

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE MANDIOCA DE MESA

Eduardo ALANO VIEIRA¹, Josefino de FREITAS FIALHO¹, Fábio GELAPE FALEIRO¹,

Graciele BELLON¹, Kenia GRACIELE da FONSECA¹, Marília SANTOS SILVA¹,

Silvana Vieira de Paula MORAES¹, Charles Martins de OLIVEIRA¹,

Mário OZEAS SAMPAIO dos SANTOS FILHO¹, Karina NASCIMENTO da SILVA¹

Resumo: O objetivo do trabalho foi estimar a divergência genética entre acessos de mandioca de mesa por meio de marcadores moleculares e caracteres fenotípicos e a associação entre essas estimativas. Dezesesseis acessos de mandioca de mesa foram avaliados a campo quanto a 13 caracteres agrônômicos e em laboratório por meio de 11 iniciadores RAPD. Com base nos dados aferidos foi estimada a distância entre os acessos por meio de caracteres agrônômicos, a dissimilaridade genética por meio de marcadores RAPD e foi estimada a significância da associação entre as duas matrizes de distâncias. Tanto os marcadores RAPD quanto os caracteres agrônômicos revelaram a existência de divergência genética entre os acessos de mandioca de mesa avaliados, que essa variabilidade é passível de utilização no melhoramento genético e que as matrizes de distâncias estimadas evidenciaram reduzida associação ($r=0,25$).

Palavras-Chave: *Manihot esculenta* Crantz, recursos genéticos, melhoramento genético, variabilidade genética, RAPD.

Summary: Genetic divergence among sweet cassava accessions. The objective of this work was to estimate genetic divergence among sweet cassava accessions by using molecular molecular markers and phenotypic characters, besides associations between these two estimatives. Sixteen accessions of sweet cassava were evaluated concerning 13 agronomic characters and in laboratory via 11 RAPD primers. The distance among the accessions was estimated based on agronomic characters, the dissimilarity was estimated based on RAPD markers and the significance of the association was estimated between the two distance matrices. Both the RAPD markers and the agronomic characters revealed the existence of genetic divergence among the sweet cassava accessions evaluated, that this variability is suitable for utilization in genetic breeding, and that the matrices of estimated distances displayed diminute association ($r=0,25$).

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz, genetic resources, genetic breeding, genetic variability, RAPD.

¹Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. E-mail: vieiraea@cpac.embrapa.br, josefino@cpac.embrapa.br, ffaleiro@cpac.embrapa.br, kenia@cpac.embrapa.br, bellon@cpac.embrapa.br, marilia@cpac.embrapa.br, silvana@cpac.embrapa.br, charles@cpac.embrapa.br, mario.sampaio@cpac.embrapa.br, karina.silva@cpac.embrapa.br.

Introdução

Na região do Distrito Federal o cultivo de mandioca de mesa, representa excelente alternativa econômica para produtores rurais, uma vez que existe mercado e a lucratividade é elevada (Aguiar et al., 2005). Entretanto, um dos entraves para a expansão dessa atividade, é o fato da produção estar baseada em variedades que não passaram por melhoramento genético, e que em geral não apresentam potencial produtivo elevado nem boas qualidades culinárias.

Portanto, se faz necessário o estabelecimento de um programa de melhoramento voltado à seleção de híbridos adaptados a região. Entretanto, para que um programa de melhoramento logre êxito, é necessário que o melhorista conheça a variabilidade genética dos genótipos que poderá utilizar como genitores. Essa estimativa pode ser efetuada por meio de caracteres agronômicos e/ou de marcadores moleculares (Vieira et al., 2008). Apesar dessa demanda, ainda não foram realizados experimentos na região do Cerrado objetivando a geração desses conhecimentos básicos e da correlação entre estas estimativas para acessos de mesa.

O objetivo do trabalho foi estimar a divergência genética entre acessos de mandioca de mesa por meio de marcadores RAPD e caracteres fenotípicos e a associação entre essas estimativas.

Material e Métodos

No estudo foram avaliados 16 acessos de mandioca de mesa mantidos no Banco Regional de Germoplasma de Mandioca do Cerrado (BGMC), listados na Tabela 1. Os acessos foram avaliados a campo na safra 2006/2007, em área experimental da Embrapa Cerrados, em delineamento de blocos casualizados com três repetições, quanto aos caracteres agronômicos: altura da planta em m (AP); altura da primeira ramificação em m (APR); peso da parte aérea sem a cepa em kg ha⁻¹ (PPA), peso da cepa em kg ha⁻¹ (PC), produtividade de raízes em kg ha⁻¹ (PR); porcentagem de amido nas raízes por meio do método da balança hidrostática (AM); tempo para a cocção em minutos (TC); comprimento do lóbulo da folha em cm (CLF); largura do lóbulo da folha em cm (LLF); comprimento do pecíolo em cm (CP); número médio de ninfas e adultos de percevejo-de-renda em três avaliações (NMP), incidência de bacteriose em porcentagem (IB) e severidade da bacteriose (SB) por meio da escala de notas descrita por Ramos & Takatsu (1987). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e posteriormente foi estimada a distância de Mahalanobis (D²), entre os acessos por meio do programa computacional Genes (Cruz, 2001).

Os marcadores RAPD foram obtidos a partir de 11 iniciadores da Operon Technologies Inc.;

OPD (02), OPE (12), OPF (08), OPG (05, 08, 09, 15, e 16) e OPH (04, 13 e 15). Os produtos das reações de amplificação foram utilizados na estimativa da dissimilaridade entre os acessos, por meio do complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard.

Com base nas matrizes de distância/dissimilaridade obtidas, foram confeccionados dendrogramas, por meio do método UPGMA. A estimativa da significância da correlação entre as matrizes da análise de marcadores RAPD e caracteres agronômicos, foi obtida pelo teste de Mantel, com 1000 permutações por meio do programa NTSYS pc 2.1 (Rohlf, 2000).

Tabela 1. Acessos de mandioca de mesa analisados com respectivos nomes comuns e locais de coleta/procedência (LCP).

| Genótipos (Código BGMC) | Nome comum | LCP |
|----------------------------|------------------------|-----------------------|
| BGMC 982 | Iapar 19/Pioneira | IAPAR – Londrina (PR) |
| BGMC 753 | IAC 756-70/Japonesinha | IAC – Campinas (SP)* |
| BGMC 1289 | Taquara Amarela | Planaltina (DF) |
| BGMC 1290 | Taquara Amarela 1 | Planaltina (DF) |
| BGMC 1291 | Taquara Amarela 2 | Planaltina (DF) |
| BGMC 1292 | Taquara Amarela 3 | Planaltina (DF) |
| BGMC 1266 | Flores de Goiás | Flores de Goiás (GO) |
| BGMC 34 | IAC 24-2/Mantiqueira | IAC – Campinas (SP)* |
| BGMC 751 | Japonesa | Planaltina (DF) |
| BGMC 1246 | Americana | Brazlândia (GO) |
| BGMC 764 | Não possui denominação | Sobradinho (DF) |
| BGMC 1254 | Buriti | Planaltina (DF) |
| BGMC 1096 | IAC 59-210 | IAC – Campinas (SP)* |
| BGMC 1341 | Pioneira diferente | Unaí (MG) |
| BGMC 962 | Vassourinha | Morrinhos (GO) |
| BGMC 1250 | Branca de Unaí | Unaí (MG) |

* = Programa de melhoramento genético de mandioca do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), baseado em Campinas (SP).

Resultados e Discussão

Os resultados da análise de variância evidenciaram a existência de diferenças genéticas entre os acessos, uma vez que foram detectadas variações significativas ($P < 0,05$) para todos os caracteres aferidos (Tabela 2). Destacaram-se as variações detectadas para os caracteres PPA ($17.948 \text{ kg ha}^{-1}$), PR ($13.263 \text{ kg ha}^{-1}$) e AP (1,00 m) que são passíveis de serem utilizadas no melhoramento genético de mandioca. Por exemplo, para produtividade de raízes, a amplitude de variação foi de $13.263 \text{ kg ha}^{-1}$, valor semelhante à média de PR de mandioca na Região do Cerrado, que segundo Souza e Fialho (2003) é de 13 t ha^{-1} . A presença de elevada variabilidade era esperada, uma vez que foram avaliadas constituições genéticas de origens diferentes e de diferentes níveis de melhoramento genético.

A análise da Figura 1B permitiu a partição dos acessos em 3 grupos de similaridade genética,

sendo: i) formado pelos acessos BGMC 34, BGMC 751, BGMC 764, BGMC 1096, BGMC 753, BGMC 1266, BGMC 1246 e BGMC 1250; ii) formado pelos acessos BGMC 982; BGMC 1341; BGMC 1290; BGMC 1292; BGMC 1289; BGMC 1291 e BGMC 962; iii) formado pelo acesso BGMC 1254.

Tabela 1. Resumo da análise de variância dos caracteres altura da planta em m (AP), altura da primeira ramificação em m (APR), peso da parte aérea sem a cepa em kg ha⁻¹ (PPA), peso da cepa em kg ha⁻¹ (PC), produtividade de raízes em kg ha⁻¹ (PR), porcentagem de amido nas raízes (AM), tempo para a cocção em minutos (TC), número médio de ninfas e adultos de percevejo-de-renda (NMP), incidência de bacteriose em porcentagem (IB), severidade de bacteriose (SB), comprimento do lóbulo da folha em cm (CLF), largura do lóbulo da folha em cm (LLF) e comprimento do pecíolo em cm (CP) avaliados em dezesseis acesso de mandioca de mesa.

| FV | GL | AP | APR | PPA | PC | PR | AM | TC | NMP | IB | SB | CLF | LLF | CP |
|------------------------|----|-------------------|-------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| QM _{Acessos} | 15 | 0,30 ⁺ | 0,64 ⁺ | 53802095 ⁺ | 1485039 ⁺ | 31077943 ⁺ | 8,53 ⁺ | 31,95 ⁺ | 79,57 ⁺ | 0,04 ⁺ | 1,11 ⁺ | 16,77 ⁺ | 5,13 ⁺ | 30,03 ⁺ |
| QM _{Residuo} | 30 | 0,02 | 0,01 | 2016379 | 41281 | 2012113 | 1,16 | 12,78 | 31,02 | 0,0003 | 0,05 | 0,67 | 0,05 | 1,22 |
| CV (%) | - | 7,77 | 9,60 | 8,62 | 5,75 | 8,38 | 3,85 | 13,95 | 30,29 | 33,47 | 16,62 | 3,97 | 5,17 | 3,26 |
| Média geral | - | 1,83 | 1,01 | 16464 | 3534 | 16919 | 28,04 | 25,63 | 18,39 | 0,06 | 1,34 | 20,56 | 4,48 | 33,93 |
| Amplitude [#] | - | 1,00 | 1,80 | 17948 | 2763 | 13263 | 6,63 | 11,00 | 18,14 | 0,43 | 2,00 | 7,58 | 3,25 | 11,51 |

⁺ = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

[#] = diferença entre a maior e a menor média;

Os 11 iniciadores utilizados geraram um total de 118 marcadores RAPD, dos quais 66 (56%) foram polimórficos, evidenciando a existência de elevada variabilidade genética entre os acessos de mandioca de mesa analisados e a eficiência da técnica de RAPD na detecção da variabilidade genética. A elevada eficiência da técnica de RAPD na detecção de variabilidade entre acessos de mandioca já havia sido relatada por Vieira et al. (2008). Dentre os *primers* utilizados o que evidenciou o maior número de bandas polimórficas foi o OPF-08 com 15 bandas e o que evidenciou o menor número de bandas polimórficas foi o OPH-13 sem nenhuma banda polimórfica (Tabela 2).

A dissimilaridade genética evidenciou que os acessos mais similares foram BGMC 1289 e BGMC 1290 ambos do grupo Taquara Amarela que fenotipicamente também são muito similares e que os menos similares foram BGMC 1250 e BGMC 1246 (Figura 1A).

A análise da Figura 1A revelou a formação de apenas um agrupamento forte, formado pelos acessos BGMC 1289, BGMC 1290, BGMC 1291 e BGMC 1292, esse agrupamento já era esperado em razão desses genótipos pertencerem ao grupo de genótipos conhecidos na região do Cerrado como Taquara Amarela que expressam elevada semelhança fenotípica e elevado potencial de produtividade e qualidade de raízes para o consumo humano *in natura*. Do ponto de vista prático esse resultado evidencia que esses genótipos não são completamente similares em nível de DNA

assim como do ponto de vista agrônomo (Figuras 1A e 1B) e que, portanto possam evidenciar características agrônomicas diferenciadas e que podem vir a ser úteis para o melhoramento genético e para o lançamento desses acessos como novas variedades de mandioca de mesa.

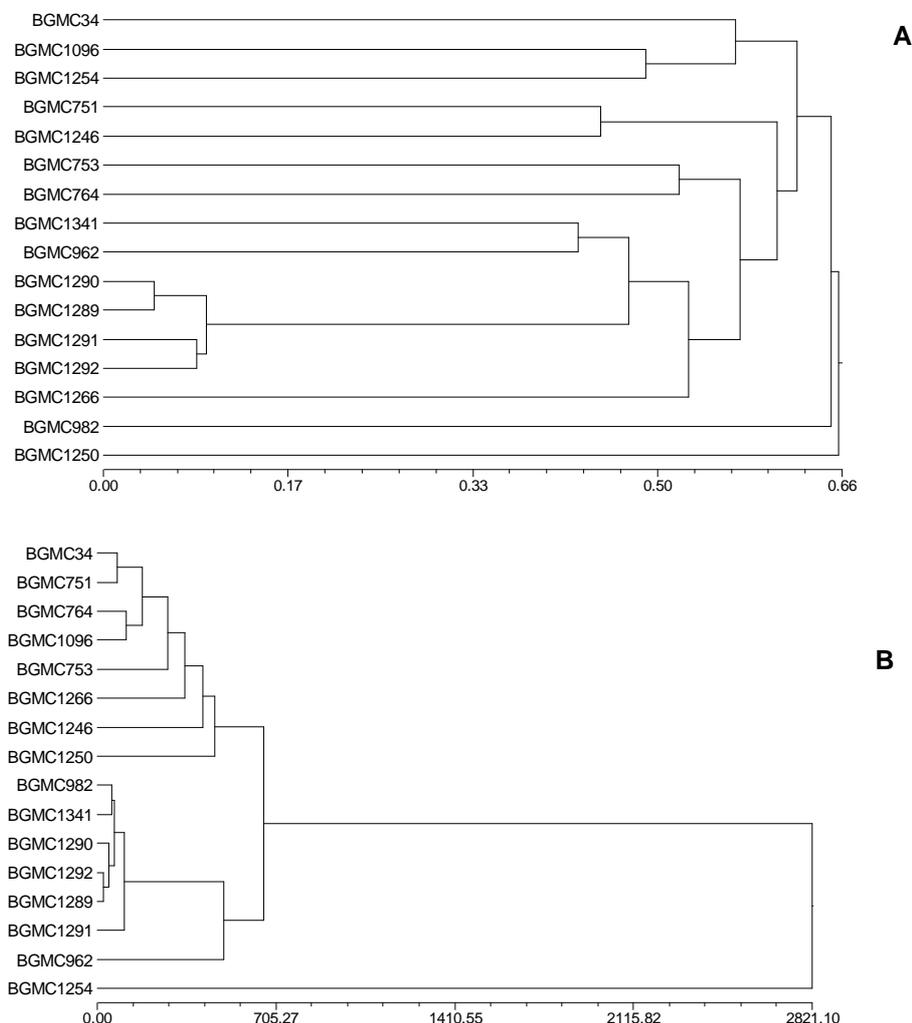


Figura 1. Dendrogramas resultantes da análise de agrupamento de 16 acessos de mandioca de mesa, obtidos pelo método UPGMA, por meio: A) do complemento do índice de similaridade de Jaccard obtido a partir da análise de 66 marcadores RAPD, com coeficiente de correlação cofenética ($r = 0,93$) e B) da distância de Mahalanobis (com base em 13 caracteres agrônomicos) com coeficiente de correlação cofenética ($r = 0,92$).

As matrizes de dissimilaridade genética estimada por meio dos caracteres agrônomicos e dos marcadores RAPD revelaram baixa associação entre si ($r=0,25$). Essa reduzida associação pode ser explicada pelo fato de grande parte da variação detectada pelos marcadores moleculares ser do tipo não adaptativa e, portanto, não sujeita à seleção (natural e artificial), ao contrário dos caracteres indicadores quantitativos aferidos que são sujeitos tanto a seleção natural quanto artificial. Desta forma, fica evidente que as estimativas das distâncias/dissimilaridade genéticas serão tão mais próximas quanto maior for à associação entre os locos que controlam os caracteres quantitativos

estudados (QTLs) e os locos que controlam os marcadores moleculares e caracteres qualitativos avaliados (Roy et al., 2004).

Conclusões

1- Os marcadores RAPD e os caracteres agronômicos revelaram a existência de divergência genética entre os acessos de mandioca de mesa avaliados.

2- As distâncias genéticas estimadas por meio de marcadores moleculares e caracteres agronômicos evidenciaram reduzida associação.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Embrapa, Fundação Banco do Brasil, CNPq e ao Programa Biodiversidade Brasil-Itália pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- AGUIAR, J.L.P.; BARRETO, B.; SOUSA, T.C.; FIALHO, J.F. Cadeia produtiva da mandioca no Distrito Federal: Caracterização do consumidor final. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, XI, 2005, Campo Grande. **Resumos... Campo Grande, MS: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005.**
- CRUZ, C.D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística.** Viçosa: UFV, 2001. 648p.
- RAMOS, J.G.A.; TAKATSU, A. **Avaliação da resistência de cultivares de mandioca à bacteriose em Goiás.** Goiânia: EMGOPA, 1987, 26p.
- ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1.** New York: Exeter Software, 2000. 98p.
- ROY, J.K.; LAKSHMIKUMARAN, M.S.; BALYAN, H.S.; GUPTA, P.K. AFLP-based genetic diversity and its comparison with diversity based on SSR, SAMPL, and phenotypic traits in bread wheat. **Biochemical Genetics**, v.42, p.43-59, 2004.
- VIEIRA, E.A., FIALHO, J.F.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; CARVALHO, L.J.C.B.; SILVA, M.S.; MORAES, S.V.P.; FILHO, M.O.S.S., SILVA, K.N. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** , v.43, p.1707 - 1715, 2008.