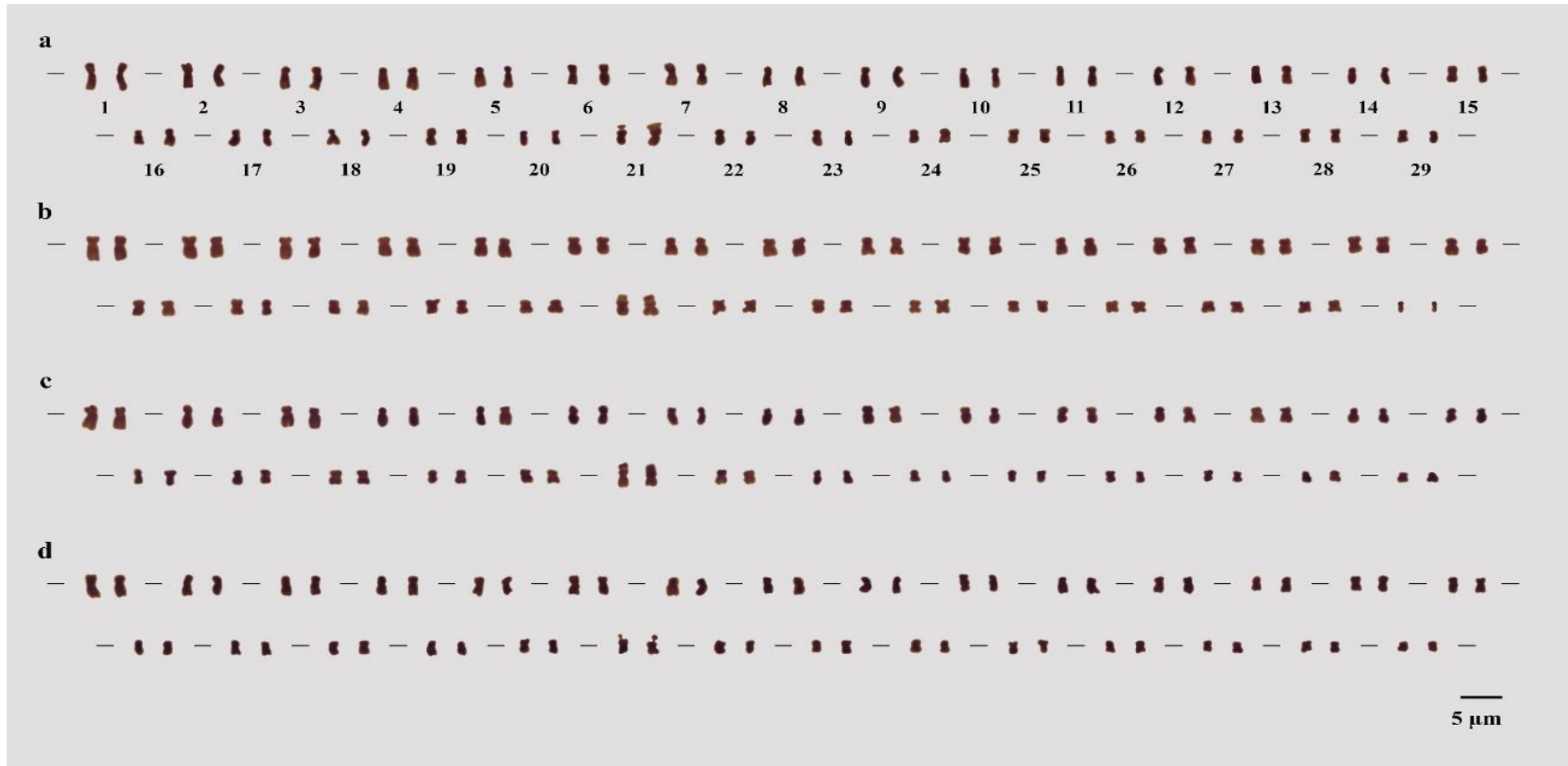


Figura 2. Cariogramas de yacon montados a partir de cromossomos metafásicos, mostrando constrições primárias bem definidas. Os cariogramas possuem $2n = 58$, com 29 pares de cromossomos, consistindo de treze pares de cromossomos submetacêntricos e dezesseis metacêntricos. Note a constrição secundária no braço curto do cromossomo 21.

Presumivelmente, acredita-se que yacon seja aloploiploide composto por dois genomas: *S. macroscyphus* ($2n = 28, A=7$) \times *S. riparius* ($2n = 32 B = 8$) conforme sugerido por Ishiki et al. (1997). Acredita-se que a origem evolutiva alooctaploide da espécie *S. sonchifolius* “yacon” ($2n = 58$ cromossomos) envolveu a duplicação do conjunto cromossômico (euploidia) de duas espécies ancestrais com número básico $X = 7$ e $X = 8$ cromossomos, resultando em espécies autotetraploides, possivelmente *S. macroscyphus* ($2n = 28$ cromossomos) e *S. riparius* ($2n = 32$ cromossomos). O cruzamento ocorreu entre as duas espécies a partir de uma célula reprodutiva reduzida de *S. riparius* e uma não-reduzida de *S. macroscyphus*, resultando indivíduos hexaploides que cruzaram a partir de suas células reprodutivas não-reduzidas com células reprodutivas reduzidas de *S. macroscyphus*.

Esta origem explicaria o cariótipo octoploide $6A$ (*S. macroscyphus*) + $2B$ (*S. riparius*) como dominante na maioria dos indivíduos propagados vegetativamente de yacon, os quais possuem $2n = 58$ (Manrique et al., 2014; Ibañez et al., 2017). Isso confirmaria o resultado encontrado nesta presente pesquisa, assim como, resultado de Svobodová et al. (2013) que relataram o mesmo número de cromossomos $2n = 58$ em plantas de yacon cultivadas na República Tcheca, as quais foram provenientes de diferentes países da região Andina (Equador, Peru e Bolívia).

No entanto, é importante relatar que a yacon apesar de ser uma cultura propagada de forma vegetativa, pode exibir uma diversidade considerável no número de cromossomos (Grau & Rea 1997). Heiser (1963) foi o primeiro a publicar um relatório sobre o número cromossômico de yacon através de seu trabalho realizado em material do Equador com o qual publicou o número $2n=60$. Talledo & Escobar (1996) sugerem que a yacon é um tetraplóide com base em pesquisa realizada em material do Peru em que também descobriram um número cromossômico $2n=60$. Hexadecaploides ($2n = 116$) foram relatados em estudo de indução *in vitro* de poliploidia por Viehmannová et al. (2009). Genótipos de $2n = 32$ foram encontrados em materiais brasileiros por Svobodová et al. (2013), além dos dodecaploides ($2n = 87$) descritos por Manrique et al. (2014).

Toda essa variabilidade no número de cromossomos indica haver citótipos da espécie, os quais são relevantes para produção comercial de yacon, visto que a busca por

genótipos mais adaptados às condições de ambiente, o conhecimento a partir de dados genéticos devem ser constantes para auxiliar o desenvolvimento da cultura, assim como, o conhecimento sobre variabilidade genética geram dados essenciais para programas de melhoramento, servindo de base para o desenvolvimento e seleção de melhores materiais (Lira et al., 2017). Haja vista que já existe apontamentos de várias pragas e doenças observadas em sua produção agrícola (Lee et al., 2015), inclusive no Brasil (Silva et al., 2015; Moraes et al., 2017; Camara et al., 2020; Oliveira et al., 2020).

Apesar das observações de Lorenzoni et al. (2017) apontando alta similaridade genotípica yacon, o resultado aponta que pode haver uma variação na ploidia, o que não descarta a necessidade para que novos genótipos sejam introduzidos a fim de promover o aumento da variabilidade, o que minimizaria os efeitos adversos causados por fatores bióticos e abióticos.

A análise morfométrica permitiu identificar que o cariótipo da yacon é composto por vinte e nove pares de cromossomos, treze pares de cromossomos submetacêntricos (M – 1 – 5, 7 – 12, 14, 20) e dezesseis metacêntricos (SM – 6, 13, 15 – 19, 21- 29), com seus tamanhos variando de 3,64 (cromossomos 1) a 1,67 μm (cromossomos 29), resultando na fórmula cariotípica de 32 M + 22 SM. O cariótipo também possui a presença de construção secundária no par de cromossomos 21 (Figura 2. Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização morfológica dos $2n = 58$ cromossomos mitóticos de yacon com base na Figura 2.

| Num. Cromossomo | Total (μm) | Braço | | | Classe* | Comp. Relativo (%) |
|--------------------|----------------------------|-------|-------|------|---------|--------------------------|
| | | Curto | Longo | r | | |
| 1 | 3,647 | 1,382 | 2,265 | 1,64 | SM | 7,72 |
| 2 | 3,331 | 1,301 | 2,029 | 1,56 | SM | 7,05 |
| 3 | 3,191 | 1,140 | 2,051 | 1,80 | SM | 6,75 |
| 4 | 3,022 | 1,103 | 1,919 | 1,74 | SM | 6,39 |
| 5 | 2,926 | 1,074 | 1,853 | 1,73 | SM | 6,19 |
| 6 | 2,853 | 1,154 | 1,699 | 1,47 | M | 6,04 |
| 7 | 2,831 | 1,096 | 1,735 | 1,58 | SM | 5,99 |
| 8 | 2,735 | 1,015 | 1,721 | 1,70 | SM | 5,79 |
| 9 | 2,699 | 1,074 | 1,625 | 1,51 | SM | 5,71 |
| 10 | 2,669 | 0,978 | 1,691 | 1,73 | SM | 5,65 |
| 11 | 2,654 | 0,993 | 1,662 | 1,67 | SM | 5,62 |
| 12 | 2,588 | 0,993 | 1,596 | 1,61 | SM | 5,48 |
| 13 | 2,478 | 1,029 | 1,449 | 1,41 | M | 5,24 |
| 14 | 2,449 | 0,949 | 1,500 | 1,58 | SM | 5,18 |
| 15 | 2,360 | 1,037 | 1,324 | 1,28 | M | 4,99 |
| 16 | 2,346 | 0,971 | 1,375 | 1,42 | M | 4,96 |
| 17 | 2,287 | 0,978 | 1,309 | 1,34 | M | 4,84 |
| 18 | 2,257 | 0,956 | 1,301 | 1,36 | M | 4,78 |
| 19 | 2,228 | 0,956 | 1,272 | 1,33 | M | 4,71 |
| 20 | 2,213 | 0,882 | 1,331 | 1,51 | SM | 4,68 |
| 21 | 2,176 | 0,934 | 1,243 | 1,33 | M | 4,60 |
| 22 | 2,110 | 0,875 | 1,235 | 1,41 | M | 4,46 |
| 23 | 2,088 | 0,904 | 1,184 | 1,31 | M | 4,42 |
| 24 | 1,993 | 0,934 | 1,059 | 1,13 | M | 4,22 |
| 25 | 1,941 | 0,860 | 1,081 | 1,26 | M | 4,11 |
| 26 | 1,890 | 0,860 | 1,029 | 1,20 | M | 4,00 |
| 27 | 1,860 | 0,750 | 1,110 | 1,48 | M | 3,94 |
| 28 | 1,860 | 0,794 | 1,066 | 1,34 | M | 3,94 |
| 29 | 1,676 | 0,699 | 0,978 | 1,40 | M | 3,55 |

* Classe: M - metacêntrico; SM - submetacêntrico.

O cariógrama para yacon foi relatado anteriormente apenas por Fernández et al. (2000), em que os mesmos relataram diferentes resultados, com o cariógrama da espécie apresentando onze pares submetacêntricos, dois pares subtelo-cêntricos e dezesseis pares metacêntricos. Os autores sugeriram que os cromossomos da espécie medem entre 3,12 (cromossomo 1) e 1,80 μm (cromossomo 29) e possuem um par de satélites no braço

curto dos cromossomos 15 do seu cariótipo que apresenta a seguinte fórmula cariotípica $32 M + 22 SM + 4 A$ (acrocêntrico).

A caracterização cariotípica de yacon usando citogenética clássica serviu de base para a compreensão de possíveis alterações cariotípicas da espécie. O conhecimento citogenético gerado, fornece informações básicas qualitativas e quantitativas valiosas que encorajam futuras investigações sobre a citotaxonomia da yacon.

CONCLUSÃO

O valor médio do conteúdo de DNA nuclear $2C$ foi de $6,390 \pm 0,0017$ pg, $IC = 3,195$ equivalente a $IC = 3.124,710$ Mpb. Com base no valor IC , o genoma da *S. yacon* pode ser considerado pequeno.

Os valores de IC e $2C$ nuclear e o número cromossômico ($2n = 58$) observados demonstra que se tem diferentes germoplasmas de yacon cultivados em clima tropical.

REFERÊNCIAS

- AHMADIAN, Marzieh et al. Genome size diversity of some species of *Cephalanthera* from Iran. *Caryologia*, v. 70, n. 3, p. 206-210, 2017.
- AMBRIZ, P. D. L. et al. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2: 1. 113-141, 2016.
- BEDNÁŘOVÁ, M. et al. B Chromosomes in *Genus Sorghum* (Poaceae). *Plants*, 10: 3. 505, 2021.
- BOURGE, M. et al. Flow cytometry as tool in plant sciences, with emphasis on genome size and ploidy level assessment. *Genetics & Applications*, v. 2, n. 2, p. 1-12, 2018.
- BOURGE, M. et al. Flow cytometry as tool in plant sciences, with emphasis on genome size and ploidy level assessment. *Genetics & Applications*, v. 2, n. 2, p. 1-12, 2018.
- CAETANO, B. et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a Food Supplement: Health-Promoting Benefits of Fructooligosaccharides. *Nutrients*, 8: 7. 436-440, 2016.
- CAMARA, G. R. et al. First Report of *Meloidogyne inornata* on *Smallanthus sonchifolius* in Brazil. *Plant Disease*, [S.L.], v. 104, n. 2, p. 595, fev. 2020. Scientific Societies.
- CARVALHO C. R et al. Citometria de imagem: quantificação de DNA nuclear e cromossômico. In: Chiarini-Garcia H, Melo RCN, editores. *Microscopia ótica: métodos e protocolos*. Nova York: Humana Pres; 51–68. 2011.
- CARVALHO, G.M. Flow cytometry and cytogenetic tools in eucalypts: genome size variation × karyotype stability. *Tree Genetics & Genomes*, v. 13, n. 5, p. 1-11, 2017.
- ČÍŽKOVÁ, J. et al. Molecular and cytogenetic characterization of wild *Musa* species. *Plos one*, v. 10, n. 8, p. e0134096, 2015.
- CLARINDO, W. R.; CARVALHO, C. R. Comparison of the *Coffea canephora* and *C. arabica* karyotype based on chromosomal DNA content. *Plant cell reports*, 28: 1. 73-81, 2009.
- CRUZ, B.C.S. et al. Evaluation of the efficacy of probiotic VSL# 3 and synbiotic VSL# 3 and yacon-based product in reducing oxidative stress and intestinal permeability in mice induced to colorectal carcinogenesis. *Journal of Food Science*, 2021.

- CRUZ, P. N. et al. Antioxidant activity and fatty acid profile of yacon leaves extracts obtained by supercritical CO₂+ ethanol solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 146, p. 55-64, 2019.
- CRUZ, P. N. et al. Encapsulation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaf extract by supercritical fluid extraction of emulsions. *The Journal of Supercritical Fluids*, 160, 104-815, 2020.
- D'AMBROSIO, U. et al. B-chrom: Um banco de dados sobre cromossomos B de plantas, animais e fungos. *New Phycologist*, 216: 3. 635-642, 2017.
- DODSWORTH S, et al. 2015. Genome size diversity in angiosperms and its influence on gene space. *Current Opinion in Genetics & Development* 35: 73–78, 2015.
- DOLEŽALOVÁ, I. et al. Variation in relative DNA content in maca and yacon germplasm. In: *Genetic variation for plant breeding. Proceedings of the 17th EUCARPIA General Congress, Tulln, Austria, 8-1, 2004.*
- DOLEŽEL, J. et al. Chromosome analysis and sorting. *Cytometry Part A*, 2021.
- FERNÁNDEZ, A. M. F et al. Estudio citológico del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y del yacón del campo (*Smallanthus macroscyphus*). *Lilloa*, p. 115-125, 2000.
- FERNÁNDEZ, M. et al. The evo-devo of plant speciation. *Nature ecology & evolution*, 1: 4. 1-9, 2017.
- FERREIRA, D. A. et al. Karyotype and nuclear DNA content variation in *Passiflora L.* *Scientia Horticulturae*, 272: 109532, 2020.
- GALBRAITH, D. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science*, 220: 4601. 1049-1051, 1983.
- GRAU, A.; REA, J. Genetic Resources of yacon *Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl. p.198-242. In: Heller, J.; Hermman, M.; Engels, J. *Andean roots and tuber genetic resources. IPGRI - Rome, 1997.*
- GUERRA, M.S. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. *Braz. J. Genet.* 9:4. 741-743. 1986
- GURUNG, S. et al. An introduction to ground apple (*Smallanthus sonchifolius*): A REVIEW. *International Journal of Genetics*, 10: 4, 401-403, 2018.
- GUSSO, A.P. et al. Yacon: benefícios à saúde e aplicações tecnológicas. *Ciência rural*, 45: 5. 912-919, 2015.
- HEISER C. Numeracion cromosomica de plantas ecuatorianas. *Ciencia y Naturaleza*. 6: 2- 6., 1963.

- HUANG, S. New thoughts on an old riddle: What determines genetic diversity within and between species? *Genomics*, 108: 1. 3-10, 2016.
- HUANG, W. et al. B chromosome contains active genes and impacts the transcription of A chromosomes in maize (*Zea mays* L.). *BMC plant biology*, 16: 1-1-14, 2016.
- IBAÑEZ, M. S. et al. Flower structure and developmental stages of the capitulum of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae): reproductive implications. *Journal of plant research*, 130: 2. 327-337, 2017.
- ISHIKI K, et al. Revision of chromosome number and karyotype of yacon (*Polymnia sonchifolia*) cultivated in South America. *Resúmenes del Primer taller Internacional sobre Recursos fitogenéticos del Noreste Argentino*. INTA, Salta, Argentina, p 7. 1997.
- JONES, N. et al. Are B chromosomes useful for crop improvement? *Plants, People, Planet*, 1: 2 84-92, 2019.
- KAMP, L et al. Plant growth, tuber yield formation and costs of three different propagation methods of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products*, 32:1-11.2019.
- KREPLAK, Jonathan et al. A reference genome for pea provides insight into legume genome evolution. *Nature Genetics*, v. 51, n. 9, p. 1411-1422, 2019.
- LAVINSCKY, M. P. et al. Contributions of classical and molecular cytogenetic in meiotic analysis and pollen viability for plant breeding. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, n. 3, 2017.
- LEE, Y.J. et al. Complete genome sequence of yacon necrotic mottle virus, a novel putative member of the genus Badnavirus. *Archives Of Virology*, [S.L.], v. 160, n. 4, p. 1139-1142, 4 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC.
- LEIDI, E.O. et al. Andean roots and tubers crops as sources of functional foods. *Journal of Functional Foods*, 51: 86-93. 2018.
- LEITCH I.J. et al. Plant DNA C-values database. release 7.1, Apr 2019.
- LEITCH, I. J. et al. The ups and downs of genome size evolution in polyploid species of *Nicotiana* (Solanaceae). *Annals of botany*, 101:6. 805-814, 2008.
- LEITE, C. T. et al. In vitro responses in *Passiflora* species with different chromosome numbers, ploidy levels and nuclear 2C values: revisiting and providing new
- LI, Wenwen et al. Karyotypic Characteristics and Genetic Relationships of Apricot Accessions from Different Ecological Groups. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 146, n. 1, p. 68-76, 2021.

- LIMA, M. G. F. et al. Effects of three antimetabolic agents on karyotype of *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L.: two plant model species for cytogenotoxic assessments. *South African Journal of Botany*, v. 125, p. 244-250, 2019.
- LIRA, E. G. et al. Genetic parameters, phenotypic, genotypic and environmental correlations and genetic variability on sunflower in the Brazilian Savannah. *Ciência Rural*, v. 47, 2017.
- MANRIQUE, I. et al. Producción de semillas en yacón (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.)) mediante técnicas de polinización controladas. *Ecol. apl.* 13:.2.135-145. 2014.
- MARTINEZ, O. P. et al. Evaluation In Vitro of Toxicity of Hydroalcoholic Extract of Leaves and Roots from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Medicinal Food*, 2020.
- MAYROSE, I. et al. The evolution of chromosome numbers: mechanistic models and experimental approaches. *Genome Biology and Evolution*, v. 13, n. 2, p. evaa220, 2021.
- MEDEIROS, N. E. et al. Intrachromosomal karyotype asymmetry in Orchidaceae. *Genetics and molecular biology*, v. 40, n. 3, p. 610-619, 2017.
- MÖLLER, M. Nuclear DNA C-values are correlated with pollen size at tetraploid but not diploid level and linked to phylogenetic descent in *Streptocarpus* (Gesneriaceae). *South African Journal of Botany*, 114: 323-344, 2018.
- MORAES, W. B. et al.. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing *Fusarium* Root Rot on Yacon Potatoes in Brazil. *PLANT DISEASE*, v. 101, p. PDIS-04-16-0493-629, 2017.
- MORAES, W. B. ; et al. . First Report of *Fusarium oxysporum* Causing *Fusarium* Root Rot on Yacon Potatoes in Brazil. *PLANT DISEASE*, v. 101, p. PDIS-04-16-0493-629, 2017.
- MOTSA, M. M. et al. Flow cytometry: a quick method to determine ploidy levels in honeybush (*Cyclopia* spp.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65: 6. 1711-1724, 2018.
- OJANSIVU, I. et al. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, 22: 1. 40-46, 2011.
- OLIVEIRA, F. L. et al. Potentials Insect Pests of Yacon *Smallanthus Sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson in Brazil. *International Journal Of Advanced*

- Engineering Research And Science, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 119-121, 2020. AI Publications.
- OLIVEIRA, P. M. et al. Antioxidative properties of 14-day supplementation with Yacon leaf extract in a hypercholesterolemic rat model. *Revista Brasileira de Biociências*, 15, 2018.
- OTTO, F. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: *Methods in cell biology*. Academic Press. 105-110, 1990.
- PALOMINO, G. et al. Nuclear genome size and karyotype analysis of *Agave angustifolia* Haw. "Cimarron" and "Lineño" (Asparagales, Asparagaceae). *Caryologia*, 70: 2, 93-101, 2017.
- PELLICER, J. et al. The Plant DNA C-values database (release 7.1): an updated online repository of plant genome size data for comparative studies. *New Phytologist*, 226: 2. 301-305, 2020.
- PELLICER, J. et al. Diversidade do tamanho do genoma e seu impacto na evolução das plantas terrestres. *Genes*, v. 9, n. 2, pág. 88, 2018.
- PFLUG, J. M. et al. Measuring genome sizes using read-depth, k-mers, and flow cytometry: methodological comparisons in beetles (Coleoptera). *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10(9), 3047-3060, 2020.
- PRAÇA-FONTES, M. M. et al. C-value reassessment of plant standards: an image cytometry approach. *Plant Cell Reports*, 30: 12.2303-2312, 2011.
- SADER, M. A. et al. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Systematics and biodiversity*, v. 17, n. 1, p. 7-21, 2019.
- SANO, N. et al. Cell cycle inhibitors improve seed storability after priming treatments. *Journal of plant research*, 132: 2.263-271, 2019.
- SILVA, D. et al. Physical and chemical characterization of yacon tuberous roots at different altitudes and planting times. *Horticultura Brasileira*, 36: 2.199-204, 2018.
- SILVA, D. M. N et al. Occurrence of insects causing injuries to the yacon crop. *Horticultura Brasileira*, v. 33, p. 394-397, 2015.
- SILVA, J. C. et al. Updating the maize karyotype by chromosome DNA sizing. *PloS one*, 13, 1.190428, 2018.
- SINGH, A. et al. Domesticating the Undomesticated for Global Food and Nutritional Security: Four Steps. *Agronomy*, 9: 9.491-500. 2019.

- SVOBODOVÁ, E. et al. Genetic diversity of yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson) and its wild relatives as revealed by ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50: 383-389, 2013.
- SZOKALO, R. A. M. et al. Toxicogenetic evaluation of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) as a herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 257: 112854, 2020.
- Talledo D & Escobar M. Caracterización cariotípica de germoplasma RTA. Laboratorio de Biología Celular y Genética. *Memorias*. 1996.
- UEDA, Y. Increased phenolic content and antioxidant capacity of the heated leaves of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry*, 1-10, 2019.
- VALENTOVA, K. et al. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *European Journal of Nutrition*, 42: 61-66, 2003.
- VALENTOVÁ, K. et al. The biological and chemical variability of yacon. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54: 4. 1347-1352, 2006.
- VIEHMANNOVÁ, I. et al. In vitro induction of polyploidy in yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 97: 1, 21-25 2009.
- VILHENA, S. et al. O cultivo de yacon no Brasil. *Horticultura brasileira*, v. 18, n. 1, p. 5-8, 2000.
- VIMALA, Y. et al. Umesh Chandra. Chromosome change and karyotype differentiation—implications in speciation and plant systematics. *The Nucleus*, p. 1-22, 2021.
- VITALI, M. S. et al. A revision of *Smallanthus* (Asteraceae, Millerieae), the “yacón” genus. *Phytotaxa*, v. 214, 2020.
- WAGNER, M. et al. Environmental and Economic Performance of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Cultivated for Fructooligosaccharide Production. *Sustainability*, 11: 17.4581-4585. 2019.
- WAN, Heping et al. The karyotype, genome survey, and assembly of Mud artemisia (*Artemisia selengensis*). *Molecular Biology Reports*, p. 1-8, 2021.
- XU, J. et al. Genome sizes of four important medicinal species in Kadsura by flow cytometry. *Chinese Herbal Medicines*, 2021.
- Yin, K., et al. Progress and prospects in plant genome editing. *Nature plants*, 3(8), 1-6. 2017.
- ŽIAROVSKÁ, Jana et al. Genetic and chemical diversity among yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] accessions based on iPBS markers

and metabolomic fingerprinting. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 141, p. 183-192, 2019.

ZONNEVELD, B. J. M. Selected perennial plants do provide convenient standards for the determination of genome sizes with flow cytometry. *Plant Systematics and Evolution*, v. 307, n. 2, p. 1-10, 2021.

ZWYRTKOVÁ, J. et al. Chromosome genomics uncovers plant genome organization and function. *Biotechnology Advances*, 107659, 2020.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante a presente pesquisa observa-se que o material genético de yacon produzido na região sudeste do Brasil apresenta relação próxima entre os membros. Isso serve como evidência para a necessidade e importância de reunir o maior número possível de genótipos encontrados em diferentes países para formar o banco de germoplasma da espécie, visando obter o máximo de variabilidade, garantindo sua conservação e também, não menos importante, viabilizar programas de melhoramento.

Neste sentido, durante o processo de coleta do material genético para o estudo de variabilidade houve relato de produtores como o do senhor Ivan dono da empresa @santeorganic que gentilmente cedeu material propagativo yacon que representou o município de Piedade – SP. Ao ser questionado sobre a origem do seu material de cultivo, apresentou o seguinte relato “Pela história que os antigos contam, o plantio de yacon no Brasil se originou aqui em Piedade mesmo. Uma grande parcela da população é de origem japonesa (são os principais consumidores aqui do Sudeste) e os primeiros rizomas foram trazidos do Japão”. Importante informação, visto que, é crescente relatos de pragas e doenças no cultivo da espécie no Brasil e, ressalta a fragilidade da sua produção no país, tendo em vista a uniformidade genética do material cultivado.

Por outro lado, é importante salientar que no presente estudo foi observado a presença de diferenças morfoagronômicas em material genético considerado de alta afinidade genética cultivado em ambiente heterogêneo. Esse resultado pode representar formação de ecótipos, sendo que, uma vez formados ecótipos podem evoluir, aumentando suas divergências, num processo que culminaria com o evento da formação de uma cultivar.

Portanto, se faz necessário mais estudos que concluam está hipótese, correspondendo a um determinado genótipo e fenótipo selecionado, em que os genótipos apresentados possam manter durante o processo de propagação, um conjunto único de características agronômicas de interesse, que o distingam de maneira suficiente de cultivares semelhantes da mesma espécie. Visto que, a planta apresenta rápida expansão no seu cultivo, impulsionado pelo crescente interesse na produção comercial e como consequência diferentes desafios adaptativos em seu cultivo.