

POLIMORFISMO EM ETNOVARIEDADES DE MANDIOCA NO CERRADO DE MATO GROSSO DO SUL AVALIADO POR MICROSSATÉLITES

Marcos Vinícius Bohrer Monteiro Siqueira^{1*}, Aline Borges², Teresa Losada Valle³; Elizabeth Ann Veasey⁴.

¹ Aluno do curso de Pós-Graduação em “Ecologia Aplicada”, da USP/ESALQ (E-mail: mybms@esalq.usp.br); ²Aluna do curso de “Ciências Biológicas”, da USP/ESALQ; ³Pesquisadora Científica, APTA/Instituto Agrônomo, Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas, SP; ⁴USP/ESALQ, Departamento de Genética, Caixa Postal 83, 13400-970, Piracicaba, SP.

PALAVRAS CHAVE: variabilidade genética, *Manihot esculenta*, germoplasma, SSR

INTRODUÇÃO

Espécies cultivadas na agricultura tradicional podem ser consideradas fornecedoras permanentes de novos materiais genéticos, pois os processos evolutivos estão constantemente ativos nessas roças (Brush, 1995). A região de cerrados no Brasil, de modo geral, sofre ameaças de todas as formas, levando muitas roças ao extermínio (Klink & Machado, 2005). Vários estudos indicam que esta região é de fundamental importância na compreensão da cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), visto que representa um dos principais centros de sua dispersão (Olsen & Schaal, 1999). A diversidade genética de mandioca na região do cerrado do Estado do Mato Grosso do Sul (MS), deve-se sobretudo às migrações indígenas e às atuais migrações de brasileiros de outras regiões do País e paraguaios para este Estado, trazendo variedades de suas terras de origem (Zatarin & Valle, 2001). Os marcadores microssatélites, regiões de DNA repetitivo que permitem a detecção eficiente de polimorfismo, têm permitido compreender a biodiversidade da mandioca e como ela se manifesta geograficamente. Pretendeu-se com este trabalho, caracterizar o nível e a distribuição da diversidade genética de etnovariedades de mandioca cultivadas por agricultores tradicionais nesta região, a partir do uso destes marcadores.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 83 etnovariedades de mandioca coletadas em 21 roças de agricultura tradicional cultivadas em áreas de cerrado no Estado de MS, nos municípios: Sonora, Pedro Gomes, Rio Verde de Mato Grosso, Costa Rica, Cassilândia, Paranaíba e Inocência. Detalhes da expedição e coleta de dados podem ser consultados em Zatarin & Valle, 2001 e Valle *et al.*, 2005. A extração de DNA seguiu a metodologia proposta por Elias *et al.* (2004) com algumas alterações. O DNA foi quantificado em gel de poliacrilamida 4%, corado com nitrato de prata (Bassam *et al.*, 1991). Nove iniciadores pré-estabelecidos por Chavarriaga-Aguirre *et al.* (1998) foram utilizados. As reações de PCR seguiram os seguintes

passos: 4 min a 95°C, 29 ciclos de 1 min a 95°C, 2 min para a temperatura de anelamento definida para cada iniciador e 2 min a 72°C, e uma extensão final de 1 min a 72°C. O material amplificado foi separado em gel de poliacrilamida a 6% e corado com nitrato de prata (Bassam et al., 1991). Os dados foram analisados pelos softwares GDA, FSTAT, SAS e BioStat 4.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada elevada variabilidade genética total para as etnovariedades de mandioca no cerrado sulmatogrossense. Pela avaliação dos nove locos SSR das 83 etnovariedades, a porcentagem de polimorfismo foi de 100% para todos os locos. Em relação ao número médio de alelos por loco, o loco GA-126 obteve o maior valor (12,0), e o loco GA-21 o menor valor (4,0). A média para este índice foi de 7,33. Na avaliação por roças, cujo número de indivíduos variou de 1 a 10 etnovariedades/roça, a porcentagem de locos polimórficos variou de 33% a 100%, sendo que 10 roças apresentaram 100% de polimorfismo, o que é relativamente elevado. O número de alelos por roça variou de 1 a 11, tendo o primer GA-126 registrado a maior amplitude alélica. Observou-se menor valor para a heterozigosidade média observada ($\bar{H}_o = 0,31$) em relação à heterozigosidade esperada ou diversidade gênica ($\bar{H}_e = 0,51$). Os maiores valores obtidos registraram-se nas roças 15, município de Cassilândia ($\bar{H}_o = 0,70$ e $\bar{H}_e = 0,65$) e 9, município de Rio Verde de Mato Grosso ($\bar{H}_o = 0,62$ e $\bar{H}_e = 0,69$). O índice de fixação, ou coeficiente de endogamia, neste estudo variou consideravelmente entre as roças avaliadas, tendo em média o valor de 0,48.

Com relação à estrutura genética, a variabilidade genética total ($H_T = 0,669$) mostrou a alta diversidade genética no material avaliado nesta região de cerrado de MS. A maior parte desta diversidade, no entanto, está concentrada dentro de roças ($H_S = 0,551$, em média), variando de 0,365 a 0,743, com o loco GA-126 apresentando o maior valor e o loco GA-21 o menor. Os valores de proporção da variação entre roças (G_{ST}') variaram de 0,066 para o primer GA-136 a 0,370 para o primer GA-121, apresentando uma média de 0,183.

Os resultados gerados pela análise de componentes principais (PCA) mostraram, mais uma vez, a grande variabilidade genética do material avaliado, com etnovariedades distribuídas em todos os quatro quadrantes do gráfico de dispersão (Figura 1). Observa-se uma tendência para as etnovariedades da Costa Rica e Cassilândia estarem distribuídas, em sua maioria, nos quadrantes superiores, com muito poucas exceções nos

quadrantes inferiores. Esta separação pode explicada pela existência de um grupo de variedades cultivadas para a extração de polvilho para consumo local e exportação para os municípios vizinhos de Goiás. Observa-se nessa região influência de tradições mineiras, origem remota dessas populações (Zatarin & Valle, 2001). Nesta região está ocorrendo, inclusive, uma leve estruturação espacial das etnovariedades de mandioca, com uma correlação média ($r = 0,4567$, $P < 0,0355$) entre as distâncias geográficas e as distâncias genéticas médias entre municípios.

Tabela 1. Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco polimórfico (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o), heterozigosidade média esperada (\bar{H}_e) e índice de fixação (f) para roças de etnovariedades de mandioca analisadas por município.

<i>Município</i>	<i>Roça</i>	N	\bar{A}	P (%)	\bar{H}_o	\bar{H}_e	f
Sonora	R1	4,00	2,67	78	0,33	0,50	0,36
	R2	4,00	2,67	100	0,36	0,53	0,35
P.Gomes	R3	4,00	3,11	100	0,28	0,65	0,61
	R4	2,00	1,89	78	0,50	0,46	-0,12
	R5	2,00	1,78	78	0,55	0,48	-0,25
Rio Verde de MT	R6	2,00	1,78	67	0,28	0,42	0,44
	R7	5,00	2,78	100	0,38	0,58	0,38
Costa Rica	R8	6,00	2,89	100	0,33	0,56	0,43
	R9	3,00	2,55	100	0,22	0,62	0,69
	R10	6,00	3,22	100	0,31	0,63	0,52
Cassilândia	R11	5,00	3,33	100	0,20	0,66	0,72
	R12	4,00	2,22	89	0,30	0,33	0,09
	R13	7,00	3,22	100	0,19	0,56	0,67
	R14	6,00	3,44	100	0,28	0,63	0,58
Paranaíba	R15	10,00	4,89	100	0,25	0,70	0,65
	R16	2,00	1,89	78	0,22	0,52	0,67
	R17	3,00	2,55	78	0,30	0,53	0,50
Inocência	R18	1,00	1,33	33	0,33	0,33	0,00
	R19	4,00	2,44	89	0,33	0,47	0,32
	R20	2,00	1,55	44	0,22	0,30	0,33
	R21	1,00	1,33	33	0,33	0,33	0,00
Média		3,95	2,55	83	0,31	0,51	0,48

A alta diversidade genética observada pode ser devido à grande amplitude ambiental, social e histórica em que vem evoluindo essa cultura e características do seu manejo que inclui, entre outros eventos, a possibilidade de introgressão nas áreas de simpatria com espécies silvestres do conjunto gênico primário. Além disso, esta grande variabilidade pode estar relacionada ao processo de colonização da região. Os municípios avaliados fizeram parte de importantes circuitos migratórios, na qual agricultores de Campo Grande, Cuiabá, estabeleceram suas roças em alguns municípios como Rio Verde de Mato Grosso, Sonora e Pedro Gomes. A rota pelo Rio Paranaíba foi também usado por mineiros vindos de Goiás. A

influência nordestina e gaúcha também teve seu peso na região agregando maior heterogeneidade de material proveniente de suas origens (Zatarin & Valle, 2001).

CONCLUSÕES

Os microssatélites analisados são claramente polimórficos, e permitiram identificar a grande diversidade genética das etnovarietades do cerrado sul-matogrossense. À semelhança de outros estudos realizados com mandioca, a maior parte da variabilidade genética encontra-se dentro das roças e levemente estruturada no espaço.

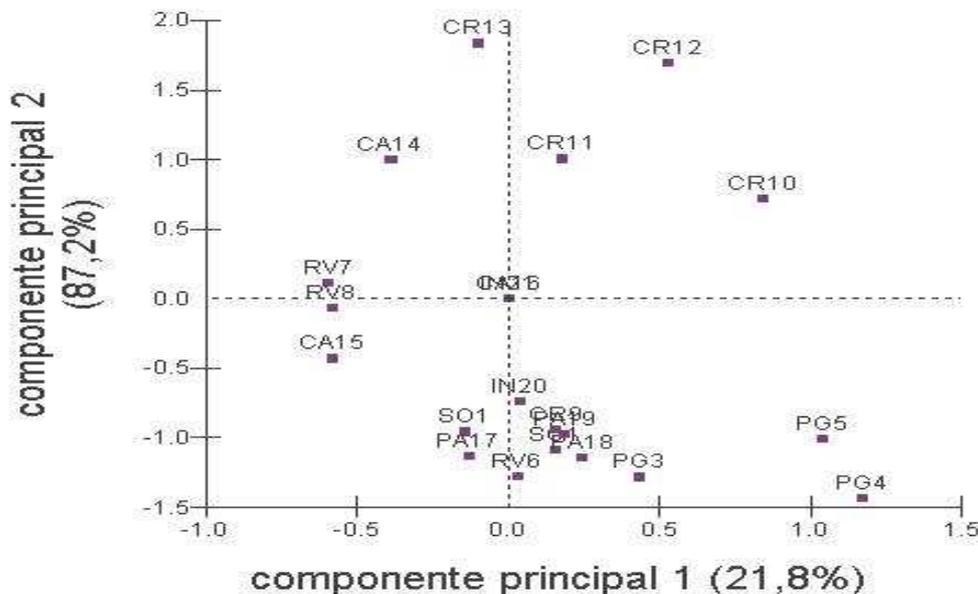


Figura 1. Gráfico de dispersão para 21 roças dos municípios de Sonora (SO), Pedro Gomes (PG), Rio Verde de Mato Grosso (RV), Costa Rica (CR), Cassilândia (CA), Paranaíba (PA) e Inocência (IN).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLES, G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, n.196, p. 80, 1991.

BRUSH, S.B.; CARNEY, H.J.; HUÁMAN, Z. Dynamics of Andean potato agriculture. **Economic Botany**, n.35, p.70-88, 1981.

CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P.; MAYA, M.M.; BONIERBALE, M.W.; KRESOVICH, S.; FREGENE, M.A.; TOHME, J.; KOCHERT, G. Microsatellites in cassava (*Manihot esculenta* Crantz): discovery, inheritance and variability. **Theoretical and Applied Genetics**, n.97, p.493-501, 1998.

ELIAS, M.; MÜHLEN, G.S.; McKEY, D.; ROA, A.C.; TOHME, J. Genetic diversity of traditional South American landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): an analysis using microsatellites. **Economic Botany**, n.58, p.242-56, 2004.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, 1: 147-155, 2005.

OLSEN, K.M.; SCHAAL, B. Evidence on the origin of cassava: Phylogeography of *Manihot esculenta*. **Evolution**, n.96, p.5586-91, 1999.

VALLE, T.L. ZATARIN, M; MUHLEN, G.S.; GALERA J.M.S.; FELTRAN, J. C. Variedades e diversidade genética de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no Estado de Mato Grosso do Sul. In: XI Congresso Brasileiro de Mandioca, 2005, Campo Grande - MS, XI Congresso Brasileiro de Mandioca. Campo Grande - MS, 2005.

ZATARIN, M.; VALLE, T. L. Uma visão etnobotânica sobre os recursos genéticos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no Estado de Mato Grosso do Sul. In: 1º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2001, Goiânia, Anais do 1º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Goiânia, 2001.