**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Diversidade agronômica, bioquímica e molecular de acessos de mandioca
(*Manihot esculenta* Crantz) coletados em diferentes regiões do Brasil**

Thiago Fonseca Mezette

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de Concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2013**

Thiago Fonseca Mezette
Biólogo

Diversidade agronômica, bioquímica e molecular de acessos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) coletados em diferentes regiões do Brasil

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Profa. Dra. **ELIZABETH ANN VEASEY**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de Concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2013**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Mezette, Thiago Fonseca

Diversidade agronômica, bioquímica e molecular de acessos de mandioca
(*Manihot esculenta* Crantz) coletados em diferentes regiões do Brasil / Thiago
Fonseca Mezette.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de
2011. - - Piracicaba, 2013.

112 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Compostos cianogênicos 2. Germoplasma vegetal 3. Mandioca 4. Marcador
molecular 5. Produtividade 6. Vitamina A I. Título

CDD 633.4
M617d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

OFEREÇO,

*Aos meus pais Vitor e Vera pelo apoio incondicional.
Aos meus irmãos Joana e Pedro por sempre estarem presentes em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’ (ESALQ/USP), por todo apoio institucional.

Ao Departamento de Genética da ESALQ/USP pela oportunidade de realização do curso de doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida (Processo nº 2009/00797-0) e pelo auxílio a este projeto (Processo nº 2010/20484-4).

A Professora Dra. Elizabeth Ann Veasey pela impecável orientação, pelo enorme apoio, pela amizade e pela pessoa admirável que é. Muito obrigado pela paciência, respeito e também por nossas incontáveis conversas, sempre muito prazerosas e proveitosas.

A todos os professores do Departamento de Genética da ESALQ/USP, pelos grandes ensinamentos durante este curso.

A pesquisadora Msc. Cássia Regina Limonta Carvalho (IAC) pessoa que muito admiro, e que desde o mestrado vem sempre me ajudando muito, e a quem devo por sempre me apoiar, acreditar e me ensinar como deve ser o comportamento de um pesquisador.

A pesquisadora Dra. Teresa Losada Valle (IAC) sempre disponível a solucionar minhas dúvidas, pela ajuda na escolha e fornecimento do material vegetal e também pelas nossas conversas antes do doutorado, que me permitiram projetar a realização deste trabalho.

Aos pesquisadores Dr. Paulo Roberto Nogueira Carvalho (ITAL) e Dra. Marta Gomes da Silva (ITAL) por se disponibilizarem em me ajudar nas análises de carotenoides pró-vitamínicos.

Aos técnicos de apoio Ronaldo Rabello (ESALQ/USP), Marcos Cella (ESALQ/USP), Sidisnei Quinalha (IAC) e Régia Aparecida (IAC) pela grande ajuda na instalação, condução e colheita do experimento de campo. A técnica em bioquímica Bruna Talita de Souza Leite (IAC) pela grande ajuda em todas as análises bioquímicas.

Aos funcionários do Departamento de Genética. Em especial a Léia, Rogério e Cláudio Segatelli que sempre estiveram disponíveis para ajudar.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Ecologia Evolutiva e Genética Aplicada (LEEGA): Lidinalva, Wellington, Berê, Marcos, Dani, Carol, Jusci, Mari, Sueme, Gabriel, Santiago, Letícia, Aline, Patrícia Favoretto e Nancy. Com alguns convivi por mais tempo, com outros pouco, mas agradeço da mesma maneira por todos os momentos passados juntos.

Cheguei meio perdido e todos me acolheram da melhor forma, me ajudaram e me ensinaram diversas coisas. Muito obrigado pessoal!

Ao Dr. Eduardo de Andrade Bressan pelas orientações nas análises de extração de DNA, avaliação de géis e nas discussões relevantes para a discussão do trabalho.

A todos os amigos e colegas da ESALQ: Mateus, Paulinha, Ilara, Camila.

A Tati Miranda pessoa doce, amiga e extremamente competente. Tati ainda vamos nos encontrar muito!

A Luciana Gonçalves Chaves grande amiga do Departamento de Genética, sempre me ajudando quando fomos representantes discentes e também nas análises estatísticas deste trabalho.

A Ferzinha Raquel amiga de longa data, divertida e que foi uma grande companheira em Piracicaba.

Ao meu grande amigo Rafael Fávero que conheci em Piracicaba, mas que fará parte da minha vida pra sempre.

A Dra. Regina Priolli, minha amiga, por todas as conversas sempre me esclarecendo diversas dúvidas.

Ao pessoal do vôlei: Fabio, César, Fer, Paulinha, Saly, Chiua, Gustavo (*in memoriam*) e tantos outros que me proporcionaram momentos de grande diversão.

Aos amigos de Campinas que entenderam a minha ausência e sempre se fizeram presente em minha vida.

Um agradecimento especial ao Fernando Bosqueiro uma pessoa de imensa importância, que se fez presente e me apoiou incondicionalmente. Muito obrigado Fer!

E a todos que de alguma forma fizeram parte desta fase da minha vida, sempre me apoiando e incentivando. Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO.....	23
1.1 Objetivos.....	24
1.2 Hipóteses	25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
2.1 Origem e domesticação	27
2.2 Variabilidade genética e conservação de germoplasma	29
2.2.1 Caracteres bioquímicos	31
2.2.1.1 Compostos cianogênicos	31
2.2.1.2 Carotenoides nas raízes da mandioca	32
2.2.1.3 Amido	33
2.2.2 Caracteres morfológicos e agronômicos	35
2.2.3 Marcadores moleculares	37
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1 Caracterização do material vegetal.....	41
3.2 Instalação e condução do experimento de campo	43
3.3 Caracterização agronômica	44
3.3.1 Produção	45
3.3.2 Peso da parte aérea e peso total da planta.....	45
3.3.3 Alturas das plantas e da primeira ramificação.....	45
3.3.4 Índice de colheita.....	45
3.4.1 Dosagem dos compostos cianogênicos	46
3.4.2 Teor de matéria seca	47
3.4.3 Carotenoides totais, β -caroteno e vitamina A.....	47
3.4.3.1 Extração dos pigmentos.....	47
3.4.3.2 Dosagem de carotenoides totais	48
3.4.3.3 Dosagem de β -caroteno	48
3.4.3.4 Concentração de vitamina A	48
3.5 Caracterização Molecular	48

3.5.1 Extração e quantificação de DNA.....	48
3.5.2 Genotipagem dos acessos	49
3.6 Análise estatística.....	50
3.6.1 Caracteres agronômicos e bioquímicos	50
3.6.2 Marcadores moleculares	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1 Caracteres agronômicos	53
4.2 Caracteres bioquímicos.....	70
4.3 Caracteres moleculares	83
4.4 Análise conjunta dos caracteres agronômicos, bioquímicos e moleculares	92
5 CONCLUSÕES	99
REFERÊNCIAS.....	101

RESUMO

Diversidade agronômica, bioquímica e molecular de acessos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) coletados em diferentes regiões do Brasil

Uma espécie relevante como fonte alimentícia para a população mundial, principalmente para os países subdesenvolvidos e emergentes, é a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Primariamente, a mandioca é fornecedora de energia a partir do amido acumulado em suas raízes, mas é importante destacar também a presença dos carotenoides com atividade pró-vitâmica A. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi caracterizar a diversidade agronômica, bioquímica e molecular de acessos de mandioca coletados nas regiões Amazônica, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, selecionados a partir da coloração de suas raízes. A caracterização foi realizada a partir de 81 genótipos (33 da região Amazônica, 24 da Centro-Oeste, 18 da Sudeste, quatro da Sul e duas variedade comerciais) utilizando 16 caracteres agronômicos, cinco bioquímicos e 17 locos microssatélites. Para os caracteres agronômicos e bioquímicos foram realizadas análises de variância, teste de Tukey e distância de Mahalanobis considerando a região de origem dos genótipos. Para os marcadores microssatélites foram estimados os índices de diversidade genética, tais como o número de alelos por loco (A), porcentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidades observada (H_o) e esperada (H_e), bem como a estruturação da diversidade entre e dentro de regiões (H_S , H_T , D_{ST} e G_{ST}). Foram também obtidas a análise de agrupamento a partir da distância de Nei e método de Neighbor-Joining, e a estruturação dos genótipos a partir da análise Bayesiana. Além disso, as distâncias genéticas obtidas para os caracteres avaliados foram correlacionadas entre si pelo teste de Mantel. Os resultados obtidos apontam uma alta variabilidade para todos os caracteres avaliados. Para a maioria dos caracteres agronômicos houve variação significativa entre e dentro de regiões. Todos os caracteres bioquímicos apresentaram variação altamente significativa entre e dentro de regiões. Levando-se em consideração os caracteres agronômicos ocorreu uma tendência de agrupamento dos genótipos da Amazônia, sendo que as características que mais determinaram a distribuição dos genótipos foram a altura total da planta, a altura da primeira ramificação, a relação entre essas duas características e o índice de colheita. Para os caracteres bioquímicos ocorreu um agrupamento dos genótipos amazônicos em função da alta concentração de compostos cianogênicos e carotenoides totais. Os marcadores moleculares indicaram alta variabilidade genética ($A = 3,58$; $P = 100\%$; $H_o = 0,535$; $H_e = 0,642$), sendo que a maior parte da diversidade ($H_T = 0,651$) encontra-se distribuída dentro de regiões ($H_S = 0,643$). A partir da análise de agrupamento foi verificada uma tendência de estruturação genética, com o agrupamento da maioria dos genótipos coletados na região Amazônica. A análise Bayesiana indicou a formação de dois grupos, sendo que um dos grupos englobou a maior parte dos genótipos da Amazônia, em concordância com a análise de agrupamento. As correlações entre as distâncias obtidas para todos os caracteres não foram significativas. Considerando o teor de compostos cianogênicos dos genótipos e a distância entre eles a partir dos marcadores microssatélites, foi constada uma tendência de separação entre os genótipos considerados bravos e os mansos. A partir dos resultados obtidos verificou-se que os genótipos da região Amazônica possuem características específicas que permitem o seu agrupamento. Essa tendência de agrupamento ocorre possivelmente devido a um processo de seleção diferenciado a que estes genótipos foram submetidos durante o processo de domesticação da espécie.

Palavras chave: Acessos; Banco de germoplasma; β -caroteno; Caracterização genética; Compostos cianogênicos; *Manihot esculenta*; Produtividade; SSR

ABSTRACT

Agronomic, biochemical and molecular diversity among cassava accessions (*Manihot esculenta* Crantz) collected in different regions in Brazil

A relevant species as food source for the world population, especially for the underdeveloped and emerging countries, is cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Primarily, cassava is a provider of energy from starch accumulated in its roots, but the presence of carotenoids with pro-vitamin A activity is also important. In this context, the objective of this study was to characterize the agronomic, biochemical and molecular diversity of cassava accessions selected for the color of their roots, collected in the Amazon, Central-West, Southeast and South regions in Brazil. The characterization was performed from 81 genotypes (33 from the Amazon region, 24 from Central-West, 18 from Southeast, four from the South and two commercial varieties) using 16 agronomic traits, five biochemical characters and 17 microsatellite loci. For biochemical and agronomic traits analyses of variance, Tukey test and Mahalanobis distances were obtained considering the region of origin of the genotypes. For microsatellite markers, indices of genetic diversity were estimated, such as number of alleles per locus (A), percentage of polymorphic loci (P), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities, as well as the structuring of diversity between and within groups (H_S , H_T , D_{ST} and G_{ST}). Also, a cluster analysis was obtained using the Neighbor-Joining method and Nei's genetic distance, as well as a Bayesian analysis. Moreover, the distances obtained for all characters were correlated using the Mantel test. Results indicate high variability for all characters evaluated. For most of agronomic traits there was significant variation between and within regions. All biochemical characters showed highly significant variation between and within regions. Taking into account the agronomic characters, there was a tendency for the Amazon genotypes to be grouped together, where the characteristics total plant height, height of the first branch, relationship between these characteristics and harvest index were those that mostly determined the genotypes distribution. For the biochemical characters, the Amazon genotypes were also grouped due to the high concentration of cyanogenic compounds and total carotenoids. Molecular markers indicated high genetic variability ($A = 3.58$; $P = 100\%$; $H_o = 0.535$; $H_e = 0.642$), while most of total diversity ($H_T = 0.651$) was found within regions ($H_S = 0.643$). In the cluster analysis a tendency was observed towards a structured genetic variability, with the grouping of most genotypes collected in the Amazon region. The Bayesian analysis separated the genotypes in two groups, with one of the groups including most of the Amazon genotypes, in accordance with the cluster analysis. The correlations between the distances obtained for all characters were not significant. Considering the genotypes content of cyanogenic compounds and the distance between them from the microsatellite markers, a tendency was revealed for the separation between bitter and sweet genotypes. From the results obtained we may conclude that the Amazon genotypes have specific characteristics that allow its separate grouping. This tendency occurs possibly because of a differentiated selection process that these genotypes were submitted during the domestication of the species process.

Keywords: Accessions; β -carotene; Cyanogenic compounds; Genetic characterization; Germplasm bank; *Manihot esculenta*; SSR; Yield

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - (A) Vista do experimento de campo com plantas aos três meses de idade; (B) Vista do experimento de campo, com plantas aos nove meses de idade; (C) e (D) Colheita dos genótipos de mandioca 11 meses após o plantio do experimento, localizado na Fazenda Experimental do Departamento de Genética da ESALQ/USP, distrito de Anhumas, Piracicaba – SP 44
- Figura 2 - Análise de componentes principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18 – verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados pelos caracteres altura total da planta (ATP), altura da primeira ramificação (APR), relação entre a altura da primeira ramificação e altura total da planta (B/A), produção de raízes comerciais (PRC), produção de raízes descarte (PRD), produção total de raízes (PRT), porcentagem de raízes descartadas(D), peso de parte aérea (PePA), peso total da planta (PeTP) e índice de colheita (IC). Piracicaba, 2011 69
- Figura 3 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Mahalanobis baseada em 16 caracteres agronômicos para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011 70
- Figura 4 - Análise de componentes principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18- verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados para os caracteres bioquímicos, matéria seca (M.S.), teor de compostos cianogênicos (HCN), teor de β -caroteno (b-car), teor de carotenoides totais (CT) e vitamina A (Vit A). Piracicaba, 2011 81
- Figura 5 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Mahalanobis baseada em cinco caracteres bioquímicos para os 79 genótipos de mandioca

originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011..... 82

Figura 6 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Rogers modificada por Wrihth baseada em 17 locos de microssatélites para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011 87

Figura 7 – Valores de ΔK para cada valor de K, calculado de acordo com Evanno et al. (2005), sendo que o maior valor de ΔK corresponde ao K ótimo 88

Figura 8 – Análise da estrutura genética de 81 acessos de mandioca originados de diferentes regiões brasileiras a partir de 17 locos microssatélites. Os 81 genótipos foram classificados em dois grupos ($K = 2$). A mesma cor para genótipos diferentes indica que eles pertencem ao mesmo grupo. Cores diferentes no mesmo indivíduo indicam a porcentagem de alelos compartilhados com cada grupo. Os números entre parênteses indicam a região de origem do genótipo: 1 – Amazônia; 2 – Centro-Oeste; 3 – Sudeste; 4 – Sul e; 5 – Variedades comerciais. Piracicaba, 2011 90

Figura 9 – Análise de coordenadas principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18- verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados a partir de 17 locos microssatélites. Piracicaba, 2011 91

Figura 10 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Mahalanobis baseada em dezesseis caracteres agronômicos e cinco caracteres bioquímicos para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011 92

Figura 11 – Análise de componentes principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18-verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados a partir de 16 caracteres agronômicos e cinco bioquímicos. Piracicaba, 201193

Figura 12 – Arvore sem raiz obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Rogers modificada por Wright baseada em 17 locos de microsatélites para os 81 genótipos de mandioca classificados em mandiocas bravas ($> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de polpa fresca) e mansas ($<100 \text{ mg kg}^{-1}$ de polpa fresca). Piracicaba, 201198

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos genótipos de mandioca selecionados para o estudo, pertencentes aos bancos de germoplasma da ESALQ/USP e do IAC.....	41
Tabela 2 - Sequência dos 17 iniciadores (<i>forward/reverse</i>) utilizados para os microssatélites e seus respectivos tamanhos (pb).....	50
Tabela 3 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha^{-1}) e PeRC – peso de raiz comercial (g raiz^{-1}) de mandioca, entre regiões e dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011.....	54
Tabela 4 - Valores médios para as características NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha^{-1}) e PeRC – peso de raiz comercial (g raiz^{-1}) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011	54
Tabela 5 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha^{-1}), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz^{-1}) de mandioca, entre e dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011	55
Tabela 6 – Valores médios para as características NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha^{-1}), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz^{-1}) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011	56

Tabela 7 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características NR – número de raízes por planta, PTR – produção total de raízes ($t\ ha^{-1}$), PeR – peso de raiz ($g\ raiz^{-1}$), D – porcentagem de raízes descartadas e IC – índice de colheita (%) de mandioca, entre de dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011 57

Tabela 8 - Valores médios considerando as características NR – número de raízes por planta, PTR – produção total de raízes ($t\ ha^{-1}$), PeR – peso de raiz ($g\ raiz^{-1}$), D – porcentagem de raízes descartadas e IC – índice de colheita (%) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011 57

Tabela 9 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), PePA – peso da parte aérea ($t\ ha^{-1}$) e PeTP – peso total da planta ($t\ ha^{-1}$) de mandioca, entre e dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011 59

Tabela 10 - Valores médios considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), PePA – peso da parte aérea ($t\ ha^{-1}$) e PeTP – peso total da planta ($t\ ha^{-1}$) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011 59

Tabela 11 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais ($t\ ha^{-1}$), PeRC – peso de raiz comercial ($g\ raiz^{-1}$), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte ($t\ ha^{-1}$), PeRD – peso de raiz descarte ($g\ raiz^{-1}$), NR – número de raízes por cinco plantas, PTR

– produção total de raízes (t ha^{-1}), PeR – peso de raiz (g raiz^{-1}), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha^{-1}), PeTP – peso total da planta (t ha^{-1}) e IC – índice de colheita (%). Piracicaba, 201164

Tabela 12 - Valor e significância do quadrado médio obtido na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando a característica teor de compostos cianogênicos (mg kg^{-1}), entre e dentro de regiões (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 201172

Tabela 13 – Valor médios considerando a característica teor de compostos cianogênicos (mg kg^{-1}), das variedades IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 201172

Tabela 14 - Valores e significâncias dos quadrados médios obtido na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características CT – carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), β -caroteno ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e Vit. A – vitamina A ($\text{UI } 100\text{g}^{-1}$), entre e dentro de regiões (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 201174

Tabela 15 - Valores médio considerando as características CT – carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), β -caroteno ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e Vit. A – vitamina A ($\text{UI } 100\text{g}^{-1}$), das variedades IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 201175

Tabela 16 - Valor e significância do quadrado médio obtido na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando a característica teor de matéria seca (%), entre e dentro de regiões (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 201175

Tabela 17 - Valor médio considerando a característica teor de matéria seca (%) das variedades IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 201176

Tabela 18 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características HCN – teor de compostos cianogênicos (mg kg^{-1}), teor de β -caroteno ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$)

¹), Vit. A - teor de vitamina A (UI 100g⁻¹), CT – teor de carotenoides totais (mg 100g⁻¹) e teor de matéria seca (%). Piracicaba, 2011 78

Tabela 19 – Número de indivíduos analisados (*N*), número médio de alelos por loco polimórfico (*A*), heterozigosidade média observada (*H_o*) e a heterozigosidade média esperada (*H_e*) para os cinco grupos mandioca, relacionados ao local de coleta dos genótipos: AM – região Amazônica; CO – região Centro-Oeste; SE – região Sudeste; S – região Sul; Variedades comerciais. Piracicaba, 2011..... 84

Tabela 20 – Número de indivíduos analisados (*N*), número médio de alelos por loco polimórfico (*A*), heterozigosidade média observada (*H_o*) e heterozigosidade média esperada (*H_e*) para os cinco grupos mandioca, relacionados ao local de coleta dos genótipos: AM – região Amazônica; CO – região Centro-Oeste; SE – região Sudeste; S – região Sul; Variedades comerciais, analisadas por loco. Piracicaba, 2011 85

Tabela 21 – Parâmetros de diversidade genética de Nei (1973) para 17 locos de microssatélites considerando cinco grupos de mandioca: AM – região Amazônica; CO – região Centro-Oeste; SE – região Sudeste; S – região Sul; Variedade comerciais 86

Tabela 22 – Coeficientes de correlação de Pearson para as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹), PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹), NR – número de raízes por planta, PTR – produção total de raízes (t ha⁻¹), PeR – peso de raiz (g raiz⁻¹), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹), PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹), IC – índice de colheita (%), HCN – teor de compostos cianogênicos (mg kg⁻¹), teor de β-caroteno (μg 100g⁻¹), Vit. A - teor de vitamina A (UI 100g⁻¹),

CT – teor de carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) e teor de matéria seca (%).	
Piracicaba, 2011.....	96

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie cultivada mundialmente pertencente à família Euphorbiaceae, adaptada às mais diversas condições edafoclimáticas brasileiras, tolerante a estresses bióticos e abióticos. É uma cultura de grande importância na produção de calorias nos trópicos, onde suas raízes tuberosas (ricas em amido) são utilizadas na alimentação humana e animal ou como matéria-prima para indústrias de farinha e fécula (CEREDA, 2002). É considerado um alimento de subsistência para mais de 500 milhões de pessoas nas áreas tropicais, sendo a produção mundial em 2010 cerca de 229 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2012).

O cultivo da mandioca no Brasil remonta ao período pré-colonial e teve sempre um importante papel na alimentação do povo indígena brasileiro devido à sua grande fonte de carboidratos e às suas múltiplas aplicações junto às populações rurais (MURRIETA, 2001). A mandioca tem características de subsistência nas regiões Amazônica e Nordeste (com cerca de 40% da produção nacional), enquanto na região Centro-sul predominam cultivos estritamente comerciais para a agroindústria de farinha e amido, incluindo o polvilho azedo, mercado hortifrutigranjeiro e indústria de alimentos congelados. A produtividade na região Centro-Sul é 50% superior à média nacional (IBGE, 2012), visto que na última década, houve grandes inovações e atualmente é uma cultura bastante tecnificada comparativamente a outras regiões produtoras em nível nacional e internacional. Utiliza-se de variedades melhoradas, sistemas de produção típicos de agricultura intensiva e razoável nível de mecanização.

O Brasil foi o maior produtor mundial até 1991 quando foi superado pela Nigéria, sendo que sua atual produção é de cerca de 26 milhões de toneladas por ano colocando a cultura da mandioca entre as principais explorações agrícolas do país, sendo a maior parte cultivada por pequenos e médios produtores. Entre as culturas temporárias, ocupa a quinta colocação em termos de valor da produção agrícola brasileira, ficando atrás apenas das culturas de cana-de-açúcar (cerca de 750 milhões de toneladas), soja (cerca de 66 milhões de toneladas) e milho (2ª safra – 34,5 milhões de toneladas e 1ª safra – 34 milhões de toneladas) (IBGE, 2012).

Por ser considerado o seu centro de origem, o Brasil apresenta grande diversidade genotípica para esta espécie, sendo de grande relevância a caracterização dessa diversidade visando a conservação de genótipos e alelos, além de fornecer informações aos programas de melhoramento genético. Essa diversidade genética encontra-se disponível no grande número de variedades cultivadas por agricultores tradicionais, parte delas coletadas e mantidas em bancos de germoplasma. O banco de germoplasma de maior magnitude no Brasil pertence à

Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira (EMBRAPA), com cerca de 3000 acessos. No Estado de São Paulo, duas instituições têm mantido bancos de germoplasma de mandioca, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), com 865 acessos e o Departamento de Genética da ESALQ/USP, com 419 acessos, sendo que essas coleções são formadas fundamentalmente por etnovarietades (GALERA; VALLE, 2007).

Diversas características dos genótipos de mandioca podem fornecer informações para se estimar a diversidade existente entre os genótipos encontrados nos bancos de germoplasma. Dentre eles, podem-se destacar caracteres moleculares, morfológicos e químicos (teor de HCN, teor de carotenoides e teor de amido), além dos agrônômicos que irão subsidiar com informações, os programas de melhoramento genético. Além desse tipo de informação, a avaliação desses genótipos coletados em diferentes regiões brasileiras pode demonstrar uma estruturação espacial desses genótipos, ou seja, essas características podem agrupar os genótipos coletados numa mesma região, diferenciando-os dos demais. Essa estruturação pode inferir em como se fundamentou o processo de seleção realizado pelos habitantes de cada região, ou seja, devido às condições e necessidades de cada região, pode ter ocorrido uma seleção diferencial visando obter genótipos mais adaptados.

1.1 Objetivos

O objetivo geral desse trabalho foi caracterizar a diversidade genética de acessos de mandioca, dos Bancos de Germoplasma do IAC e da ESALQ, originados das regiões Amazônica, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, a partir de análises de caracteres agrônômicos, bioquímicos e da utilização de marcadores microssatélites. Sendo que os objetivos específicos foram:

- Verificar a existência de variabilidade genética entre os genótipos das quatro diferentes regiões brasileiras e dentro de cada região através dos marcadores microssatélites, das características bioquímicas e agrônômicas;
- Determinar os teores de carotenoides totais, β -caroteno e vitamina dos acessos avaliados com a finalidade de se verificar o possível agrupamento dos genótipos de cada região;
- Caracterizar os genótipos quanto ao conteúdo de compostos cianogênicos;
- Verificar se existe uma associação entre os marcadores moleculares e os caracteres bioquímicos, como teores de carotenoides totais, β -caroteno, vitamina A, bem como compostos cianogênicos.

1.2 Hipóteses

- Existe grande variabilidade genética para os marcadores moleculares, agronômicos e bioquímicos entre os genótipos originados de diferentes regiões, em função dos processos de domesticação e seleção praticados pelos moradores de cada região. No entanto, a maior parte da variabilidade encontra-se distribuída dentro de regiões.
- Existem diferenças entre os teores de carotenoides totais, β -caroteno e vitamina A entre os genótipos das quatro regiões.
- Genótipos de mandioca originários da região amazônica apresentam teores de compostos cianogênicos superiores aos das regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origem e domesticação

As plantas cultivadas onde os recursos aproveitados são as raízes e tubérculos se originaram nos trópicos, sendo que a domesticação ocorreu de forma independente em três regiões distintas: Sudeste da Ásia, África (Madagascar) e América Tropical (LÉON, 1977). A América Tropical merece destaque por ser a área onde ocorreu a origem e domesticação da mandioca e da batata (*Solanum tuberosum*) (Clement et al., 2010).

Existem três grandes questões a serem discutidas sobre a origem e domesticação da mandioca (ALLEM, 1999). A primeira seria a sua origem geográfica, ou seja, em qual região da América Tropical surgiu a mandioca. A segunda é onde ocorreu a sua domesticação, e a terceira qual a sua origem botânica, isto é, quais são seus possíveis parentais selvagens.

O gênero *Manihot* consiste de 98 espécies que se distribuem da região central do México até o norte da Argentina, concentrando-se nas regiões centro-oeste mexicana e centro-leste brasileira (ROGERS; APPAN, 1973; OLSEN; SCHAAL, 1999; ALLEM, 2002). De acordo com Allem (2002), o Brasil abriga a grande maioria das espécies, cerca de 68, o que corresponde a 80% da diversidade conhecida. O México vem em seguida com 17 espécies e 15% da diversidade. A maior parte das espécies ocorre no norte da América do Sul, enquanto que um centro secundário de diversidade do gênero ocorre na América Central e no México (OLSEN; SCHAAL, 1999; OLSEN, 2004). Um estudo da distribuição geográfica do gênero realizado por Nassar (2001) concluiu que do total de 98 espécies, 38 ocorrem no sul de Goiás e leste de Minas Gerais, representando, portanto, uma região de alta diversidade do gênero *Manihot*. De acordo com Olsen (2004), o provável centro de origem da mandioca seria a região sudeste da Amazônia.

O gênero *Manihot* foi dividido em dois conjuntos gênicos (ALLEM et al., 2001). O conjunto gênico primário inclui as espécies que se inter cruzam com facilidade, gerando híbridos férteis, como as espécies *M. esculenta* ssp. *esculenta*, *M. esculenta* ssp. *flabellifolia*, *M. esculenta* ssp. *peruviana* e *M. pruinosa*. O conjunto gênico secundário, que envolve as espécies que se cruzam mas são distantes geneticamente, inclui as espécies: *M. triphylla*, *M. pilosa*, *M. brachyloba*, *M. anomala*, *M. epruinosa*, *M. gracilis*, *M. tripartita*, *M. leptophylla*, *M. pohlii*, *M. glaziovii*, *M. dichotoma*, *M. aesculifolia* e *M. chlorosticta*.

Segundo Hershey e Amaya (1982), a mandioca não se encontra sob a forma silvestre e aparentemente evoluiu como uma espécie cultivada, por seleção natural e com o cuidado do homem. Rogers e Appan (1973) sugeriram que as espécies *M. aesculifolia*, *M. rubricaulis* e *M. pringlei* são os parentes mais próximos da mandioca, pois essas espécies apresentam o

hábito de crescimento ereto e raiz tuberosa rudimentar. Mas de acordo com Nassar (1978), as espécies *M. aesculifolia* e *M. pringlei* não contribuíram na formação genética da espécie cultivada e, possivelmente elas se originaram do cruzamento entre a mandioca e uma espécie do gênero encontrada no México.

Uma revisão das possíveis espécies envolvidas na ancestralidade da mandioca foi realizada por Allem (1999). O autor considera *M. esculenta* ssp. *flabellifolia* como o progenitor selvagem dos cultivares modernos, sendo, desta maneira, o pool gênico primário (GP1) da cultura. Já *M. pruinosa* é considerada a espécie mais próxima do GP1 da mandioca e é dificilmente separada morfológicamente de *M. esculenta* ssp. *flabellifolia*. Olsen e Schaal (2006), em estudos com sequências de marcadores moleculares, chegaram à mesma conclusão de Allem (1999): a mandioca possui um simples genitor selvagem, *M. esculenta* ssp. *flabellifolia*, encontrada ao longo da fronteira meridional da Bacia Amazônica, em uma região de transição de vegetações (Cerrado e Floresta Amazônica) que incluem os Estados do Mato Grosso, Rondônia e Acre. Essa parece ser a teoria mais aceita atualmente.

Diferente do que ocorreu com os cereais, a mandioca não sofreu cruzamentos artificiais no início da sua domesticação pelos ameríndios. Manivas foram selecionadas de plantas produtivas e saborosas, e então propagadas (BOX; BOX-LASOCKI, 1982). Segundo Carvalho (2005), existe distinções morfológicas entre o ancestral da mandioca e as cultivares modernas que permitiram descrever a síndrome de domesticação ao longo da evolução da mandioca. Essa síndrome se baseou nos efeitos ambientais que causaram mudanças no hábito de crescimento diferenciado entre estas espécies, por efeitos de escolha da planta pelo uso da raiz de reserva e finalmente por consequência do processo de propagação vegetativa, causando uma reduzida capacidade de floração e formação de sementes nas variedades modernas (CARVALHO, 2005).

A espécie ancestral da mandioca (*Manihot esculenta* ssp. *flabellifolia*) cresce na forma de trepadeira (cipó) no seu ambiente natural e não produz raiz de reserva comestível. Com a remoção da floresta, uma nova população de plantas idênticas surge pela rebrota e/ou germinação de sementes na forma de arbusto e com formação de raiz de reserva com pequena quantidade de amidos e muita fibra. Além disso, a escolha de uma raiz de reserva com maior quantidade de amido, menor quantidade de fibra e variantes na coloração da mesma, pode ser um indício dos eventos iniciais da síndrome de domesticação (CARVALHO, 2005).

Ainda sobre a síndrome de domesticação, Santos e Mühlen (2007) mostraram também uma modificação do padrão de germinação das sementes da espécie cultivada em relação à espécie selvagem, sendo do tipo hipógeo nas sementes das plantas silvestres (*M. esculenta*

ssp. *flabellifolia*), com os cotilédones atuando como órgãos de reserva para o desenvolvimento inicial da plântula, e do tipo epígea nas plantas domesticadas (*M. esculenta* ssp. *esculenta*), com os cotilédones foliáceos e fotossintetizantes.

Uma pergunta que pode ser feita é quais fatores que tornaram a mandioca um alimento importante, ao passo de domesticá-la? De acordo com Fausto (2006) são seis possíveis respostas: 1) a planta cresce em qualquer tipo de solo; (2) suas variedades resistem bem às variações pluviométricas; (3) seu *veneno* pode ser uma importante defesa natural contra a predação animal; (4) além de armazenada na farinha, ela pode ser estocada *in natura* (na terra), servindo como reserva alimentar para povos nômades; (5) o modo de reprodução vegetativo facilita a propagação pelos humanos; e (6) a mandioca é rica em carboidratos, fornecendo uma excelente combinação carboidrato-proteína com a carne da caça e pesca.

A domesticação da mandioca ocorreu simultaneamente em várias áreas da América do Sul. Após o descobrimento da América houve uma rápida dispersão da espécie pelos portugueses, que levaram no século XV, clones de mandioca para o continente africano, onde se desenvolveu com grande sucesso. Atualmente a África é considerada um centro secundário de diversidade. A partir daí, comerciantes e conquistadores levaram as espécies de mandioca para o sudeste asiático sendo introduzida no sul da Índia (HERSHEY, 1994). Já Nassar (2001) sugeriu que a domesticação da mandioca ocorreu no norte da Amazônia brasileira, levando em consideração os estudos sobre migração indígena desde a América do Sul até as Antilhas, principalmente de grupos Tupi e Guarani.

2.2 Variabilidade genética e conservação de germoplasma

A genética de populações, no sentido mais amplo, é o estudo das variações genéticas que ocorrem entre os organismos (HARTL, 2008). Para que ocorra evolução a variação é fundamental, tendo em vista que a seleção natural irá atuar sobre as variações entre os indivíduos de uma população em função da adaptação ao ambiente, levando a variação entre populações e também entre espécies (TORGGLER et al., 1995). Desta forma, quanto maior a variabilidade genética existente na população, maiores são suas chances de sobrevivência. De acordo com Yeeh et al. (1996), a manutenção da variabilidade genética é a base da conservação das espécies, conseqüentemente, para uma conservação mais efetiva a sua caracterização é fundamental. Além deste aspecto, a caracterização também é importante sob o ponto de vista do melhoramento genético, que busca genótipos de interesse para serem selecionados (TORGGLER et al., 1995).

Para as necessidades atuais e em médio prazo visando o melhoramento de mandioca, a mais importante reserva genética localiza-se nas etnovariedades da própria espécie. Essa diversidade genética encontra-se disponível no grande número dessas variedades cultivadas por agricultores tradicionais (MARTINS, 2001; PERONI; HANAZAKI, 2002; PEREIRA, 2008; SIQUEIRA et al., 2009, 2010; ALVES-PEREIRA et al., 2012), parte delas coletadas e mantidas em bancos de germoplasma (GALERA; VALLE, 2007).

Estudos relacionados ao levantamento de etnovariedades de mandioca e sobre os sistemas agrícolas tradicionais são de grande importância para orientar programas efetivos de conservação de germoplasma (MÜHLEN et al., 2000). Apesar de haver uma constante ameaça de perda de diversidade genética da mandioca, constantemente ocorre o surgimento de novas variedades, vindas de sementes, que são incorporadas pelos agricultores. Este fato juntamente com as trocas de variedades realizadas pelos agricultores pode explicar a grande heterogeneidade da cultura (EMPERAIRE et al., 2001; PUJOL et al., 2002; EMPERAIRE; PERONI, 2007; ALVES-PEREIRA et al., 2012).

Dentre as duas principais estratégias de conservação de germoplasma (*in situ* e *ex situ*), a menos onerosa é a primeira. Além de ser mais barata, a conservação *in situ*, junto às roças de agricultores tradicionais, desta forma chamada de conservação *on farm*, é de fundamental importância não só do ponto de vista genético, mas também para a segurança alimentar e preservação do patrimônio cultural (AMOROZO, 2000). A conservação dos recursos genéticos *on farm* tem papel fundamental, dado em conta o estreitamento da base genética das espécies cultivadas que vem ocorrendo nos últimos anos, e as limitações da conservação *ex situ*, demasiadamente onerosa e de difícil manutenção. Além disso, a manutenção da diversidade genética dos agroecossistemas tradicionais contribui para a adaptabilidade das populações humanas, uma vez que fornece garantias de sobrevivência para o agricultor, desta forma evitando o êxodo rural (AMOROZO, 2000).

Quanto à conservação *ex situ*, também de fundamental importância, o principal banco de germoplasma de mandioca com esse tipo de conservação encontra-se no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) na Colômbia, com 6000 acessos (CIAT, 2008). No Brasil há diversos bancos de germoplasma de mandioca ativos com o objetivo de manutenção dessa valiosa variabilidade genética, dentre eles se destaca o da Embrapa Mandioca e Fruticultura que conta com mais 3000 acessos. No Estado de São Paulo, duas instituições têm trabalhado com recursos genéticos de mandioca, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e o Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) (GALERA; VALLE, 2007). O banco de germoplasma de mandioca

do IAC possui atualmente 865 acessos e a coleção do Departamento de Genética da ESALQ/USP, 462 acessos, sendo que essas coleções são formadas fundamentalmente por etnovariedades. Considerando as duas coleções, são acessos dos principais ecossistemas brasileiros: amazônico, cerrado, semi-árido e da região subtropical, tratando-se, desse modo, de coleções com grande diversidade genética.

Comparativamente a outros bancos, o nível de diversidade genética mantido na coleção do IAC é da magnitude de bancos com dimensões mundiais, conforme avaliações feitas por Colombo (1997) através de marcadores moleculares. Caracteriza-se pela disponibilidade de fontes de resistência à bacteriose, qualidade culinária e tolerância a frio (VALLE et al., 1995). Vale ressaltar que o IAC, além de acumular um acervo genético que o faz um centro de referência de mandioca no mundo, desenvolveu técnicas de melhoramento inéditas e por meio deste germoplasma, obteve variedades de alto desempenho agrícola.

A diversidade genética entre os acessos num banco de germoplasma de mandioca pode ser determinada em função de diferentes caracteres e/ou marcadores, dentre os quais podemos citar como mais importantes os caracteres bioquímicos, os morfológicos e agrônômicos, bem como os marcadores moleculares, conforme relatados a seguir.

2.2.1 Caracteres bioquímicos

2.2.1.1 Compostos cianogênicos

As variedades de mandioca são classificadas comumente em bravas e mansas. As bravas têm sabor amargo, contêm alto teor de glicosídeos cianogênicos (superior a 100 mg de equivalente HCN/kg de polpa fresca de raiz) e são consumidas após serem processadas na forma de farinha, fécula e outros produtos. As mansas, doces, macaxeira ou aipim não têm sabor amargo, contêm baixo teor de glicosídeos cianogênicos (menor que 100 mg de KCN/kg), são consumidas com ou sem qualquer processamento, principalmente na culinária diária (VALLE et al., 2004). Mandiocas bravas e mansas são também denominadas de “amarga” e “doce”, cuja diferenciação é feita pelo conhecimento popular (ELIAS et al., 2004).

Renvoize (1972) considerou a possibilidade das mandiocas doces terem sido inicialmente domesticadas na América Central, e o tipo amargo ter sido domesticado no norte da América do Sul. Os subsequentes contatos entre os povos indígenas das duas regiões teriam favorecido a difusão dos dois tipos. O autor também relata que embora existam várias espécies do gênero *Manihot* no Brasil, é pouco provável que a mandioca amarga tenha sido domesticada aqui. A expansão de variedades de mandiocas amargas foi maior do que as

mansas, sendo que isso aconteceu devido à mandioca amarga possuir maior tolerância aos seus predadores, isso por causa do alto teor de ácido cianídrico na sua composição, sendo que as variedades de mandiocas mansas são mais suscetíveis (GALERA, 2008).

Utilizando marcadores moleculares, alguns trabalhos foram desenvolvidos para determinar a estruturação genética dos grupos de mandiocas mansas e bravas (FARALDO, 1999; MÜHLEN et al., 2000; ELIAS et al., 2004; MUHLEN et al., 2005, PERONI et al., 2007). No estudo desenvolvido por Peroni et al. (2007) foram avaliadas utilizando locos microssatélites etnovarietades classificadas em mansas e bravas pelos agricultores tradicionais da região litorânea do Estado de São Paulo. Os resultados obtidos neste estudo verificaram uma alta diversidade genética dentro de cada grupo, sendo que uma maior diversidade foi encontrada dentro do grupo das mansas ($H_s = 0,654$). Foram estimados os valores do coeficiente de diferenciação genética entre grupos ($G_{ST} = 0,048$) e a divergência genética entre populações ($R_{ST} = 0,057$; $P < 0,001$), demonstrando que apesar da maior diversidade entre as variedades mansas, a divergência entre os grupos foi significativa mesmo sendo baixa, sendo que a maior parte da diversidade genética encontra-se dentro dos grupos.

2.2.1.2 Carotenoides nas raízes da mandioca

Hoje em dia está estabelecido que a mandioca é primeiramente produtora de calorias, embora existam alguns genótipos que contêm outros nutrientes importantes. Sabe-se também que existem variedades de mandioca com concentrações relativamente altas de pró-vitamina A nas raízes e com antecedentes genéticos de desempenho agrônômico aceitável (CEBALLOS, s.d.).

Variedades de mandioca com polpa de coloração amarela são bem conhecidas e muito utilizadas. A coloração da polpa deve-se à presença de carotenoides que são pigmentos naturais, encontrados na maioria dos tecidos vegetais, embora possam também ser encontrados, em menor proporção, no reino animal (AMBRÓSIO et al., 2006). A importância conferida a esses pigmentos aplica-se tanto pela sua característica corante como pela sua participação nutricional, através de suas transformações, no organismo animal, em vitamina A. É uma classe composta por aproximadamente 600 estruturas químicas, dentre as quais perto de 20 estão presentes nos alimentos e um número de estruturas, muito menor do que este, apresenta atividade vitamínica (CARVALHO, 1996).

O primeiro trabalho em que se determinou a presença de carotenos em mandioca foi o de Maravalhas, realizado em 1964 (ORTEGA-FLORES, 1991). Este autor verificou a presença de carotenoides em variedades amazônicas de mandioca, constatando a

predominância de α -caroteno. Penteado (1987) e Ortega-Flores (1991), avaliando os teores de carotenoides com atividade pró-vitamínica em variedades de mandioca do Estado de São Paulo, verificaram que os principais carotenoides presentes nas raízes dessas variedades foram o trans- β -caroteno e os seus isômeros neo- β -caroteno B e neo- β -caroteno U. Essas autoras demonstraram que o cozimento promoveu uma diminuição da atividade pró-vitamínica A das cultivares analisadas.

Iglesias et al. (1997), estudando o potencial genético e a estabilidade dos carotenoides em raízes de mandioca, verificaram que a presença de carotenoides nas raízes é determinada por dois pares de genes, sendo um responsável pelo transporte dos carotenoides até as raízes e outro pelo acúmulo dos pigmentos. Ainda segundo Iglesias et al. (1997), apesar da existência da correlação entre a cor da polpa da raiz e a presença de carotenoides, devem-se realizar análises qualitativa e quantitativa dessas substâncias, visto que nem todos os carotenoides possuem atividade vitamínica. Portanto, com a finalidade de aumentar a eficiência da seleção, essas avaliações químicas possibilitarão um aumento da qualidade nutricional de futuras variedades de mandioca. Chávez et al. (2005), ao avaliarem características de qualidade da raiz de mandioca, observaram que os teores de carotenoides variaram muito (0,102 a 1,040 mg 100 g⁻¹ de tecido fresco) entre os mais de 2 mil genótipos avaliados. Os autores verificaram que os teores de carotenoides correlacionaram com a cor das raízes ($p = 0,860$) e com o potencial cianogênico ($p = 0,305$).

Em um trabalho visando selecionar variedades de mandioca de mesa com altos teores de carotenoides, Mezette et al. (2009) verificaram que a seleção inicial feita em função da coloração amarela das raízes possibilitou obter genótipos com elevados teores de carotenoides totais (acima de 1000,00 $\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$), sendo que o carotenoide de maior predominância foi o β -caroteno.

2.2.1.3 Amido

A mandioca é intrinsecamente uma fonte de matéria-prima amilácea. As raízes têm entre 30 e 40% de matéria seca e cerca de 90% de amido. O amido é uma matéria-prima de amplo uso pela sociedade moderna. Tem propriedades tecnológicas extremamente diversificadas, é de baixo custo e abundante. A sua importância deve-se ao grande volume consumido na indústria alimentícia, têxtil, de papel e celulose, dentre outras, e aos produtos com características peculiares, com comportamento similar à borracha e ao plástico e a resistência a altas temperaturas. Os grãos de amido são formados por amilose e amilopectina, ambos polímeros de D-glicose, cuja proporção é variável em função da fonte botânica.

As principais fontes de amido são o milho, batata, mandioca e trigo, mas o mercado é quase que totalmente dominado pelo milho. O amido de milho tem um amplo leque de aptidões tecnológicas obtidas através de modificações genéticas, químicas e físicas ou combinadas entre si. A mais importante alteração foi a descoberta dos genes Wx (waxy) que produzem amido com 100% de amilopectina e a criação de variedades comerciais com essa característica. O amido do milho waxy (ceroso) tem características similares aos de batata e de mandioca e o substituíram em muitos processos principalmente na indústria alimentícia, sendo que a sua principal vantagem é conferir resistência a retrogradação quando estocadas a baixas temperaturas (SHANNON; GARWOOD, 1984). Atualmente, esses genes são conhecidos em sorgo, arroz e outros cereais. Genes ae (amilose-extender) em milho estão associados a amido naturalmente modificados com até 85% de amilose; também são conhecidos em ervilha e cevada (SHANNON; GARWOOD, 1984). A amilose tem características hidrofóbicas similares à celulose e é cogitada para substituir derivados de petróleo, como plásticos, com a vantagem de ser biodegradável.

Um fator que tem grande importância na qualidade do amido, do ponto de vista tecnológico, é a influência da relação amilose/amilopectina, a qual afeta a viscosidade do amido, afetando conseqüentemente a qualidade do alimento que o utiliza como ingrediente. A proporção de amilose/amilopectina irá conferir características específicas à pasta de amido, resultantes das diferentes propriedades dessas moléculas, sendo que amidos que possuem maior concentração de amilopectina apresentam maior viscosidade (SARMENTO, 1997).

É possível supor que exista variabilidade genética para o controle da relação amilose/amilopectina no germoplasma de mandioca e, por conseguinte, na aplicabilidade do amido. Vários grupos de habitantes nativos da América tinham a mandioca como alimento básico, assim como uma grande diversidade de uso na preparação de alimentos, indicando a especificidade dos vários genótipos cultivados. Até os dias atuais alguns poucos agricultores das populações autóctones (AMOROZO, 1996; PERONI; HANAZAKI, 2002) e indígenas (KERR; CLEMENT, 1980) mantêm o hábito de cultivar grande número de genótipos para fins específicos. A assimilação da mandioca na alimentação dos colonizadores europeus reduziu as formas de uso, atualmente restritas à produção de farinha, polvilho (amido) e consumo “in natura”. É possível que as relações amilose/amilopectina encontradas atualmente sejam as mais favoráveis para essas finalidades, tendo havido uma seleção dirigida para estes usos, que teria se fixado através da propagação vegetativa.

A possibilidade de se encontrar variabilidade genética para a relação amilose/amilopectina no germoplasma de mandioca poderia abrir novas perspectivas para a

seleção de variedades com qualidade de amido diferenciada, modificados naturalmente, para atender o crescente mercado consumidor, extremamente exigente e competitivo. Genótipos mutantes para qualidade de amido também são úteis para ampliar o conhecimento da fisiologia da síntese de amido e gerar conhecimentos que poderiam facilitar o melhoramento por métodos tradicionais e de engenharia genética. Levantamento feito no Estado de São Paulo junto às indústrias de alimentos, têxtil e de papel que utilizam amido, revela a preferência deste setor pelo amido de mandioca em relação aos demais de mesmo preço, indicando uma elevação do consumo deste produto (SILVA et al., 1997).

2.2.2 Caracteres morfológicos e agronômicos

Os marcadores genéticos têm uma aplicação muito importante na administração de recursos genéticos, além de proporcionarem dados básicos que são necessários ao melhoramento de plantas ou para o mapeamento de genes. As variações fenotípicas desempenham um importante papel na definição e no alcance dos objetivos do melhoramento de uma espécie (BAENZIGER; PETERSON, 1992; HALLAUER, 1992). Em função do crescimento da população humana e as modificações do meio ambiente, a variação fenotípica em bancos de germoplasma deve ser explorada de forma a atender as futuras necessidades da alimentação humana (FREY, 1992).

A utilização de caracteres morfo-agronômicos serve para caracterizar a variabilidade de uma espécie, identificar e catalogar acessos de germoplasma, e fornecer informações para os programas de melhoramento na determinação de parentais divergentes em programas de melhoramento genético a fim de se gerar ampla variabilidade genética passível de seleção (RAMALHO, 1994).

As características morfológicas são os marcadores mais comumente utilizados na caracterização da diversidade genética de bancos de germoplasma das mais diversas culturas. Suas principais vantagens residem no fato de serem simples, rápidos, e com baixo custo de análise (BRETTEING; WIDRLECHENER, 1995). Já os caracteres agronômicos são de grande importância econômica para a cultura e apresentam uma variação fenotípica não somente determinada pelos genes dos indivíduos, mas também influenciada pelo ambiente (BORÉM, 1997).

Em estudos com mandioca diversos trabalhos apresentam a caracterização morfológica como forma de determinação da diversidade genética entre genótipos coletados nas mais diferentes regiões do país (PERONI et al., 1999; SAMBATTI et al., 2001; VIEIRA

et al., 2008; KVITSCHAL et al., 2009; ALBUQUERQUE et al., 2009; RIMOLDI et al., 2010; SIVIERO; SCHOTT, 2011).

No trabalho realizado por Peroni et al. (1999) os autores avaliaram 20 amostras de quatro etnovariedades de mandioca cultivadas por uma única família da comunidade de Ariri (distante a 60 km ao sul de Cananéia-SP), a partir de 21 caracteres morfológicos. Os autores concluíram que existe grande diversidade, que as etnovariedades são morfológicamente distintas e que os agricultores são coerentes na separação das amostras e de suas etnovariedades. Vieira et al. (2008) avaliaram oito acessos de mandioca mantidos no Banco Regional de Germoplasma de Mandioca do Cerrado a partir de 33 caracteres morfológicos. Do total de caracteres avaliados 22 apresentou variabilidade entre os acessos, o que revelou ampla divergência entre eles.

Os caracteres agronômicos são importantes quando se visa os programas de melhoramento de mandioca e lançamento de futuras variedades (VILELLA et al., 1985; LORENZI et al., 1988; VIDIGAL FILHO et al., 2000; BORGES et al., 2002; RIMOLDI et al., 2003; NEBIYU, 2006; VIDIGAL FILHO et al., 2007; VIEIRA et al., 2008; OJULONG et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2009; MEZETTE et al., 2009; RIMOLDI et al., 2010; SIVIERO; SCHOTT, 2011; KAWUAKI et al., 2011).

Em um estudo cujo objetivo era indicar variedades de mandioca para o consumo humano, Borges et al. (2002) avaliaram 20 variedades de mandioca para produtividade, teores de amido, matéria seca e HCN das raízes, tempo de cocção e deterioração pós-colheita. Os resultados obtidos demonstraram variação significativa para todas as características. Para produtividade a variação foi de 8,0 t ha⁻¹ (variedade Matrincha) a 25,3 t ha⁻¹ (IAC 12-442). Para teor de matéria seca a variedade IAC 12-442 apresentou a menor concentração (29,5%) e a variedade Amansa burro a maior (38,2). Para o teor de HCN a variação foi de 35,2 mg kg⁻¹ (variedade Três meses) a 209,4 mg kg⁻¹ (Cenoura rosada). Os resultados indicaram que era possível o lançamento de variedades, em função de duas variedades (Três meses e Caiabana) apresentarem o maior número de características favoráveis para o consumo humano.

Nebiyu (2006) avaliando 13 caracteres agronômicos em 36 acessos de germoplasma de mandioca originários da Etiópia observou variação significativa para a maioria das características, entre elas número de raízes por planta (com variação entre 6,3 e 16), massa de raiz (0,8 kg a 3,2 kg) e teor de matéria seca (30,4% a 44,4%). Rimoldi et al. (2010) avaliaram a similaridade genética entre 14 cultivares de mandioca a partir de 12 caracteres morfo-agronômicos e concluíram que dois cruzamentos seriam promissores (cultivares Branca 3 versus Pão e Amarela 1 e Fécula Branca versus Amarela 2) por apresentarem alta divergência

genética e favoráveis características agronômicas, culinárias e resistência a doença em pelo menos um dos parentais envolvidos no cruzamento.

Kawuaki et al. (2011) realizaram um estudo para avaliar a variação fenotípica a partir de 29 caracteres morfológicos e quatro agronômicos (porcentagem de matéria, índice de colheita, retenção de folha e espessura do córtex da raiz), em programas de melhoramento de seis países da África (Uganda, Quênia, Tanzânia, República Democrática do Congo, Ruanda e Madagascar). Os resultados obtidos indicaram que os caracteres morfológicos não foram eficientes na discriminação dos genótipos. Já para os caracteres agronômicos foi encontrada variação genética substancial para ser utilizada nos programas de melhoramento. Para teor de matéria seca a média mais alta foi encontrada em Uganda (39,3%) e a menor na Tanzânia (30,1%).

2.2.3 Marcadores moleculares

Além de aspectos morfológicos, agronômicos e químicos, a diversidade genética pode ser medida baseada na utilização de marcadores moleculares. Com as contribuições da informática e das novas técnicas de genética molecular possibilitou-se a exploração dos chamados marcadores de DNA que são extremamente úteis na identificação e caracterização molecular de indivíduos e no melhoramento genético (VIANA et al., 2003). Os marcadores moleculares têm sido empregados em trabalhos para caracterizar genotipicamente populações que dividem ou não o mesmo habitat, refletindo ou não semelhanças genéticas. Os marcadores moleculares estão facilitando a realização de estudos de genética, taxonomia e evolução de plantas proporcionando um substancial avanço no conhecimento científico. As principais implicações deste avanço no conhecimento se refletem no poder, precisão e rapidez na manipulação da variabilidade genética. Assim, o melhoramento de plantas pode beneficiar de várias maneiras através dos marcadores moleculares (VIANA et al., 2003).

Marcadores moleculares, como RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) e microssatélites têm sido utilizados com sucesso no estudo da variabilidade genética da mandioca (BREECHING et al., 1993; COLOMBO et al., 1998, 2000; CARVALHO et al., 2000; ELIAS et al., 2000; CARVALHO; SCHAAL, 2001; OLSEN; SCHAAL, 2001; ASSANTE; OFDEI, 2003; FREGENE et al., 2003; ELIAS et al., 2004; LOKKO, et al., 2006; KIZITO et al., 2007; MOYIB et al., 2007; RIMOLDI et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2009, 2010 e 2011; LEKHA et al., 2011; VIEIRA et al., 2011; ALVES-PEREIRA et al., 2012). Colombo et al. (2000) estudaram a estruturação genética de etnovariedades de mandioca provenientes de diversos locais das Américas, e que

já haviam sido estudadas anteriormente por meio de RAPD (Colombo et al., 1998), utilizando neste trabalho AFLP. Encontraram importante estruturação em etnovariedades provenientes da região do Médio Rio Negro, Amazonas, e obtiveram resultados semelhantes ao trabalho anterior, revelando similaridade entre os dois marcadores na diferenciação genética. Carvalho et al. (2000) utilizaram descritores morfológicos e marcadores moleculares (RAPD) para avaliar a diversidade genética de 94 acessos de mandioca, concluindo que o RAPD é eficiente para a discriminação da variação genética, especialmente quando usado em conjunto com descritores morfológicos. Os autores compararam marcadores RAPD e microssatélites para avaliar a distribuição genética entre acessos de germoplasma de sete diferentes habitats brasileiros. O nível de polimorfismo variou com o tipo de marcador, sendo alto nos dois. Entretanto, a diversidade nucleotídica (valor P_i) foi 0,3% mais alta no RAPD que nos microssatélites, indicando que os dois marcadores afetam diferentes regiões no genoma da mandioca. Rimoldi et al. (2010) avaliaram 14 cultivares de mandioca a partir de primers de RAPD que amplificaram 119 bandas, com média de 9,2 bandas por primer. Do total de primers 83,2% apresentaram polimorfismo. Pelo coeficiente de dissimilaridade de Jaccard verificou-se menor divergência entre as variedades Guáira e Quarenta Quilos ($d_{ii} = 0,234$) e a maior divergência entre as variedades Branca 3 e Amarela da Rama Cinza ($d_{ii} = 0,580$).

Microssatélites, ou sequências simples repetidas (SSR), são pequenas sequências com um a quatro nucleotídeos de comprimento, repetidas em tandem (em sequência). Em genomas de eucariotos, estas são muito mais frequentes, distribuídas ao acaso e formam locos genéticos muito mais polimórficos do que os locos hipervariáveis constituídos de minissatélites. Os microssatélites têm sido amplamente utilizados em estudos genéticos, com aplicações em muitas áreas de pesquisa, incluindo genética da conservação, genética de populações, melhoramento molecular e testes de paternidade (OLIVEIRA et al., 2006). Esses marcadores são baseados em reações de amplificação baseados em PCR podendo ser realizadas com pequenas quantidades de DNA, sendo os produtos de amplificação visualizados em géis de agarose (apresentam um limite de resolução acima dos quatro pares de base) ou poliacrilamida desnaturante (permite a separação de fragmentos que diferem em apenas um par de bases) (AGARWAL et al., 2008).

Os SSR revelam polimorfismo em um loco devido a diferenças no tamanho dos alelos que decorre do número de vezes em que uma determinada repetição é encontrada. Essas variações no número de repetições constituem, em última análise, variações no comprimento do segmento detectado pela PCR e na separação de fragmentos amplificados em gel de eletroforese (BUSO et al., 2003). As maiores vantagens dos microssatélites é o seu elevado

polimorfismo revelado e o fato de ser um marcador codominante. Outra vantagem é o fato de os SSR serem muito frequentes e distribuídos ao acaso, permitindo uma boa cobertura de qualquer genoma eucarioto. Estas características fazem dos microssatélites marcadores ideais para mapeamento genético e físico de genomas, para a identificação e discriminação de genótipos e estudos de genética de populações (AGARWAL et al., 2008).

Em estudos de mandioca, este marcador tem sido utilizado principalmente para a detecção de polimorfismo, estudos de evolução, origem e domesticação, estudos de herança e variabilidade, estudos do sistema reprodutivo, mapeamento do genoma, e caracterização e identificação de acessos e etnovariedades presentes nos bancos de germoplasma (MÜHLEN et al., 2000; OLSEN; SCHAAL et al., 2001; FARALDO et al., 2002; FREGENE et al., 2003; MKUMBIRA et al., 2003; BRESSAN et al., 2004; ELIAS et al., 2004; PERONI et al., 2007; MOYB et al., 2007; ROCHA et al., 2008; PEREIRA, 2008; SIQUEIRA et al., 2009, 2010, 2011; LEKHA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; ALVES-PEREIRA et al., 2012).

No estudo realizado por Siqueira et al. (2009), avaliando etnovariedades originadas de diferentes regiões brasileiras, os microssatélites utilizados apresentaram polimorfismo médio de 95,5%, média de alelos por loco polimórfico de 3,3 e diversidade gênica (H_e) de 0,570. Na avaliação de etnovariedades originadas do Cerrado do Mato Grosso do Sul por Siqueira et al. (2010), os resultados foram bastante parecidos com média de polimorfismo dos microssatélites igual a 96,8%, média de número de alelos por loco polimórfico de 3,55 e H_e igual a 0,560. Na avaliação de variedades comerciais de mandioca utilizadas para consumo in natura e para a indústria (SIQUEIRA et al., 2011), novamente os resultados se repetiram com 100% locos polimórficos, 3,4 alelos por loco polimórfico e alta diversidade gênica ($H_e = 0,555$), observando-se diversidade gênica mais elevada para as variedades de mesa, de consumo in natura quando comparadas às variedades para a indústria.

Alves-Pereira et al. (2012) avaliaram um total de 367 genótipos de mandioca (sendo 205 adultos e 162 seedlings) coletados no município de Manicoré, estado do Amazonas. Neste estudo, os autores verificaram a diversidade genética dos materiais coletados em função da classificação em mandiocas bravas e mansas, tipos de plantas (adultas e seedlings), seedlings por tipo de solo, variedades bravas por tipo de solo, variedades bravas por comunidade. Comparando os indivíduos adultos com os seedlings, verificou-se maior diversidade genética e menor coeficiente de endogamia no primeiro grupo ($H_o = 0,576$ e $f = 0,086$) em comparação com o segundo ($H_o = 0,421$ e $f = 0,242$). Com relação ao tipo de solo as variedades bravas da várzea apresentaram maior diversidade genética ($H_o = 0,606$ e riqueza alélica = 4,45) do que as cultivadas em Latossolos ($H_o = 0,559$ e riqueza alélica = 4,15) e em

terras escuras da Amazônia ($H_o = 0,538$ e riqueza alélica = 4,45). Ainda segundo os autores as variedades cultivadas em várzea se diferenciaram fortemente das variedades cultivadas em terra firme (Latossolo e terras escuras da Amazônia).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização do material vegetal

Foram avaliados 81 genótipos pertencentes aos Bancos de Germoplasma da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” (ESALQ/USP) e do Instituto Agrônômico (IAC) originários das regiões Amazônica, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (Tabela 1). O critério para a seleção dos genótipos utilizados neste estudo, baseado em avaliações prévias, foi a cor da raiz, a qual variou de creme, amarela, laranja e rosa. Foram, portanto, selecionados 33 acessos originários da região Amazônica, de diversos municípios dos Estados do Amazonas e Pará, sendo que nove desses acessos foram doados pela Embrapa Amazônia Oriental / Centro de Pesquisa Agroflorestal do Trópico Úmido (CPATU); 24 acessos originários da região Centro-Oeste, de diversos municípios dos Estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso; 18 acessos da região Sudeste, de municípios dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro; quatro acessos originários da região Sul, de municípios dos Estados do Rio Grande do Sul e Paraná; e duas variedades comerciais (IAC 6-01; IAC 576-70), que foram usadas como controle, pertencentes à coleção do IAC.

Tabela 1 – Descrição dos genótipos de mandioca selecionados para o estudo, pertencentes aos bancos de germoplasma da ESALQ/USP e do IAC

(continua)				
Nº	Número de registro ¹	Município de origem	Região de Coleta	Cor da raiz
1	DG 226	Doação CPATU	Amazônica	Amarela
2	DG 042	Barcelos – AM	Amazônica	Amarela
3	DG 164	Santarém – PA	Amazônica	Amarela
4	DG 064	Marará – AM	Amazônica	Amarela
5	DG 069	Castanho – AM	Amazônica	Amarela
6	DG 224	Doação CPATU	Amazônica	Creme
7	DG 781	Calafate – AM	Amazônica	Amarela
8	DG 759	Maraã – AM	Amazônica	Amarela
9	DG 281	Doação CPATU	Amazônica	Amarela
10	DG 783	Calafate – AM	Amazônica	Amarela
11	DG 111	Uarini – AM	Amazônica	Amarela
12	DG 125	R. Solimões – AM	Amazônica	Amarela
13	DG 138	Guarabira – AM	Amazônica	Amarela
14	DG 283	Doação CPATU	Amazônica	Amarela
15	DG 368	Doação CPATU	Amazônica	Creme
16	DG 778	São Paulo do Coraci – AM	Amazônica	Amarela
17	DG 274	Doação CPATU	Amazônica	Creme
18	DG 782	São Paulo do Coraci – AM	Amazônica	Amarela
19	DG 051	Carvoeiro – AM	Amazônica	Amarela
20	DG 055	Carvoeiro – AM	Amazônica	Amarela
21	DG 285	Doação CPATU	Amazônica	Amarela
22	DG 762	São Paulo do Coraci – AM	Amazônica	Creme

Tabela 1 – Descrição dos genótipos de mandioca selecionados para o estudo, pertencentes aos bancos de germoplasma da ESALQ/USP e do IAC

(continuação)				
Nº	Número de registro ¹	Município de origem	Região de Coleta	Cor da raiz
23	DG 043	Barcelos – AM	Amazônica	Amarela
24	DG 059	Carvoeiro – AM	Amazônica	Amarela
25	DG 050	Carvoeiro – AM	Amazônica	Amarela
26	DG 057	Carvoeiro – AM	Amazônica	Amarela
27	DG 776	Nova Samaria – AM	Amazônica	Amarela
28	DG 320	Doação CPATU	Amazônica	Creme
29	DG 275	Doação CPATU	Amazônica	Creme
30	SRT 1532	Eirunepe – AM	Amazônica	Amarela
31	SRT 1379	Doação CPATU	Amazônica	Amarela
32	SRT 1449	Venezuela	Amazônica	Amarela
33	SRT 1384	Doação CPATU	Amazônica	Amarela
34	MS 189	Chapadão do Sul – MS	Centro-Oeste	Amarela
35	MS 167	Costa Rica – MS	Centro-Oeste	Amarela
36	MS 104	Pedro Gomes – MS	Centro-Oeste	Creme
37	MS 100	Pedro Gomes – MS	Centro-Oeste	Rosa
38	MS 172	Costa Rica – MS	Centro-Oeste	Creme
39	MS 300	Três Lagoas – MS	Centro-Oeste	Creme
40	MS 118	Rio Verde – MS	Centro-Oeste	Creme
41	MS 257	Inocência – MS	Centro-Oeste	Creme
42	MS 093	Sonora – MS	Centro-Oeste	Creme
43	MS 022	Bela Vista – MS	Centro-Oeste	Creme
44	DG 420	Xingú – MT	Centro-Oeste	Creme
45	MS 159	Costa Rica – MS	Centro-Oeste	Creme
46	MS 334	Tacuru – MS	Centro-Oeste	Creme
47	MS 103	Pedro Gomes – MS	Centro-Oeste	Creme
48	DG 032	Xingú – MT	Centro-Oeste	Amarela
49	MS 080	Ponta Porã – MS	Centro-Oeste	Creme
50	MS 304	Três Lagoas – MS	Centro-Oeste	Creme
51	T 173	Paranaíba – MS	Centro-Oeste	Amarela
52	T 193	Inocência – MS	Centro-Oeste	Amarela
53	T 123	Costa Rica – MS	Centro-Oeste	Amarela
54	T 002	Corumbá – MS	Centro-Oeste	Amarela
55	MS 063	Antonio João – MS	Centro-Oeste	Amarela
56	MS 301	Três Lagoas – MS	Centro-Oeste	Amarela
57	T 54	Antônio João – MS	Centro-Oeste	Amarela
58	DG 128	Cananéia – SP	Sudeste	Creme
59	DG 637	Cananéia – SP	Sudeste	Creme
60	DG 744	Frutal – MG	Sudeste	Creme
61	DG 746	Frutal – MG	Sudeste	Creme
62	F 40	Monguaguá – SP	Sudeste	Amarela
63	F 81	Guará – SP	Sudeste	Amarela
64	SRT 1503	Campos Alto – MG	Sudeste	Amarela
65	F 50	Jundiá – SP	Sudeste	Amarela
66	F 44	Peruíbe – SP	Sudeste	Amarela
67	F 56	Iporanga – SP	Sudeste	Amarela

Tabela 1 – Descrição dos genótipos de mandioca selecionados para o estudo, pertencentes aos bancos de germoplasma da ESALQ/USP e do IAC

Nº	Número de registro ¹	Município de origem	(conclusão)	
			Região de Coleta	Cor da raiz
68	F 34	Bertioga – SP	Sudeste	Amarela
69	F 75	São Sebastião da Gramma – SP	Sudeste	Amarela
70	SRT 1140	Ibirarema – SP	Sudeste	Amarela
71	F 151	Ouro Verde – SP	Sudeste	Amarela
72	F 38	Praia Grande – SP	Sudeste	Amarela
73	F 45	Pedro Barrosa – SP	Sudeste	Amarela
74	F 143	Cabrália Paulista – SP	Sudeste	Amarela
75	SRT 1142	Teresópolis – RJ	Sudeste	Amarela
76	DG 136	Londrina – PR (Doação Embrapa)	Sul	Creme
77	SRT 1514	Santo Antônio das Missões – RS	Sul	Amarela
78	SRT 1521	Frederico Westphalen – RS	Sul	Amarela
79	SRT 1520	Frederico Westphalen – RS	Sul	Amarela
80	IAC 6-01	Clone-elite do IAC	-	Laranja
81	IAC 576-70	Variedade comercial	-	Amarela

¹Siglas DG e MS são referentes aos acessos do banco de germoplasma da ESALQ; siglas SRT, F e T são referentes a acessos do banco de germoplasma do IAC, em Campinas.

3.2 Instalação e condução do experimento de campo

Foi instalado, em setembro de 2010, um experimento de campo na Fazenda Experimental do Departamento de Genética da ESALQ/USP, localizada no distrito de Anhumas, município de Piracicaba-SP. A área de 1822,5 m² foi previamente preparada utilizando adubação NPK (4:20:20), na quantidade de 250 kg ha⁻¹, e utilização de SELECT (Arista Lifescence Corporation, Tokyo, Japão), herbicida pós-emergente sistêmico de ação total e não seletivo.

O delineamento utilizado foi blocos casualizados com três repetições dispostas em linhas espaçadas de 1,5 m, sendo que cada parcela foi composta por cinco plantas espaçadas entre si por 1 m. Após o plantio das manivas utilizou-se irrigação controlada até o início da germinação. Durante a condução do experimento foram realizados os tratos culturais utilizados normalmente em plantio de mandioca, onde se realizou frequentemente a limpeza da área, eliminando-se plantas invasoras.

Na Figura 1 podemos observar a condução do experimento de campo desde o plantio até a colheita em agosto de 2011.

Figura 1 - (A) Vista do experimento de campo com plantas aos três meses de idade; (B) Vista do experimento de campo, com plantas aos nove meses de idade; (C) e (D) Colheita dos genótipos de mandioca 11 meses após o plantio do experimento, localizado na Fazenda Experimental do Departamento de Genética da ESALQ/USP, distrito de Anhumas, Piracicaba – SP

3.3 Caracterização agronômica

Um total de 16 caracteres agronômicos, obtidos em agosto de 2011 durante a época de colheita das raízes, foi avaliado na caracterização dos 81 genótipos. As características avaliadas em campo foram: número de raízes comerciais (NRC), produção de raízes comerciais (PRC), peso de raiz comercial (PeRC), número de raízes descarte (NRD), produção de raízes descarte (PRD), peso de raiz descarte (PeRD), número total de raízes (NR), produção total de raízes (PTR) e peso de raiz (PeR), porcentagem de raízes descartadas (D), índice de colheita (IC), altura total da planta (ATP), altura da primeira ramificação (APR), relação entre a altura da primeira ramificação e altura total da planta (B/A), peso da parte aérea (PePA) e peso total da planta (PeTP). Nos subitens a seguir encontra-se a descrição de cada característica avaliada.

3.3.1 Produção (toneladas ha⁻¹)

Para se realizar a colheita, as cinco plantas da parcela experimental foram podadas para a retirada da parte aérea e colhidas manualmente. As raízes foram separadas, com o auxílio de um facão, sendo cortadas em seu ponto de inserção com a maniva-mãe.

As raízes foram classificadas em comerciais e não comerciais. Consideraram-se como raízes comerciais as que atenderam aos padrões mínimos aceitos pelo CEAGESP, e como não comerciais (raízes descarte) as pertencentes à classificação de “raízes miúdas”, ou seja, raízes tortas, mal formadas e/ou com peso inferior a 200g.

A produção comercial (PRC) foi estimada subtraindo-se o peso das raízes não comerciais (PR da massa total de raízes). Os valores obtidos em cada parcela experimental foram corrigidos em função do estande realizado durante a colheita do experimento e os valores foram transformados em toneladas por hectare.

3.3.2 Peso da parte aérea e peso total da planta (toneladas ha⁻¹)

Foi feita a pesagem de toda a parte aérea da planta (PePA), incluindo a maniva-mãe, manivas e ramas (folhas e hastes). O peso total da planta (PeTP) foi calculado somando-se o peso total de raízes e peso da parte aérea. Primeiramente, foram calculados os pesos por parcela experimental, os quais foram transformados posteriormente em toneladas por hectare.

3.3.3 Alturas das plantas e da primeira ramificação (metros)

A altura total das plantas (ATP) foi medida do nível do solo até o broto terminal, com régua graduada, em três plantas, escolhidas aleatoriamente, por parcela experimental. A altura da primeira ramificação (APR) foi determinada do solo até o ponto de sua emergência.

3.3.4 Índice de colheita (%)

O índice de colheita (IC) foi obtido por meio da relação entre massa fresca das raízes e a massa fresca total da planta, em cada parcela experimental.

A fitomassa foi obtida a partir das pesagens das raízes tuberosas, manivas-mãe, hastes, pecíolos, folhas, com a exceção das raízes absorventes que ficaram no solo. Considerou-se a fitomassa com base na matéria fresca, a partir das massas observadas em cada parcela experimental.

3.4 Caracterização Bioquímica

Foram avaliados cinco caracteres bioquímicos na caracterização dos 81 genótipos de mandioca, sendo eles: teor de compostos cianogênicos (HCN), teor de carotenoides totais (CT), teor de β -caroteno, teor de vitamina A (Vit. A) e teor de matéria seca (MS). Por se tratar de um grande número de acessos optou-se em apresentar os resultados separando os acessos de acordo com seu local de origem e, desta forma, comparar as variações existentes entre as regiões e também estimar a variação dentro de cada região.

As análises bioquímicas foram realizadas na Seção de Fitoquímica do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas (compostos cianogênicos e matéria seca) e no Laboratório de Vitaminas do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) (carotenoides totais, β -caroteno e vitamina A).

3.4.1 Dosagem dos compostos cianogênicos (mg kg^{-1})

De cada parcela experimental foram selecionadas 10 raízes das consideradas comerciais, de onde foram retirados toletes do terço médio central com 10 cm de comprimento. Estes foram descascados, retirando-se a película e a entrecasca.

Para a dosagem dos cianoglicosídeos os toletes foram picados em pedaços de aproximadamente 1 cm^3 , utilizando-se um picador de legumes. As amostras foram homogeneizadas, de onde se retirou sub-amostras de aproximadamente 150 g de material, em duplicata. Essas sub-amostras foram trituradas individualmente em liquidificador, com 500 mL de ácido fosfórico 0,1 M (H_3PO_4 85%) por três minutos alternados com um minuto de repouso. Os extratos foram transferidos para recipientes plásticos descartáveis e deixados em repouso, por pelo menos uma hora, para decantação do amido em suspensão. Coletaram-se 7,5 mL do sobrenadante, acondicionando-o em tubos de ensaio com tampa, adicionando-se a seguir 2,5 mL de etanol (98%). Os tubos com as referidas soluções foram agitados e armazenados a -18°C , para posterior determinação do conteúdo cianogênico.

A extração e a dosagem dos compostos cianogênicos foram feitas no Laboratório de Fitoquímica do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do IAC, com a determinação dos compostos cianogênicos realizada de acordo com a metodologia desenvolvida por Cooke et al. (1979), aperfeiçoada por O'Brien et al. (1991) e Essers et al. (1993) e modificada por Carvalho e colaboradores (não publicado).

Desta maneira, para cada repetição de campo, foram analisadas duas sub-amostras, sendo estas avaliadas em baterias com duas repetições de laboratório, perfazendo um total de

doze repetições analíticas, e a média dos resultados analíticos foi tida como conteúdo cianogênico da polpa crua das raízes.

3.4.2 Teor de matéria seca (%)

Para a determinação do teor de matéria seca foram retiradas duas amostras das mandiocas já cortadas em cubos, pesando-se cerca de 100 a 200 g. O método utilizado foi gravimétrico, com o aquecimento das amostras a temperatura constante de 40°C em estufa ventilada, até massa constante (CARVALHO et al., 1990).

3.4.3 Carotenoides totais (mg 100g⁻¹), β-caroteno (µg 100g⁻¹) e vitamina A (UI 100g⁻¹)

As amostras utilizadas foram de três a cinco toletes de 10 cm de comprimento que foram armazenados em embalagens fechadas a vácuo e mantidas em freezer com temperatura constante a -20°C raízes até a realização das análises.

3.4.3.1 Extração dos pigmentos

A extração foi realizada em um homogeneizador, do tipo liquidificador de aço inox, com 100 mL de acetona resfriada a 10°C e uma porção de 10 g de celite como agente auxiliador de extração e de filtração. Em seguida, a mistura foi homogeneizada por 2 minutos e a solução com os pigmentos foi filtrada a vácuo em funil de Büchner, recoberto com papel de filtro. Estas operações foram repetidas por três vezes, ou até que todo o resíduo ficasse completamente incolor. Os pigmentos foram transferidos da acetona para 50 a 100 mL de éter de petróleo (30 – 60°C) através de um funil de separação, adicionando-se pequenas porções do pigmento em acetona ao funil. A seguir, a acetona foi retirada por meio de adições sucessivas de água destilada e descarte da parte inferior das fases dos solventes separadas. Após a transferência dos pigmentos para o éter de petróleo, este foi lavado com água destilada por cinco vezes, para garantir a remoção completa da acetona e evitar isomerização das substâncias. O éter de petróleo contendo os pigmentos foi transferido para balões volumétricos, de 50 ou 100 mL, sendo que para a retirada da água residual foi utilizado um funil contendo sulfato de sódio anidro.

Foram feitos testes de saponificação em algumas amostras extraídas e, verificou-se que não ocorreu nenhuma alteração no teor de carotenoides totais entre amostras saponificadas e não saponificadas. Desse modo, devido a esses resultados encontrados e ao baixo teor de lipídios presentes nas raízes de mandioca ($\pm 0,5\%$) não foi necessária a etapa de saponificação das amostras.

3.4.3.2 Dosagem de carotenoides totais

A determinação dos carotenoides totais foi feita segundo o método descrito por Carvalho et al. (1990), que consistiu na leitura a 453 nm, em espectrofotômetro HITACHI U-2000, dos pigmentos extraídos com acetona e transferidos para éter de petróleo, sendo que nessas condições a concentração de carotenoides totais foi expressa em β -caroteno. Os cálculos foram realizados usando o coeficiente de absorção do β -caroteno em éter de petróleo ($A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$).

3.4.3.3 Dosagem de β -caroteno

Foram retiradas e evaporadas com fluxo de nitrogênio, alíquotas das amostras usadas na determinação dos carotenoides totais, posteriormente resuspendidas utilizando-se como solvente o sistema de fase móvel: metanol e clorofórmio (97:3, v/v). A separação cromatográfica dos pigmentos foi realizada em coluna C18 (de 25 mm de comprimento, 4 mm de diâmetro interno e recheada com partículas de 5 μm), em sistema isocrático com vazão de 1 mL min^{-1} e para a identificação dos componentes utilizou-se detector de arranjo de diodos (SPD-M6A, Shimadzu).

3.4.3.4 Concentração de vitamina A

A concentração de vitamina A foi calculada a partir da concentração de β -caroteno presente nas amostras, considerando-se que 6 μg de β -caroteno corresponde a 3,33 UI de atividade vitamina A.

3.5 Caracterização Molecular

A caracterização molecular foi realizada no Laboratório de Ecologia Evolutiva e Genética Aplicada (LEEGA) do Departamento de Genética da ESALQ/USP, em Piracicaba, SP.

3.5.1 Extração e quantificação de DNA

Para a extração de DNA foi realizada a coleta de folhas jovens, as quais foram colocadas imediatamente em tubos de polipropileno de 1,5 mL, contendo 1 mL de solução saturada de NaCl-CTAB (70 g de NaCl, 3 g de CTAB dissolvidos em 200 mL de água destilada) (Van der Berg, C., comunicação pessoal). Durante o período de uma semana as folhas foram mantidas a temperatura constante de 4°C. Para a extração as folhas foram retiradas dos tubos, maceradas em cadinho contendo 1,5 mL de tampão STE (130 g de

sacarose, 4,5 mL de Tris HCl 1M, 15 mL de EDTA 0,5M, completando o volume com água destilada para 1500 mL) (BHATTACHARJEE et al., 2009). As etapas seguintes da extração de DNA foram realizadas seguindo a metodologia Doyle e Doyle (1990) com modificações, descrita por Siqueira et al. (2009).

A concentração de DNA da solução estoque de cada genótipo foi estimada através da corrida das amostras em gel 1% agarose (p/v), sendo que para a visualização das bandas foi utilizado o corante Sybr Green (Molecular Probes, Oregon, EUA) e para a quantificação das amostras de DNA foram utilizadas soluções padrões com concentrações específicas (DNA do fago lambda). A corrida eletroforética foi realizada em cuba contendo tampão 10% TBE a uma voltagem de 11 V cm^{-1} durante o período de 40 minutos e os resultados avaliados em fotodocumentador.

3.5.2 Genotipagem dos acessos

Foram utilizados nove iniciadores pré-estabelecidos por Mba et al. (2001) e oito pré-estabelecidos por Chavarriaga-Aguirre et al. (1998) para genotipar os acessos, num total de 17 iniciadores (Tabela 2).

As reações de amplificação foram realizadas num volume final de 16 μL contendo a seguinte mistura de soluções: 1U de *Taq*-Polimerase; 10X de tampão (10 mM Tris-HCl; pH 8,3; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl_2); 2,4mM de MgCl_2 ; 2,4 pmoles de *primer* F; 2,4 pmoles de *primer* R; 3,2 mM de cada dNTP e 20 ng de DNA. Para proceder as reações de amplificação foi utilizado o termociclador modelo MyCycler Thermal Cycler (BioRad, Hercules, Califórnia, EUA) utilizando um programa *touchdown* com as seguintes etapas: uma etapa inicial de desnaturação de 5 minutos a 94°C , seguida de 10 ciclos de pré-amplificação [30 segundos a 95°C , 30 segundos a temperatura inicial de anelamento de 60°C diminuindo 1°C a cada ciclo, 50 segundos a 72°C], depois 30 ciclos de desnaturação [30 segundos a 95°C , 30 segundos a 50°C , 50 segundos a 72°C], e uma fase final de extensão de 5 minutos a 72°C .

O material amplificado foi submetido à eletroforese em gel 7% desnaturante de poliacrilamida (70 mL de acrilamida 70%, 100 mL de TBE 10X, 420 g de uréia, além de 280 μL de persulfato de amônio a 10% e 118 μL de TEMED). Os géis foram pré-aquecidos 45 V cm^{-1} por 40 minutos. Foram aplicadas 6 μL das amostras previamente desnaturadas com 2 μL de tampão de carregamento (95% formamida, 0,05% de xilenicynanol; 0,05% de azul de bromofenol e 12,5% de sacarose) a 95°C por 5 minutos. A eletroforese foi realizada a potência inicialmente de 45 V cm^{-1} . Utilizou-se como marcador de peso molecular, DNA *ladder* de 10pb e de 100pb. Foi utilizada a metodologia de nitrato de prata (CRESTE et al.,

2001) para a revelação das bandas de microssatélites, as quais foram fotografadas em máquina digital e avaliadas em transluminador.

Tabela 2 - Sequência dos 17 iniciadores (*forward/reverse*) utilizados para os microssatélites e seus respectivos tamanhos (pb)

Nome do Microssatélite	Sequência 5' a 3' do iniciador	Amplitude do tamanho (pb)
SSRY 8 ¹	AGTGGTTTGAGAAGACTGGTGA	288
SSRY 21 ¹	TTCCAAAATGGAACCTCAAA CCTGCCACAATATTGAAATGG CAACAATTGGACTAAGCAGCA	192
SSRY 27 ¹	CCATGATTGTTTAAGTGGCG CCATTGGAGAACTTGGCAAC	277
SSRY 35 ¹	GCAGTAAAACCATTCCTCCAA CTGATCAGCAGGATGCATGT	282
SSRY 40 ¹	TGCATCATGGTCCACTCACT CATTCCTTTTCGGCATTCCAT	231
SSRY 43 ¹	TCAGACGTTGATACCTCACTTCA CCAGAGCATGGTCTTTCTGA	255
SSRY 141 ¹	TCCAAAATCTTGGTCATTTTGA TGCTGTGATTAAGGAACCAACTT	262
SSRY 185 ¹	GAAGAAGACGGTTAAAGCAAGTT ATGCCAGTTTGCTATCCAGG	243
SSRY 324 ¹	CGCTTACAACACCACCTTCA GCTTGATCTCAGCCATGTCA	206
GAGG 5 ²	TAATGTCATCGTCGGCTTCG GCTGATAGCACAGAACACAG	127
GA 12 ²	GATTCCTCTAGCAGTTAAGC CGATGATGCTCTTTCGGAGGG	150
GA 21 ²	GGCTTCATCATGGAAAAACC CAATGCTTTACGGAAGAGCC	120
GA 126 ²	AGTGGAATAAGCCATGTGATG CCAATAATTGATGCCAGGTT	210
GA 127 ²	CTCTAGCTATGGATTAGATCT GTAGCTTCGAGTCGTGGGAGA	235
GA 131 ²	TTCCAGAAAGACTTCCGTTCA CTCAACTACTGCACTGCACTC	140
GA 136 ²	CGTTGATAAAGTGAAAGAGCA ACTCCACTCCCGATHCTCGC	165
GA 140 ²	TTCAAGGAAGCCTTCAGCTC GAGCCACATCTACTCGACACC	165

¹ Mba et al. (2001); ² Chavarriaga-Aguirre et al. (1998).

3.6 Análise estatística

3.6.1 Caracteres agronômicos e bioquímicos

Os dados obtidos nas análises agronômicas e bioquímicas foram submetidos a análise de variância considerando o modelo de blocos casualizados e ao teste de Tukey a 5% de

probabilidade para comparação entre as médias de cada região. Além disso, foi realizada uma análise de variância considerando as regiões geográficas de origem de cada um dos genótipos a fim de se verificar a variação existente entre essas regiões. Realizou-se também uma análise de correlação linear de Pearson para todos os caracteres quantitativos avaliados. Para estas análises foi utilizado o software SAS versão 8.2 (2001).

Entre as 243 parcelas experimentais, houve a perda de algumas por inteiro e alguns caracteres tiveram dados perdidos, o que pode ser constatado pelo número de graus de liberdade do resíduo dos quadros de análise de variância para cada uma das características avaliadas. Foram também apresentados os valores de significância dos quadrados médios para tratamento (região) e o desdobramento para cada uma das regiões, as médias gerais e específicas de cada região e o coeficiente de variação (CV%). Para facilitar a discussão dos resultados obtidos foi realizada a análise de variância separada das variedades utilizadas como testemunha no experimento.

Foram verificadas as pressuposições básicas do modelo matemático (normalidade e independência das variâncias) para os 16 caracteres agrônômicos avaliados. Os caracteres NRC, PRC, PRD, PeRD, PTR, PeR, D, IC, ATP, APR, B/A, PePA e PeTP não atenderam as pressuposições, sendo submetidos a uma transformação de escala do tipo $\sqrt{x + 0,5}$.

Para a análise estatística dos caracteres bioquímicos, foram também verificadas as pressuposições básicas do modelo matemático (normalidade e independência das variâncias) para os cinco caracteres avaliados. Apenas a matéria seca não atendeu as pressuposições, sendo submetidos a uma transformação de escala do tipo $\sqrt{x + 0,5}$.

Os dados agrônômicos e bioquímicos também foram submetidos à análise multivariada para obtenção da matriz de distância de Mahalanobis (D^2) (MAHALANOBIS, 1936) utilizando o procedimento CANDISC (*Canonical Discriminant Analysis*) do software SAS versão 8.2 (2001). As distâncias obtidas foram submetidas ao método de agrupamento unweighted neighbor-joining para construção de um dendrograma e para tanto utilizou-se o software DARwin5 (PERRIER et al., 2003). Além disso, foi realizada uma análise de componentes principais a partir dos dados médios de cada genótipo e construído um gráfico de dispersão a partir dos dois primeiros componentes, responsáveis por abranger a maior parte da variação existente. Para estas análises foi utilizado o software PAST (HAMMER et al., 2001). Além disso, as distâncias obtidas foram correlacionadas pelo teste de Mantel (MANTEL, 1967), realizando 9999 permutações, utilizando o software NTSYS-PC (ROHLF, 1989).

3.6.2 Marcadores moleculares

Para a análise dos marcadores microssatélites, os 81 genótipos foram agrupados em função da região de coleta, formando cinco grupos: região Amazônica (33 acessos), região Centro-Oeste (24 acessos), região Sudeste (18 acessos), região Sul (quatro acessos) e o grupo das variedades comerciais (duas variedades). Os dados foram avaliados por meio do software GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2001), onde se determinou os índices de diversidade genética para cada grupo, como número de alelos por loco, porcentagem de locos polimórficos e heterozigosidade média observada e esperada (NEI, 1978).

Para os índices de diversidade de Nei (1973), onde se observa a partição da diversidade genética entre e dentro de grupos, ou seja, H_S (componente da diversidade dentro de grupos), H_T (diversidade genética total da espécie), D_{ST} (componente de diversidade entre grupos), G_{ST} (proporção da diversidade genética entre grupos, onde $G_{ST} = D_{ST}/H_T$), foi utilizado o software FSTAT (GOUDET, 2001).

Para a análise de agrupamento foi utilizado o software TFPGA (MILLER, 1997) na obtenção da matriz de distâncias de Rogers modificada por Wright (1978), a qual foi posteriormente utilizada para a construção de um dendrograma utilizando o método unweighted neighbor-joining, pelo software DARwin5 (PERRIER et al., 2003).

Os dados moleculares também foram submetidos à análise bayesiana através do software STRUCTURE versão 2.1 (PRITCHARD et al., 2000). Foi utilizado o modelo de não mistura (*no admixture model*) e frequências alélicas independentes, usando *burn-in* de 100.000 seguido de extensão (run length) de 500.000. Foram realizadas cinco interações independentes com valores de K variando entre 1 e 10, sendo que o número ótimo de grupos (K) foi estimado pelo método proposto por Evanno et al. (2005). A partir do valor de K ótimo, foi selecionado o gráfico considerando a menor variância entre as cinco interações independentes realizadas.

A distância genética molecular de Nei (1972) foi correlacionada com as distâncias de Mahalanobis obtidas para os caracteres agrônômicos e bioquímicos. A significância de cada coeficiente foi verificada pelo teste de Mantel, realizando 9999 permutações. Para esta análise foi utilizado o software NTSYS-PC (ROHLF, 1989).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracteres agronômicos

Por se tratar de um grande número de acessos optou-se em apresentar os resultados separando os acessos de acordo com seu local de origem, ou seja, regiões Amazônica (33 acessos), Centro-Oeste (24 acessos), Sul (quatro acessos) e Sudeste (18 acessos), além das duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01) e, desta forma, comparar as variações existentes entre as regiões e também estimar a variação dentro de cada região.

Para os caracteres número de raízes comerciais (NRC), produção de raízes comerciais (PRC) e peso de raiz comercial (PeRC) (Tabela 3) verificou-se uma variação altamente significativa pelo teste F ($P \leq 0,01$), significativa a 5% ($P \leq 0,05$) e não significativa, respectivamente, entre as regiões de origem dos acessos, indicando que existe variabilidade entre os indivíduos que compõe cada região para NRC e PRC. Porém, na análise para cada região, as regiões Sul e Sudeste apresentaram teste F não significativo.

A média geral entre os 79 genótipos foi de 10,59 raízes para NRC, 8,80 ton ha⁻¹ para PRC e 576,02 g raiz⁻¹ para PeRC (Tabela 3). O teste de comparação entre as médias das regiões demonstrou diferença significativa para os caracteres NRC e PRC, sendo que os genótipos da região Sul se destacam por apresentarem valores médios para produtividade superiores aos das outras regiões. No entanto, deve-se considerar uma ressalva de que esta região foi representada por apenas quatro acessos. Os valores dos coeficientes de variação (Tabela 3) foram 27,04% para NRC, 27,88% para PRC e 33,41% para PeRC.

Ao comparar a média geral obtida para PRC (8,80 ton ha⁻¹) com os resultados obtido por Mezette et al. (2009) (18,98 ton ha⁻¹), que avaliaram 12 clones do Programa de Melhoramento da Mandioca do IAC, além da variedade testemunha IAC 576-70, verifica-se a superioridade de produção de materiais já melhorados. O CV para a característica foi superior (27,04%) ao obtido pelos mesmos autores (11,44%).

Comparando os valores das médias das variedades comerciais para as características NRC (24,50), PRC (15,51 ton ha⁻¹) e PeRC (620,01 g raiz⁻¹) (Tabela 4) com as médias gerais obtidas pelos acessos (Tabela 3), verifica-se a superioridade dos materiais melhorados em relação aos acessos avaliados. Além disso, pode-se constatar que os materiais melhorados apresentam valores bastante inferiores de CV%, o que pode inferir que os acessos apresentam maior variação devido ao erro experimental já que não passaram por um processo de seleção, o que os torna menos adaptados às condições ambientais do local do experimento.

Tabela 3 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹) e PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹) de mandioca, entre regiões e dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS		
		NRC ¹	PRC ¹	PeRC
Região	3	4,07**	2,53*	67049 ^{n.s.}
AM	32	1,25**	1,35**	47810 ^{n.s.}
CO	23	1,30**	1,00**	60989*
S	3	0,14 ^{n.s.}	0,07 ^{n.s.}	21865 ^{n.s.}
SE	17	0,82 ^{n.s.}	0,70 ^{n.s.}	21537 ^{n.s.}
Bloco	2	0,28 ^{n.s.}	0,11 ^{n.s.}	3345 ^{n.s.}
Resíduo	204	0,75	0,69	37037
Média Geral	-	10,59	8,80	576,02
Média AM	-	9,11 b ²	8,24 b	559,48 a
Média CO	-	11,26 ab	8,95 b	599,28 a
Média S	-	15,70 a	14,21 a	681,35 a
Média SE	-	11,12 ab	8,41 b	551,59 a
CV%	-	27,04	27,88	33,41

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.} Não significativo;

¹ Dados de NRC e PRC transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ (exceto nos valores de médias);

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Valores médios para as características NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹) e PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica		
	NRC	PRC	PeRC
IAC 576-70	31,67	21,95	697,26
IAC 6-01	17,33	9,07	542,76
Média Geral	24,50	15,51	620,01
CV%	7,84	2,68	2,50

Na Tabela 5 pode-se verificar que as significâncias do teste F para os caracteres número de raízes descarte (NRD), produção de raízes descarte (PRD) e peso de raízes descarte (PeRD) também foi de 1%, 5% e não significativo, respectivamente, entre as regiões de origem dos genótipos. Já para cada região, diferente das características NRC e PRC, ocorreu uma variância altamente significativa, exceto para PeRD. Isto indica que para NRD e PRD existe ampla variabilidade genética dentro de cada região.

Os valores médios para NRD e PRD das regiões variaram significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que os genótipos da Amazônia merecem destaque por apresentarem a menor média (17,36 raízes e 6,08 ton ha⁻¹) para os parâmetros relacionados às

raízes que não são consideradas para o comércio. Para NRD, PRD e PeRD os valores do coeficiente de variação foram 46,39%, 24,07% e 17,89%, respectivamente.

Para PRD, Mezette (2007), avaliando 12 clones de mandioca e a variedade IAC 576-70, obteve média geral de 4,2 ton ha⁻¹, um pouco abaixo do obtido no presente trabalho (6,66 ton ha⁻¹). O CV para a característica foi inferior (24,07%) ao obtido por Mezette (2007) (33,06%).

Tabela 5 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹) de mandioca, entre e dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS		
		NRD	PRD ¹	PeRD ¹
Região	3	720,47**	1,27*	10,02 ^{n.s.}
AM	32	122,72**	0,63**	7,60 ^{n.s.}
CO	23	146,41**	0,66**	9,17 ^{n.s.}
S	3	557,64**	2,08**	4,51 ^{n.s.}
SE	17	126,61**	0,44**	6,10 ^{n.s.}
Bloco	2	17,01 ^{n.s.}	0,54 ^{n.s.}	35,5**
Resíduo	217	90,49	0,40	7,13
Média Geral	-	20,51	6,66	229,58
Média AM	-	17,36 a ²	6,08 a	225,91 a
Média CO	-	21,26 ab	6,71 ab	229,13 a
Média S	-	29,25 c	9,81 b	276,69 a
Média SE	-	22,98 bc	6,95 ab	225,60 a
CV%	-	46,39	24,07	17,89

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.}Não significativo;

¹ Dados de PRD e PeRD transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ (exceto nos valores de médias);

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Na Tabela 6 pode-se observar que os valores médios das variedades foram superiores às médias obtidas pelos acessos (Tabela 5) para PRD, PRD e PeRD. Neste caso, os acessos apresentaram melhores valores para as características que dizem respeito às raízes que não seguem o padrão comercial. Isto pode ser justificado pelo fato das variedades comerciais terem a capacidade de produzir um maior número de raízes, fazendo com que tenham a maior chance de produzir raízes fora do padrão.

Observando os CV% (Tabela 6) para NRD, PRD e PeRD (38,22%, 11,16% e 7,86%, respectivamente) verifica-se também que as variedades testemunhas apresentam uma menor variação devido ao erro experimental, quando comparadas aos acessos avaliados (Tabela 5).

Tabela 6 – Valores médios para as características NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha^{-1}), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz^{-1}) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica		
	NRD	PRD	PeRD
IAC 576-70	27,00	8,77	333,75
IAC 6-01	37,33	8,55	226,51
Média Geral	32,17	8,66	280,13
CV%	38,22	11,16	7,86

Os valores e as significâncias dos quadrados médios para número de raízes por planta (NR), produção total de raízes (PTR), peso de raiz (PeR), porcentagem de raízes descartadas (D) e índice de colheita (IC) estão descritos na Tabela 7. Apenas NR e IC diferiram pelo teste F na comparação entre regiões, sendo que novamente PeR não diferiu demonstrando que o peso de raiz (comercial, descarte e total) não foi um bom caráter para diferenciar genótipos. Para as duas características que diferiram, a região Amazônica foi a que apresentou as médias mais baixas (25,86 raízes para NR e 34,56 para índice de colheita). Ainda na Tabela 7 verifica-se que os valores do CV% foram 44,87%, 27,87%, 15,58%, 14,71%, 25,05% para NR, PTR, PeR, D e IC, respectivamente.

Vidigal Filho et al. (2007) ao avaliarem 14 variedades de mandioca para mesa obtiveram média geral de produtividade de $25,47 \text{ ton ha}^{-1}$, valor superior ao encontrado neste trabalho ($15,45 \text{ ton ha}^{-1}$). O CV obtido pelos autores foi de 18,39%, também inferior ao obtido neste estudo (27,87%). Já Vilella et al. (1985) ao avaliarem 13 clones mais promissores de mandioca selecionados a partir de 40 clones e três variedades testemunhas, obtiveram produtividade média geral de $11,21 \text{ ton ha}^{-1}$ e CV de 28,4%. Rimoldi et al. (2003), avaliando oito cultivares de mandioca em dois municípios do Estado do Paraná, obtiveram para os dois ambientes CV de 18,94% e média geral de $17,98 \text{ ton ha}^{-1}$. Comparando a média para IC (40,14%) com as obtidas por Vidigal Filho et al. (2007) (63,58%) e Nebiyu (2006) (61,90%), verifica-se que os genótipos avaliados em média apresentaram menores valores. O CV obtido também foi bastante superior (25,05%) ao obtido por Vidigal Filho et al. (2007) (7,89%) e inferior ao obtido por Nebiyu (2006) (37,15%).

Deve-se ressaltar que os trabalhos acima citados avaliaram materiais melhorados, em contraste com os dados obtidos neste estudo, exceto as duas variedades comerciais, que são etnovariedades em sua maioria, originados de diferentes regiões, o que explica os menores valores obtidos para o CV, e a maior produtividade.

Tabela 7 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características NR – número de raízes por planta, PTR – produção total de raízes (t ha^{-1}), PeR – peso de raiz (g raiz^{-1}), D – porcentagem de raízes descartadas e IC – índice de colheita (%) de mandioca, entre de dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS				
		NR	PTR ¹	PeR ¹	D ¹	IC ¹
Região	3	1491,4**	2,50 ^{n.s.}	11,73 ^{n.s.}	1,05 ^{n.s.}	1624,4**
AM	32	314,36**	2,15**	8,95 ^{n.s.}	1,78**	210,30**
CO	23	336,60**	1,72**	9,25 ^{n.s.}	0,75 ^{n.s.}	146,28**
S	3	989,11**	5,13**	2,51 ^{n.s.}	2,39**	424,69**
SE	17	202,23*	0,89 ^{n.s.}	5,91 ^{n.s.}	1,18 ^{n.s.}	68,16 ^{n.s.}
Bloco	2	71,60 ^{n.s.}	0,008 ^{n.s.}	11,43 ^{n.s.}	7,09**	671,87**
Resíduo	222	188,77	1,15	7,88	1,02	101,08
Média Geral	-	30,62	15,45	332,26	47,66	40,14
Média AM	-	25,86 b ²	14,32 a	324,69 a	48,82 a	34,56 b
Média CO	-	32,20 a	15,65 a	337,99 a	46,02 a	43,58 a
Média S	-	42,33 a	24,02 a	382,16 a	53,70 a	47,63 a
Média SE	-	34,10 a	15,26 a	326,01 a	46,42 a	43,50 a
CV%	-	44,87	27,87	15,58	14,71	25,05

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.}Não significativo;

¹ Dados de PTR, PeR, D e IC transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ (exceto nos valores de médias);

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para NR (56,67), PTR (24,17 ton ha^{-1}), PeR (430,19 g raiz^{-1}), D (37,96%) e IC (54,24%) (Tabela 8) as variedades testemunhas apresentaram médias superiores aos acessos de germoplasma (Tabela 7). Os CV% também foram menores, mais uma vez justificando o que o foi inferido anteriormente em relação ao processo de melhoramento pelo qual passaram as variedades.

Tabela 8 - Valores médios considerando as características NR – número de raízes por planta, PTR – produção total de raízes (t ha^{-1}), PeR – peso de raiz (g raiz^{-1}), D – porcentagem de raízes descartadas e IC – índice de colheita (%) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica				
	NR	PTR	PeR	D	IC
IAC 576-70	58,67	30,72	530,44	28,63	54,81
IAC 6-01	54,67	17,62	329,94	47,29	53,70
Média Geral	56,67	24,17	430,19	37,96	54,25
CV%	20,62	2,42	6,04	8,52	10,96

Verifica-se pela Tabela 9 que os valores e significância dos quadrados médios para altura total da planta (ATP), altura da primeira ramificação (APR) e relação entre altura da primeira ramificação e total (B/A) variaram significativamente entre as regiões de origem dos

genótipos, enquanto que para peso da parte aérea (PePA) e peso total da planta (PeTP) a variância entre as regiões foi não significativa. Dentro de todas as regiões os genótipos se mostraram altamente variáveis para ATP, APR e B/A, mas para PePA e PeTP houve variância significativa apenas entre os genótipos que compõe as regiões AM e CO, demonstrando que os genótipos destas regiões são altamente variáveis para todas as características citadas na Tabela 9.

As médias gerais para ATP, APR, B/A, PePA e PeTP foram, respectivamente, 2,11 m, 0,62 m, 29,75, 18,46 ton ha⁻¹ e 33,88 ton ha⁻¹. Na comparação entre as médias dos genótipos de cada região pode-se verificar que para ATP houve diferença significativa entre os genótipos da região S (média de 2,39 m) e da região CO (média de 1,92 m). Para APR e B/A os genótipos da região foram os que apresentaram as piores médias (0,62 m e 22,54). Os coeficientes de variação foram de 9,91%, 12,31%, 20,31%, 24,10% e 26,04%, respectivamente, para ATP, APR, B/A, PePA e PeTP.

Comparando a média para ATP (2,11 m) com a obtida por Rimoldi et al. (2003) (2,39 m) é possível observar que, em média, os genótipos avaliados apresentaram porte mais baixo. O CV obtido pelos autores de 13,37% foi superior ao obtido neste trabalho (9,91%). Já Mezette (2007) obteve média de 2,15 e CV de 11,36%. Para APR, a média de 0,62 m foi inferior à média de 0,96 m obtida por Mezette (2007). Já o CV de 12,31% foi semelhante ao obtido por Mezette (2007) (12,01%). Para a B/A, Mezette (2007) obteve média de 45,3% (superior a obtida neste trabalho de 29,75%) e CV de 11,21% inferior aos 20,31% deste trabalho. Para PePA, a média de 18,43 ton ha⁻¹ foi inferior às obtidas por Mezette (2007) de 21,0 ton ha⁻¹ e Rimoldi et al. (2003) de 27,35 ton ha⁻¹. Já o CV de 24,1% foi pouco superior aos obtidos por Rimoldi et al. (2003) de 21,2% e Mezette (2007) de 22,9%.

Tabela 9 - Valores e significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹) e PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹) de mandioca, entre e dentro de cada região (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS				
		ATP ¹	APR ¹	B/A ¹	PePA ¹	PeTP ¹
Região	3	0,16**	0,23**	24,63**	0,28 ^{n.s.}	3,68 ^{n.s.}
AM	32	0,05**	0,04**	2,10**	1,71**	3,20**
CO	23	0,07**	0,03**	1,87**	1,37**	2,91**
S	3	0,08**	0,04**	8,24**	0,94 ^{n.s.}	3,54*
SE	17	0,04**	0,06**	2,38**	0,81 ^{n.s.}	1,78*
Bloco	2	0,12**	0,01 ^{n.s.}	0,41 ^{n.s.}	3,69*	2,55 ^{n.s.}
Resíduo	226	0,03	0,02	1,19	0,79	1,54
Média Geral		2,11	0,62	29,75	18,43	33,88
Média AM		2,20 ab ²	0,49 c	22,54 b	18,69 a	33,01 a
Média CO		1,92 b	0,63 b	34,18 a	17,80 a	33,45 a
Média S		2,39 a	0,93 a	42,58 a	19,85 a	43,87 a
Média SE		2,14 ab	0,74 ab	33,87 a	19,49 a	33,85 a
CV%		9,91	12,31	20,31	24,10	26,04

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.}Não significativo;

¹ Dados de ATP, APR, B/A, PePA, PeTP transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ (exceto nos valores de médias);

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para ATP, PePA e PeTP (Tabela 10) as variedades testemunhas apresentaram-se superior em relação aos valores médios obtidos pelos acessos (Tabela 9). Já para APR e B/A os acessos foram superiores, possivelmente devido às médias obtidas pelos genótipos da região S, que apresentaram valores consideravelmente superiores principalmente com relação à altura da primeira ramificação. Da mesma forma como ocorreu para as outras características, as variedades apresentaram menor coeficiente de variação (ATP – 3,83%; APR – 1,80%; B/A – 0,95%; PePA – 2,36%; PeTP – 9,21%) (Tabela 10), que os acessos avaliados (Tabela 9).

Tabela 10 - Valores médios considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹) e PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹) de mandioca, das variedades testemunha IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica				
	ATP	APR	B/A	PePA	PeTP
IAC 576-70	2,70	0,43	15,97	25,28	56,00
IAC 6-01	2,38	0,73	30,89	15,32	32,93
Média Geral	2,54	0,58	23,43	20,30	44,47
CV%	3,83	1,80	0,95	2,36	9,21

A amplitude de variação foi grande entre os genótipos para todos os caracteres agronômicos avaliados (Tabela 11). Para a altura total da planta (ATP) o genótipo mais alto apresentou média de 3 m (DG 762 – Amazônia) e o mais baixo foi o DG 064 (Amazônia), com média de 1,23 m. Considerando a amplitude dentro de regiões, entre os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi de 1,25 m (MS 080) a 2,77 (MS 257 e MS 159). Na região Sul os valores médios variaram de 1,65 m (SRT 1521) a 2,77 m (SRT 1514). O genótipo mais alto da região Sudeste foi o T 143 com média de 2,93 m, e o mais baixo foi o T 056 (1,58 m). Kvitschal (2008) avaliando 75 acessos de mandioca de mesa coletados no município de Maringá, obteve uma amplitude de variação de 1,34m a 2,36m.

Para a altura da primeira ramificação (APR), a variação entre os genótipos foi de 0,20 m (DG 043 – Amazônia) a 1,53 m (T 143 – Sudeste). Entre os genótipos da Amazônia a variação foi de 0,2 m (DG 043) a 1,10 m (DG 275). Na região Centro-Oeste a menor média foi apresentada pelo genótipo MS 189 (0,37 m) e a maior pelo MS 172 (1,17 m). A menor média na região Sul foi do genótipo SRT 1520 (0,60 m) e a maior do SRT 1521 (1,25 m). Para os genótipos da região Sudeste a variação foi entre 0,35 m (T 050) e 1,53 m (T 143). Mezette (2007) obteve uma variação entre os 13 genótipos de mandioca de mesa avaliados de 0,75 m a 1,13 m.

Considerando a relação entre a APR e ATP (B/A), a variação foi de 11,27% (DG 043 – Amazônia) a 76,21% (SRT 1521 – Sul). A variação dentro da região Amazônica foi de 11,27% (DG 043) a 40,02% (DG 275). Entre os genótipos da região Centro-Oeste os valores médios variaram de 18,38% (MS 189) a 50,60% (MS 080). Na região Sul os valores variam entre 24,64% (SRT 1520) e 76,21% (SRT 1521). Já para a região Sudeste a variação foi de 17,73% (T 050) a 55,03% (SRT 1142). Os dados obtidos por Mezette (2007) variaram de 33,7% a 57,1%.

Para o número de raízes comerciais por planta (NRC), o genótipo DG 138 (Amazônia) não produziu raízes comerciais e o genótipo DG 762 (Amazônia) foi o que produziu o maior número (24,3 raízes). Considerando a amplitude dentro de regiões, verifica-se que entre os genótipos da região Centro-Oeste a menor média para NRC foi do genótipo MS 304 (3,0) e a maior foi do MS 172 (24,0). Entre os genótipos da região Sul a menor média foi do acesso DG 136 (13,7) e a maior foi do genótipo SRT 1521 (18,0). Já para os genótipos da região Sudeste o genótipo T 050 apresentou a menor valor médio de 4,5 raízes comerciais e o DG 128 a maior média, com 18,3 raízes comerciais.

Para a produção de raízes comerciais (PRC), a amplitude entre todos os genótipos variou entre zero ton ha⁻¹ (DG 138 – Amazônia) e 21,9 ton ha⁻¹ (DG 762 – Amazônia). Já

dentro de regiões, o genótipo MS 304 teve a menor produtividade ($2,42 \text{ ton ha}^{-1}$) e o MS 172 a maior ($17,78 \text{ ton ha}^{-1}$) entre os genótipos da região Centro-Oeste. Entre os genótipos da região Sul, o de menor produtividade foi o SRT 1520 ($12,56 \text{ ton ha}^{-1}$) e o de maior foi o SRT 1514 ($15,13 \text{ ton ha}^{-1}$). Na região Sudeste o genótipo T 151 foi o que apresentou menor produtividade ($3,10 \text{ ton ha}^{-1}$) e o que apresentou maior foi o DG 128 ($11,71 \text{ ton ha}^{-1}$). Mezette (2007) obteve amplitude de variação de $12,1 \text{ ton ha}^{-1}$ a $24,3 \text{ ton ha}^{-1}$.

Considerando o peso de raízes comerciais (PeRC), as médias variaram de $293,8 \text{ g raiz}^{-1}$ (MS 100 – Centro-Oeste) a $1086,7 \text{ g raiz}^{-1}$ (MS 0,22 – Centro-Oeste). Entre os genótipos da região Amazônica a variação foi de $311,5 \text{ g raiz}^{-1}$ (DG 051) a $983,3 \text{ g raiz}^{-1}$ (DG 057). Na região Sul os valores médios variaram de $601,1 \text{ g raiz}^{-1}$ (SRT 1520) a $798,1 \text{ g raiz}^{-1}$ (DG 136). Na região Sudeste a variação foi de $404,3 \text{ g raiz}^{-1}$ (T 151) a $712,5 \text{ g raiz}^{-1}$ (DG 637).

A variação entre os genótipos para o número de raízes descarte (NRD) foi de 5,0 raízes (DG 138 – Amazônia) a 44 raízes (SRT 1514 – Sul). Na região Amazônica a variação foi de 5,0 raízes (DG 138) a 33,7 raízes (SRT 1449). Dentre os genótipos da região Centro-Oeste, o que produziu menor número de raízes descarte foi o MS 100 (6,3 raízes) e os que produziram o maior número foram os genótipos MS 257 e MS 300 (34,3 raízes). Na região Sul o genótipo SRT 1521 produziu o menor número de raízes descarte (11,7 raízes) e o que produziu maior número foi o SRT 1514 (44 raízes). Na região Sudeste a variação foi de 11,7 raízes (SRT 1140) a 39,7 raízes (DG 637).

Para a produção de raízes descarte (PRD), a variação entre todos os genótipos foi de $1,60 \text{ ton ha}^{-1}$ (DG 138 – Amazônia) a $13,82 \text{ ton ha}^{-1}$ (DG 762 – Amazônia). Na região Centro-Oeste a variação foi entre MS 304 ($2,11 \text{ ton ha}^{-1}$) e MS 257 ($13,27 \text{ ton ha}^{-1}$). Entre os genótipos da região Sul, o que mais produziu raízes descarte foi o SRT 1514 ($12,91 \text{ ton ha}^{-1}$) e o menos produtivo foi o SRT 1521 ($3,31 \text{ ton ha}^{-1}$). O genótipo DG 637 foi o que mais produziu raízes descarte na região Sudeste ($10,24 \text{ ton ha}^{-1}$) e o que menos produziu foi o T 050 ($2,57 \text{ ton ha}^{-1}$). Para PRD, Mezette (2007) obteve variação, não significativa estatisticamente, entre $3,1 \text{ ton ha}^{-1}$ e $7,1 \text{ ton ha}^{-1}$, o que demonstra que entre materiais melhorados a variação é bem menor.

O peso de raízes descarte (PeRD) variou de $121,4 \text{ g raiz}^{-1}$ (MS 304 – Centro-Oeste) a $383,5 \text{ g raiz}^{-1}$ (DG 762 – Amazônia). Dentre os genótipos da região Amazônica o que apresentou menor massa de raiz foi o DG 064 ($150,0 \text{ g raiz}^{-1}$). Na região Centro-Oeste o que produziu maior massa de raiz foi o MS 100 ($334,2 \text{ g raiz}^{-1}$). Na região Sul a variação foi entre $217,0 \text{ g raiz}^{-1}$ (SRT 1514) e $310,6 \text{ g raiz}^{-1}$ (SRT 1520). Já para a região Sudeste a variação foi entre $149,5 \text{ g raiz}^{-1}$ (T 040) e $322,9 \text{ g raiz}^{-1}$ (DG 746).

Para número de raízes (NR) a variação foi de 5,0 raízes (DG 138 – Amazônia) a 61 raízes (SRT 1514 – Sul). Entre os genótipos da região Amazônica o que mais produziu raízes foi o DG 762 com média de 51 raízes. Já entre os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi de 11,7 raízes (MS 100) a 54 raízes (MS 172). Na região Sul o número de raízes variou de 17,7 raízes (SRT 1521) a 61 raízes (SRT 1514). Entre os genótipos da região Sudeste a variação foi entre 16,5 raízes (T 050) e 51,7 raízes (DG 637).

Para a produção total de raízes (PTR), a variação foi bastante ampla, de 1,6 ton ha⁻¹ (DG 138 – Amazônia) a 34,91 ton ha⁻¹ (DG 762 – Amazônia). Entre os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi de 4,4 ton ha⁻¹ (MS 100) a 27,42 ton ha⁻¹ (MS 172). Na região Sul o genótipo mais produtivo foi o SRT 1514 (28,04 ton ha⁻¹) e o menos produtivo foi o SRT 1521 (8,33 ton ha⁻¹). Já na região Sudeste a variação foi de 5,67 ton ha⁻¹ (T 050) a 21,64 ton ha⁻¹ (DG 637). Borges et al. (2002) também obtiveram uma variação muito grande entre as 26 variedades avaliadas, com produtividade variando de 8,05 ton ha⁻¹ a 25,31 ton ha⁻¹. Já entre as 14 variedades de mesa avaliadas por Vidigal Filho (2007), a variação foi de 17,38 ton ha⁻¹ a 34,90 ton ha⁻¹.

Para a característica peso de raiz (PeR), a variação entre todos os genótipos foi de 203,7 g raiz⁻¹ (DG 051 – Amazônia) a 516,4 g raiz⁻¹ (DG 762 – Amazônia). Entre os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi entre 207,3 g raiz⁻¹ (MS 304) e 441,2 g raiz⁻¹ (MS 189). Dentre os genótipos da região Sul a variação foi de 345,0 g raiz⁻¹ (SRT 1514) a 413,2 g raiz⁻¹ (SRT 1520). Já para a região Sudeste a variação foi de 241,1 g raiz⁻¹ (T 151) a 393,7 g raiz⁻¹ (T 038).

Para a porcentagem de raízes descarte (D), a variação foi de 24,98% (SRT 1440 – Amazônia) a 100% (DG 139 – Amazônia). Para os genótipos da região Centro-Oeste o que apresentou menor média foi o MS 189 com 35,06% e o com maior média foi o MS 100 com 62,88%. Na região Sul a menor porcentagem média de raízes descarte foi a do genótipo DG 136 (44,89%) e a maior a do genótipo SRT 1521 (77,31%). Já entre os genótipos da região Sudeste, destaca-se o genótipo SRT 1440 (24,98%) e o que apresentou maior média foi o T 056 (58,39%).

Para a produção de parte aérea (PePA), a variação foi de 4,67 ton ha⁻¹ (DG 138 – Amazônia) a 35,02 ton ha⁻¹ (SRT 1379 – Amazônia). Entre os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi de 7,07 ton ha⁻¹ (T 002) a 31,36 ton ha⁻¹ (T 123). A variação entre os genótipos da região Sul foi entre 11,96 ton ha⁻¹ (SRT 1521) e 24,64 ton ha⁻¹ (DG 136). Já para os genótipos da região Sudeste foi de 8,33 ton ha⁻¹ (T 050) a 26,47 ton ha⁻¹ (T 081).

Para o peso total da planta (PeTP), o genótipo DG 762 (Amazônia) merece destaque por ter maior média (67,53 ton ha⁻¹) e o de menor média foi o DG 138 (Amazônia) (6,27 ton ha⁻¹). A variação entre os genótipos da região Centro-Oeste foi de 12,84 ton ha⁻¹ (MS 304) a 52,76 ton ha⁻¹ (MS 300). Entre os genótipos da região Sul a variação foi de 20,29 ton ha⁻¹ (SRT 1521) a 50,49 ton ha⁻¹ (SRT 1514). Já para os genótipos da região Sudeste a variação foi entre 12,11 ton ha⁻¹ (T 050) e 46,96 ton ha⁻¹ (DG 637).

A variação para o índice de colheita (IC) foi de 20,41% (DG 042 – Amazônia) a 55,05 (SRT 1514 – Sul). Entre os genótipos da região Amazônica o genótipo DG 275 merece destaque por apresentar a maior média (51,03%). Para os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi entre 29,26% (MS 100) e 54,37% (T 002). Entre os genótipos da região Sul o que apresentou menor média para IC foi o SRT 1521 (29,91). Já para os genótipos da região Sudeste a variação foi entre 33,95% (T 050) e 49,74 (T143). Mezette (2007) obteve variação entre 47,9% e 63,6%. Já Ojulong et al. (2008) obtiveram um mínimo de 9% e uma máximo de 83% para o IC.

Considerando todos os caracteres agronômicos avaliados, pode-se destacar o genótipo AMG 762 por apresentar valores superiores em grande parte das características. Comparando as suas médias com as das duas variedades testemunhas (IAC 576-70 e IAC 6-01) verifica-se que com relação a PRC a sua média foi intermediária (21,09 ton ha⁻¹) à das variedades (29,27 ton ha⁻¹ e 12,09 ton ha⁻¹). Para ATP e APR as médias foram superiores (ou pelo menos iguais) (3 m e 0,80 m, respectivamente). Para porcentagem de raízes descarte a média também foi intermediária (39,36%) a das variedades (IAC 576-70 – 28,63% e IAC 6-01 – 47,29%). Para PePA foi superior (32,62 ton ha⁻¹) à variedade IAC 6-01 (20,42 ton ha⁻¹) e bastante próxima à variedade IAC 576-70 (33,71 ton ha⁻¹). E para IC ficou abaixo (51,84%), mas bem próximo das variedades (IAC 576-70 – 54,81 e IAC 6-01 – 53,70).

Tabela 11 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹), PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹), NR – número de raízes por cinco plantas, PTR – produção total de raízes (t ha⁻¹), PeR – peso de raiz (g raiz⁻¹), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹), PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹) e IC – índice de colheita (%). Piracicaba, 2011

(continua)

Região	Genótipo	ATP	APR	B/A	NRC	PRC	PeRC	NRD	PRD	PeRD	NR	PTR	PeR	D	PePA	PeTP	IC
AM	DG 226	2,32	0,42	17,99	7,0	4,98	512,9	17,7	5,16	218,2	24,7	10,13	302,9	51,55	19,33	29,47	34,69
AM	DG 042	2,32	0,57	24,72	6,5	2,73	313,1	13,3	2,78	303,5	17,7	4,60	334,6	69,66	16,84	21,44	20,41
AM	DG 164	2,40	0,40	16,80	3,3	3,02	688,3	8,0	2,27	223,8	11,3	5,29	356,9	44,48	20,51	25,80	20,52
AM	DG 064	1,23	0,37	32,48	4,0	4,13	775,0	11,0	2,20	150,0	15,0	6,33	316,7	34,74	7,62	9,73	31,15
AM	DG 069	2,05	0,72	35,41	7,0	4,60	484,9	13,7	3,18	201,1	20,7	7,78	294,9	41,98	14,69	22,47	34,46
AM	DG 224	2,63	0,40	15,24	6,7	4,38	473,7	15,3	4,00	211,0	22,0	8,38	295,9	49,74	19,80	28,18	30,59
AM	DG 781	1,95	0,45	23,69	5,5	3,93	530,0	10,3	2,51	176,9	14,0	5,13	246,6	63,85	9,84	14,98	30,78
AM	DG 759	1,67	0,82	32,59	12,0	7,50	468,7	22,5	5,33	179,6	34,5	12,83	281,5	41,48	13,83	26,67	48,78
AM	DG 281	2,68	1,05	39,29	13,3	7,56	437,8	31,7	7,53	178,1	45,0	15,09	251,5	50,50	30,09	45,18	33,50
AM	DG 783	2,18	0,43	19,72	8,7	4,82	413,3	15,3	3,62	184,0	24,0	8,44	272,4	41,92	15,64	24,09	35,07
AM	DG 111	2,22	0,27	11,98	12,7	7,42	469,3	26,7	6,96	196,4	39,3	14,38	276,4	48,65	15,87	30,24	47,50
AM	DG 125	2,90	0,63	21,85	16,0	10,89	486,0	15,3	4,40	230,3	31,3	15,29	361,6	31,29	21,89	37,18	40,53
AM	DG 138	1,28	0,38	30,71	-	-	-	5,0	1,60	285,7	5,0	1,60	285,7	100,00	4,67	6,27	25,64
AM	DG 283	2,48	0,40	16,53	7,7	5,82	566,5	22,3	4,13	140,2	30,0	9,96	239,5	43,92	29,04	39,00	24,67
AM	DG 368	2,33	0,28	12,13	7,7	4,62	438,1	16,7	3,31	166,5	24,3	7,93	253,0	44,14	29,82	37,76	21,01
AM	DG 778	1,88	0,37	19,84	9,7	7,53	614,4	21,7	6,40	254,0	31,3	13,93	383,8	45,93	18,38	32,31	43,42
AM	DG 274	2,28	0,70	30,89	4,3	3,27	587,8	20,3	6,73	263,9	24,7	10,00	323,4	64,62	27,29	37,29	26,72
AM	DG 782	2,57	0,47	18,25	11,0	6,64	453,2	22,3	6,09	203,0	33,3	12,73	286,4	47,27	29,49	42,22	30,15
AM	DG 051	1,78	0,27	15,52	13,0	5,40	311,5	28,0	5,73	153,6	41,0	11,13	203,7	51,50	15,00	18,71	23,26
AM	DG 055	2,20	0,43	18,96	6,0	4,70	587,5	10,5	3,23	235,7	16,5	7,93	363,5	40,00	11,70	19,63	41,29
AM	DG 285	1,95	0,40	23,33	3,5	2,57	737,5	13,5	2,97	216,7	17,0	5,53	338,8	50,88	11,22	14,91	31,64
AM	DG 762	3,00	0,82	27,27	24,3	21,09	678,1	26,7	13,82	383,5	51,0	34,91	516,4	39,36	32,62	67,53	51,84
AM	DG 043	1,78	0,20	11,27	7,0	5,07	542,9	15,5	3,77	296,3	19,0	6,30	337,5	75,16	18,60	24,90	22,59
AM	DG 059	1,82	0,37	20,31	5,0	2,53	403,6	9,7	2,22	188,9	14,7	4,76	247,4	45,57	11,07	15,82	29,94
AM	DG 050	1,70	0,35	22,25	2,7	1,71	552,8	7,3	2,36	267,2	10,0	4,07	330,2	56,86	7,44	11,51	34,54

Tabela 11 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹), PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹), NR – número de raízes por cinco plantas, PTR – produção total de raízes (t ha⁻¹), PeR – peso de raiz (g raiz⁻¹), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹), PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹) e IC – índice de colheita (%). Piracicaba, 2011

(continuação)

Região	Genótipo	ATP	APR	B/A	NRC	PRC	PeRC	NRD	PRD	PeRD	NR	PTR	PeR	D	PePA	PeTP	IC
AM	DG 057	2,40	0,67	28,14	9,5	11,07	983,3	14,0	4,33	255,5	20,3	11,71	443,8	55,19	17,42	29,13	35,55
AM	DG 776	2,13	0,33	15,64	11,3	8,36	565,9	17,3	4,62	222,7	28,7	12,98	353,1	35,63	20,93	33,91	39,01
AM	DG 320	1,95	0,30	15,84	6,7	5,04	581,9	14,7	4,02	208,7	21,3	9,07	316,7	47,65	15,76	24,82	36,20
AM	DG 275	2,75	1,10	40,02	9,7	9,89	771,7	15,7	6,91	337,2	25,3	16,80	498,6	40,25	16,18	32,98	51,03
AM	SRT 1532	2,12	0,45	21,70	7,7	6,02	622,7	15,3	5,60	259,5	23,0	11,62	361,0	46,68	16,96	28,58	39,57
AM	SRT 1379	2,62	0,32	12,09	14,3	11,42	614,5	19,7	6,24	235,3	34,0	17,67	369,9	41,06	35,02	52,69	32,58
AM	SRT 1449	2,03	0,57	29,53	14,0	13,24	803,0	33,7	7,89	185,9	47,7	21,13	322,1	38,32	23,89	45,02	45,86
AM	SRT 1384	2,52	0,50	19,64	7,7	4,98	488,4	18,3	4,56	171,4	26,0	9,53	257,2	44,63	18,33	27,87	35,33
C.O.	MS 189	2,07	0,37	18,38	13,7	10,40	593,5	14,0	5,64	297,5	27,7	16,04	441,2	35,06	20,13	36,18	46,37
C.O.	MS 167	1,72	0,78	46,10	10,0	7,78	628,5	24,3	7,49	241,9	34,3	15,27	350,6	48,98	20,09	35,36	43,48
C.O.	MS 104	1,50	0,65	43,28	9,3	7,38	589,1	21,7	5,96	222,9	31,0	13,33	333,3	45,29	20,29	33,62	40,93
C.O.	MS 100	2,23	1,05	46,90	8,0	3,13	293,8	6,3	2,31	334,2	11,7	4,40	327,0	62,88	10,91	15,31	29,26
C.O.	MS 172	2,70	1,17	43,33	24,0	17,78	569,2	30,0	9,64	245,7	54,0	27,42	390,8	35,55	25,11	52,53	52,29
C.O.	MS 300	2,73	0,95	34,97	16,3	12,98	625,8	34,3	11,80	257,4	50,7	24,78	367,7	47,56	27,98	52,76	47,00
C.O.	MS 118	1,60	0,53	34,52	10,0	7,73	588,9	18,7	6,13	258,1	28,7	13,87	366,1	47,20	14,60	28,47	47,54
C.O.	MS 257	2,77	0,73	26,52	13,0	14,04	822,5	34,3	13,27	293,1	47,3	27,31	437,7	48,67	25,29	52,60	51,97
C.O.	MS 093	1,62	0,52	30,67	9,0	8,07	648,6	24,0	5,58	180,8	33,0	13,64	310,1	42,86	18,78	32,42	41,03
C.O.	MS 022	1,48	0,70	47,83	7,0	5,89	1086,7	21,7	5,13	182,9	28,7	11,02	286,0	48,44	16,89	27,91	39,60
C.O.	DG 420	1,73	0,70	42,45	9,0	7,33	611,1	18,0	6,93	288,9	27,0	14,27	396,3	48,60	12,27	17,02	34,41
C.O.	MS 159	2,77	0,82	30,07	14,0	11,87	649,0	20,0	7,00	273,9	34,0	18,87	422,6	41,88	23,44	42,31	44,43
C.O.	MS 334	1,60	0,40	25,36	8,3	6,04	527,6	13,7	5,31	279,4	22,0	11,36	372,9	46,60	9,69	21,04	52,95
C.O.	MS 103	1,38	0,50	36,43	5,3	3,29	467,3	19,0	3,60	144,7	24,3	6,89	212,9	52,79	17,49	24,38	29,64
C.O.	DG 032	1,95	0,40	20,53	7,0	5,07	630,0	12,3	4,11	272,9	19,3	9,18	425,9	41,41	14,18	23,36	40,02

Tabela 11 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹), PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹), NR – número de raízes por cinco plantas, PTR – produção total de raízes (t ha⁻¹), PeR – peso de raiz (g raiz⁻¹), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹), PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹) e IC – índice de colheita (%). Piracicaba, 2011

(continuação)																	
Região	Genótipo	ATP	APR	B/A	NRC	PRC	PeRC	NRD	PRD	PeRD	NR	PTR	PeR	D	PePA	PeTP	IC
C.O.	MS 080	1,25	0,58	50,60	14,0	12,20	571,9	15,0	4,11	214,2	24,3	12,24	319,7	58,70	10,69	22,93	43,12
C.O.	MS 304	1,65	0,60	36,43	3,0	2,42	704,2	14,7	2,11	121,4	17,7	4,53	207,3	47,47	8,31	12,84	37,33
C.O.	T 173	2,03	0,57	29,11	11,0	7,36	504,7	24,3	8,02	237,1	35,3	15,38	323,0	49,72	16,02	31,40	51,80
C.O.	T 193	2,57	0,87	34,45	16,3	11,02	506,3	26,7	8,02	223,5	43,0	19,04	325,7	40,81	24,42	43,47	42,35
C.O.	T 123	2,02	0,40	20,62	14,3	11,76	614,0	29,7	7,62	199,1	44,0	19,38	334,9	39,80	31,36	50,73	38,17
C.O.	T 002	1,43	0,52	37,71	6,7	4,02	449,6	18,3	5,13	214,4	25,0	9,16	275,0	57,50	7,07	16,22	54,37
C.O.	MS 063	1,65	0,42	28,81	11,0	9,07	618,9	19,0	4,78	194,0	30,0	13,84	346,1	35,33	15,84	29,69	46,63
C.O.	MS 301	1,77	0,47	26,32	15,0	10,93	559,4	28,3	7,07	186,8	43,3	18,00	314,1	38,46	18,91	36,91	49,19
C.O.	T 054	1,87	0,53	28,93	13,3	8,31	419,0	19,7	4,47	174,2	33,0	12,78	264,0	44,69	17,44	30,22	35,83
S	DG 136	2,72	0,80	30,38	13,7	14,09	798,1	34,3	11,62	277,7	48,0	25,71	411,8	44,89	24,64	50,36	51,60
S	SRT 1514	2,77	1,08	39,09	17,0	15,13	662,8	44,0	12,91	217,0	61,0	28,04	345,0	45,17	22,44	50,49	55,05
S	SRT 1521	1,65	1,25	76,21	18,0	15,07	627,8	11,7	3,31	301,4	17,7	8,33	358,6	77,31	11,96	20,29	29,91
S	SRT 1520	2,43	0,60	24,64	15,7	12,56	601,1	27,0	11,38	310,6	42,7	23,93	413,2	47,41	20,36	44,29	53,94
SE	DG 128	1,92	0,58	30,08	10,3	5,18	498,5	20,3	5,33	183,6	30,7	10,51	244,6	52,12	16,18	26,69	38,22
SE	DG 637	2,52	1,08	42,23	12,0	11,40	712,5	39,7	10,24	196,4	51,7	21,64	316,2	46,85	25,31	46,96	46,27
SE	DG 744	1,80	0,53	29,82	10,0	5,78	430,6	20,0	6,69	256,1	30,0	12,47	317,7	53,20	14,09	26,56	49,48
SE	DG 746	1,78	0,42	23,37	9,3	6,42	519,0	19,7	8,44	322,9	29,0	14,87	377,6	57,18	17,60	32,47	45,87
SE	T 040	2,07	0,85	40,32	7,0	4,77	552,5	18,5	3,97	149,5	25,5	8,73	252,2	42,76	14,04	19,87	38,46
SE	T 081	2,73	1,07	38,79	12,0	10,09	622,1	31,3	9,53	223,2	43,3	19,62	333,8	48,21	26,47	46,09	42,41
SE	SRT 1503	1,97	0,55	28,06	9,7	7,31	564,5	21,7	8,02	278,1	31,3	15,33	367,1	52,18	17,47	32,80	47,46
SE	T 050	1,93	0,35	17,73	4,5	3,10	508,8	12,0	2,57	164,9	16,5	5,67	259,7	45,30	8,33	12,11	33,95
SE	DG 128	2,48	0,70	29,29	18,3	11,71	489,4	26,7	9,00	251,8	45,0	20,71	345,3	44,77	26,22	46,93	44,66
SE	T 056	1,58	0,37	23,01	6,3	4,98	587,3	23,7	6,78	289,0	30,0	11,76	357,8	58,39	18,00	29,76	39,45
SE	T 034	1,68	0,58	34,98	7,7	7,00	682,4	16,7	5,27	252,0	24,3	12,27	386,5	42,57	15,73	28,00	43,73

Tabela 11 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹), PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹), NR – número de raízes por cinco plantas, PTR – produção total de raízes (t ha⁻¹), PeR – peso de raiz (g raiz⁻¹), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹), PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹) e IC – índice de colheita (%). Piracicaba, 2011

(conclusão)																	
Região	Genótipo	ATP	APR	B/A	NRC	PRC	PeRC	NRD	PRD	PeRD	NR	PTR	PeR	D	PePA	PeTP	IC
SE	SRT 1140	1,85	0,42	23,06	17,3	11,07	509,9	11,7	3,49	220,7	29,0	14,56	379,9	24,98	15,40	29,96	49,20
SE	T 151	2,00	0,63	31,95	12,7	7,64	404,3	25,0	5,62	161,1	37,7	13,27	241,1	46,25	12,38	25,64	46,61
SE	T 038	2,75	0,77	27,75	12,7	11,47	653,0	21,7	6,00	233,8	34,3	17,47	393,7	35,78	23,73	41,20	41,20
SE	T 045	2,35	0,65	27,96	12,5	11,00	659,4	28,5	7,40	189,0	41,0	18,40	338,9	39,46	20,40	38,80	47,45
SE	T 143	2,93	1,53	53,38	16,3	11,53	531,2	29,0	8,67	222,7	45,3	20,20	337,1	42,55	20,53	40,73	49,74
SE	SRT 1142	2,27	1,22	55,03	7,7	5,84	560,3	23,3	7,11	218,4	31,0	12,96	297,3	54,08	22,24	35,20	35,03
V	IAC 6-01	2,38	0,73	30,89	17,3	12,09	542,8	37,3	11,40	226,5	54,7	23,49	329,9	47,29	20,42	43,91	53,70
V	IAC 576-70	2,70	0,43	15,97	31,7	29,27	697,3	27,0	11,69	333,8	58,7	40,96	530,4	28,63	33,71	74,67	54,81

A partir dos valores médios de cada um dos genótipos para as 16 características agronômicas (Tabela 11), foi realizada a análise de componentes principais, onde o valor acumulado do componente 1 (60,8%) mais o componente 2 (21,0%) foi de 81,8% (Figura 2). Através da análise de componentes principais verificou-se a formação de um grupo composto pelos genótipos originados da região Amazônica, destacado por um círculo (Figura 2). Juntamente com a análise dos quadros de análise de variância (Tabelas 3, 5, 7 e 9) é possível constatar que as características que mais influenciaram este agrupamento foram a B/A, APR e IC, que entre os genótipos oriundos da região Amazônica apresentaram os menores valores. A relação entre a altura da primeira ramificação e a altura total da planta (B/A) e a altura da primeira ramificação (APR) são características que visualmente no banco de germoplasma possibilitam distinguir os genótipos amazônicos, pois estas plantas apresentam uma alta capacidade de ocupação espacial já que começam a ramificar com pouca altura, o que dificulta a aplicação dos tratos culturais. Verifica-se também na Figura 2 que tanto os genótipos originados da região Centro-Oeste quanto da região Sudeste, apresentam uma distribuição aleatória, não se agrupando em função das características agronômicas, o que pode ser observado também pelos quadros de análise de variância, onde os valores médios para a maioria das características não se distinguiram das demais regiões (Tabelas 3, 5, 7 e 9). A região Sul, por ter menor representatividade em função do número reduzido de genótipos, evidenciou a formação de um pequeno grupo, destacado num retângulo (Figura 2) composto por três dos quatro genótipos que compõe esta região em função da alta produção de raiz comercial (PRC) (Tabela 3).

Figura 2 - Análise de componentes principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18 - verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados pelos caracteres altura total da planta (ATP), altura da primeira ramificação (APR), relação entre a altura da primeira ramificação e altura total da planta (B/A), produção de raízes comerciais (PRC), produção de raízes descarte (PRD), produção total de raízes (PRT), porcentagem de raízes descartadas(D), peso de parte aérea (PePA), peso total da planta (PeTP) e índice de colheita (IC). Piracicaba, 2011

A utilização da distância de Mahalanobis, obtida através de variáveis canônicas, é mais eficiente quando existe resíduo no experimento, ou seja, quando há repetições, já que ela faz uso de uma matriz de variâncias e covariâncias residuais (CRUZ et al., 1990). A dispersão dos acessos a partir desta análise pode ser observada na Figura 3. Verifica-se a formação de dois grupos, com tendência de agrupamento dos genótipos da região Amazônica, o que também foi observado na análise de componentes principais.

As três características que mais diferenciaram os dois grupos foram APR, B/A e IC, sendo que existe uma relação direta entre a altura da primeira ramificação e B/A. No grupo I os genótipos apresentam em média valores baixos para APR e, conseqüentemente, valores baixos para B/A. Para IC os valores apresentados pelos genótipos do grupo I também são menores, em média, em relação aos valores apresentados pelos genótipos do grupo II.

Figura 3 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Mahalanobis baseada em 16 caracteres agrônômicos para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011

4.2 Caracteres bioquímicos

Para o teor de compostos cianogênicos (Tabela 12) verificou-se variação altamente significativa pelo teste F ($P \leq 0,01$) entre as regiões de origem dos acessos e também dentro

de cada região, indicando que existe alta variabilidade para o caráter entre os indivíduos que compõe cada região. A região Amazônica foi a que apresentou valor médio mais elevado para o teor de compostos cianogênicos ($547,82 \text{ mg kg}^{-1}$), bastante superior aos valores médios das demais regiões.

As áreas de maior cultivo de mandioca brava, antes da chegada dos portugueses ao Brasil, não coincidia com as áreas de cultivo de milho (RENVOIZE, 1972). Já a mandioca mansa não era o principal alimento da população, pois sempre estava subordinada ao milho (SAUER, 1987). Porém, de acordo com Piperno e Pearsall (1998) alguns grupos da região oeste da Amazônia e do rio Amazonas a tinham como principal cultura alimentar.

Durante o processo de domesticação da mandioca, inicialmente foram selecionadas principalmente as plantas mais doces (com menor potencial cianogênico) (ARROYO-KALYN, 2010). O surgimento de tecnologias de processamento para armazenagem e, consequentemente, a desintoxicação das raízes de mandioca, permitiu a utilização de mandiocas bravas, uma vez que estas eram selecionadas por seleção natural já que o aumento da toxicidade servia como uma defesa natural da planta contra herbívoros (McKEY; BECKERMAN, 1993). De acordo com estes autores, esta defesa pode ter sido importante para a manutenção de rendimentos de raízes das plantas cultivadas nos solos pobres da Amazônia.

Os resultados obtidos demonstram uma maior tendência dos genótipos originários da Amazônia a serem considerados bravos, ou seja, apresentarem altas concentrações de compostos cianogênicos em suas raízes. De acordo com Mühlen et al. (2005), em algumas regiões, especialmente na Amazônia, somente se cultivava mandiocas bravas e, no sul do Brasil predominam as mandiocas mansas. Em levantamento realizado por Galera (2008), onde através de dados da literatura montou-se um mapa da distribuição geográfica no Brasil das mandiocas bravas e mansas, encontram-se dados que também corroboram os dados obtidos neste trabalho. Segundo o autor, ocorre um predomínio de mandiocas bravas ao longo dos rios da Floresta Amazônica. Já as mandiocas mansas predominam numa faixa que vai do Estado do Acre até a região Sul do Brasil. Ainda segundo o autor, encontram-se mandiocas bravas no norte do Estado do Paraná, São Paulo e sudeste do Mato Grosso do Sul, o que pode ser explicado por uma possível introdução recente para cultivo dessas variedades visando a produção de farinha e fécula.

Tabela 12 - Valor e significância do quadrado médio obtido na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando a característica teor de compostos cianogênicos (mg kg⁻¹), entre e dentro de regiões (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADO MÉDIO
		HCN ¹
Região	3	2621,70**
AM	32	120,83**
CO	23	25,98**
S	3	25,72**
SE	17	48,68**
Bloco	2	16,22 ^{n.s.}
Resíduo	202	28,14
Média Geral	-	298,71
Média AM	-	547,82 a ¹
Média CO	-	110,19 b
Média S	-	89,65 b
Média SE	-	155,22 b
CV(%)	-	36,71

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.} Não significativo;

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para o teor de compostos cianogênicos, a variedade IAC 576-70 apresentou média de 81,3 mg kg⁻¹ de polpa seca, resultado superior ao obtido por Mezette et al. (2009), 30,9 mg kg⁻¹. Já a variedade IAC 6-01, recentemente lançada, apresentou concentração de glicosídeos cianogênicos (239,1 mg kg⁻¹ de polpa seca ou 74,9 mg kg⁻¹ de polpa fresca) dentro do recomendado para consumo in natura, que é de 100 mg kg⁻¹ de polpa fresca (Tabela 13).

O coeficiente de variação do teor de compostos cianogênicos para variedades foi baixíssimo (2,59% - Tabela 13) comparado aos CV obtidos para os genótipos coletados nas diferentes regiões brasileiras (36,71% - Tabela 12) e de acordo com o obtido por Mezette et al. (2009), que avaliou clones melhorados e obteve CV de 5,24%.

Tabela 13 – Valor médios considerando a característica teor de compostos cianogênicos (mg kg⁻¹), das variedades IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica
	HCN
IAC 576-70	81,3
IAC 6-01	239,1
Média Geral	160,2
CV%	2,59

Os carotenoides desempenham diversas funções nas plantas. O papel destes pigmentos é determinado primeiramente por sua localização em tecidos fotossintéticos ou não fotossintéticos. Nos tecidos fotossintéticos de plantas superiores eles são essenciais na função de foto-proteção, bloqueando a formação de oxigênios reativos. Em tecidos não fotossintéticos os carotenoides localizam-se nos cromoplastos e contribuem para a coloração amarela, laranja e vermelha de muitas pétalas de flores, frutos e algumas raízes (BARTLEY et al., 1994).

Diversos trabalhos da literatura descrevem a grande diversidade entre genótipos de mandioca que apresentam carotenoides em suas raízes (IGLESIAS et al., 1997; CHÁVEZ et al., 2005; NASSAR, 2007; FERREIRA et al., 2008; ESUMA et al., 2012). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que em média os genótipos da região Amazônica apresentaram os maiores valores para carotenoides totais (Tabela 14). De acordo com Nassar (2007) a avaliação de genótipos de origem indígena, como os da região Amazônica, vem revelando muitos genótipos ricos em carotenoides que já sofreram um processo de domesticação ao longo dos anos, visando esta característica. Essa seleção possivelmente foi realizada de forma indireta, a partir da coloração das raízes, que apresentam forte correlação com a quantidade de carotenoides, ou seja, quanto mais carotenoide mais forte é a coloração (MEZETTE et al., 2009; IGLESIAS et al., 1997; CHÁVEZ et al., 2005).

Verificando-se os valores médios de cada genótipo têm-se uma variação de 0,12 mg 100g⁻¹ (T 040 – região Sudeste) a 5,04 mg 100g⁻¹ de tecido seco (DG 059 – região Amazônica) ou de 0,05 mg 100g⁻¹ a 1,832 mg 100g⁻¹ de tecido fresco, o que demonstra uma enorme amplitude de variação entre os genótipos para carotenoides totais. Chávez et al. (2005), ao avaliarem características de qualidade da raiz de mandioca, observaram que os teores de carotenóides variaram muito (0,102 a 1,040 mg 100g⁻¹ de tecido fresco) entre os mais de dois mil genótipos avaliados.

Para as concentrações de β -caroteno e vitamina A, as médias dos genótipos das regiões Amazônica e Centro-Oeste merecem destaque por apresentarem os maiores valores. Levando-se em consideração a porcentagem de β -caroteno em relação ao teor de carotenoides totais, verifica-se que, em média, os genótipos da Amazônia foram os que apresentaram menor valor (35%), seguido das regiões Sudeste (50,5%), Centro-Oeste (53,3%) e Sul (62,5%). A partir destes resultados é possível inferir que os genótipos amazônicos apresentam um perfil de carotenoides onde a presença de β -caroteno não é a predominante. A partir disso, é possível inferir que o teor de vitamina A dos genótipos está subestimado, já que a outra parte dos carotenoides totais pode ser composta de α -caroteno, que tem atividade vitamínica A de 50%

(CARVALHO, 1996 apud BAUERNFEIND, 1972). Ortega-Flores (1991) relatou que o primeiro trabalho em que se determinou a presença de carotenos em mandioca foi o de Maravalhas (1964). Este autor verificou a presença de carotenoides em variedades amazônicas de mandioca, constatando a predominância de α -caroteno.

Tabela 14 - Valores e significâncias dos quadrados médios obtido na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando as características CT – carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), β -caroteno ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$) e Vit. A – vitamina A ($\text{UI } 100\text{g}^{-1}$), entre e dentro de regiões (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS		
		CT	β -caroteno	Vit. A
Região	3	2,21**	693,12**	374,78**
AM	32	0,37**	192,09**	106,64**
CO	23	0,21**	118,56**	66,01**
S	3	0,02**	75,19**	41,66**
SE	17	0,07**	107,51**	61,43**
Bloco	2	0,018 ^{n.s.}	9,64 ^{n.s.}	5,99 ^{n.s.}
Resíduo	207	0,09	53,7	29,93
Média geral	-	1,08	451,15	251
Média AM	-	1,66 a ¹	586,43 a	326 a
Média CO	-	0,85 b	452,77 a	252 a
Média S	-	0,35 b	218,63 b	121 b
Média SE	-	0,50 b	252,64 b	143 b
CV(%)	-	24,96	37,96	37,96

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.} Não significativo;

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Apesar dos valores dos coeficientes de variação serem considerados altos para as três características (Tabela 14), já que para as variedades utilizadas estes valores foram baixos (Tabela 15), foi possível identificar a variação entre as regiões e entre os genótipos que compõe cada região.

Entre as variedades foi constatada uma variação significativa para os teores de carotenoides totais, β -caroteno e vitamina A (Tabela 15). Comparando as médias da variedade IAC 576-70 para as três características, verifica-se que os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com os resultados obtidos por Mezette et al. (2009) (carotenoides totais – $0,36 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e $286,8 \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$). Pode-se constatar também que a variedade IAC 6-01 merece destaque por apresentar altas concentrações de carotenoides totais, β -caroteno e vitamina A.

Tabela 15 - Valores médio considerando as características CT – carotenoides totais (mg 100g⁻¹), β-caroteno (μg 100g⁻¹) e Vit. A – vitamina A (UI 100g⁻¹), das variedades IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica		
	CT	β-caroteno	Vit. A
IAC 576-70	0,38	214,3	119
IAC 6-01	2,79	1979,8	1100
Média Geral	1,60	1102,7	613
CV(%)	1,18	4,64	4,82

O teor de matéria seca variou significativamente ($P > 0,01$) entre as regiões e também entre os genótipos originados de cada região (Tabela 16). Pode-se destacar os genótipos da região Centro-Oeste, que apresentaram valores médios de 41,33%. O coeficiente de variação para esta característica foi bastante satisfatório (4,38%). Entre todos os genótipos avaliados verifica-se uma grande amplitude de variação, sendo o genótipo T 050 (Sudeste) o que possui menor teor de matéria seca (29,03%) e o genótipo T 040 (Sudeste) o que possui maior teor (44,84%) (Tabela 18). Kawuki et al. (2011), avaliando 952 genótipos de mandioca originados de seis programas de melhoramento de diferentes países da África (Uganda, Quênia, Tanzânia, Ruanda, Congo e Madagascar), verificaram uma amplitude de variação ainda maior, de 16,3% a 49,6%.

Tabela 16 - Valor e significância do quadrado médio obtido na análise de variância do experimento em blocos casualizados, considerando a característica teor de matéria seca (%), entre e dentro de regiões (AM – Amazônia; CO – Centro-Oeste; S – Sul; SE – Sudeste). Piracicaba, 2011

F.V.	G.L.	QUADRADO MÉDIO
		Matéria seca ¹
Região	3	0,52**
AM	32	0,18**
CO	23	0,07**
S	3	0,17**
SE	17	0,19**
Bloco	2	0,06 ^{n.s.}
Resíduo	208	0,08
Média geral	-	40,08
Média AM	-	39,20 ab ²
Média CO	-	41,33 a
Média S	-	39,04 b
Média SE	-	40,25 ab
C.V.(%)	-	4,38

*Teste F significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade;

^{n.s.} Não significativo;

¹ Dados de matéria seca transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ (exceto nos valores de médias);

² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para variedades também ocorreu variação significativa, mas de acordo com Mezette et al. (2009) a média da variedade IAC 576-70 (43,58%) ficou um pouco acima do resultado obtido no presente estudo (39,91%) (Tabela 17).

Tabela 17 - Valor médio considerando a característica teor de matéria seca (%) das variedades IAC 576-70 e IAC 6-01. Piracicaba, 2011

Variedade	Característica
	Matéria seca
IAC 576-70	39,91
IAC 6-01	31,35
Média Geral	35,6
C.V.(%)	2,24

Para os caracteres bioquímicos também se observou ampla variação entre os genótipos (Tabela 18). Para o teor de compostos cianogênicos (HCN) a variação entre todos os genótipos foi de 32,9 mg kg⁻¹ (T 038 – Sudeste) a 1364,0 mg kg⁻¹ (T 050 – Sudeste). Entre os genótipos da região Amazônica a variação foi de 99,8 mg kg⁻¹ (SRT 1532) a 1190,1 mg kg⁻¹ (DG 274). Para os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi entre 38,0 mg kg⁻¹ (T 002 e MS 159) e 416,2 mg kg⁻¹ (DG 420). Já para os genótipos da região Sul a amplitude foi de 59,1 mg kg⁻¹ (DG 136) a 163,8 mg kg⁻¹ (SRT 1521). Verifica-se nesses dados a superioridade dos genótipos da Amazônia com relação a este caráter, com vários genótipos apresentando valores elevados de HCN (Tabela 18). Para o Sudeste, com exceção do genótipo citado acima (T 050, com o maior valor observado entre todos os genótipos, os demais variaram entre 32,9 mg kg⁻¹ (T 038) a 126,3 mg kg⁻¹ (DG 128), ou seja, em média inferiores aos da Amazônia. Borges et al. (2002) avaliando somente variedade selecionadas para mesa obtiveram variação bem menor, sendo o mínimo de 35,93 mg kg⁻¹ e o máximo de 209,36 mg kg⁻¹ (imprópria para consumo humano). Kvitschal (2008) também avaliando mandiocas para a mesa obteve variação ainda menor, de 40,87 mg kg⁻¹ a 78,94 mg kg⁻¹.

Para os teores β -caroteno e, conseqüentemente, de vitamina A (Vit. A), a variação entre todos os genótipos foi de 20,1 μ g 100g⁻¹ (T040 – Sudeste) a 1805,4 μ g 100g⁻¹ (DG 069 – Amazônia). Entre os genótipos da Amazônia o que apresentou menor teor de β -caroteno foi o SRT 1370 (32,5 μ g 100g⁻¹). Entre os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi de 35,0 μ g 100g⁻¹ (T 123) a 1573,1 μ g 100 g⁻¹ (MS 300). Já entre os genótipos da região Sul a variação foi de 44,3 μ g 100g⁻¹ (SRT 1520) a 330,4 μ g 100 g⁻¹ (SRT 1521). Entre os genótipos da região Sudeste o que apresentou maior teor de β -caroteno foi o SRT 1140 (802,4 μ g 100g⁻¹).

¹). Agbaje et al. (2007) avaliando 32 variedades amarelas e duas brancas provenientes do IITA, obtiveram ampla variação para β -caroteno, com valores entre $0,55 \text{ mg g}^{-1}$ a $4,035 \text{ mg g}^{-1}$.

A variação para o teor de carotenoides totais (CT) foi entre $0,12 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (T 040 – Sudeste) e $3,70 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (DG 069 – Amazônia). Entre os genótipos da região Amazônica o que apresentou menor teor de CT foi o SRT 1379 ($0,15 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). Para os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi entre $0,18 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (T 123) e $3,44 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (MS 100). Entre os genótipos da região Sul a variação foi de $0,15 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (SRT 1520) a $0,480 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (SRT 1521). Já entre os genótipos da região Sudeste o que apresentou maior teor de CT foi o T 050 ($1,85 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). Esuma et al. (2012), avaliando a diversidade genética entre 55 acessos de mandioca do CIAT, IITA e variedades locais da Uganda para carotenoides totais, obtiveram valores mínimo de $1,2 \text{ } \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$ e máximo de $14,2 \text{ } \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$, bem abaixo dos valores obtidos entre os genótipos avaliados neste estudo.

Para o teor de matéria seca (M.S.), a variação foi entre 29,03% (T 050 – Sudeste) e 44,84% (T 040 – Sudeste). Entre os genótipos da Amazônia a variação foi de 30,39% (DG224) a 44,75% (DG 781). Para os genótipos da região Centro-Oeste a variação foi entre 34,81% (DG 420) e 43,85% (MS 189). Já para os genótipos da região Sul a variação foi entre 34,97% (SRT 1521) e 41,66 (DG 136). A variação entre 26 variedades de mesa obtida por Borges et al (2002) foi de 29,54% a 38,20%. Já Kvitschal (2008) obteve uma variação de 28,5% a 40,28%. Nebiyu (2006) obteve um mínimo de 30,40% e um máximo de 44,35% entre os 36 acessos avaliados. Já Ojulong et al. (2008) observaram valor mínimo de 20,65% e máximo de 41,25% entre os 627 genótipos avaliados.

Considerando os cinco caracteres bioquímicos, o genótipo DG 069 se destaca por apresentar os maiores teores de β -caroteno, vitamina A e carotenoides totais. Mas para HCN a sua concentração (417 mg kg^{-1}) foi superior à recomendada para variedades de mesa (inferior a 100 mg de equivalente HCN/kg de polpa fresca de raiz). Valle et al. (2004), ao avaliar o teor de compostos cianogênicos em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas, verificaram a segregação transgressiva do caráter, permitindo o aparecimento de variedades bravas em cruzamentos que envolvem mandiocas com baixo potencial cianogênico. Portanto, é possível a utilização deste acesso como parental em programas de melhoramento.

Tabela 18 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características HCN – teor de compostos cianogênicos (mg kg^{-1}), teor de β -caroteno ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$), Vit. A - teor de vitamina A (UI 100g^{-1}), CT – teor de carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) e teor de matéria seca (%). Piracicaba, 2011
(continua)

Região	Genótipo	HCN	β -caroteno	Vit A	CT	Matéria seca
AM	DG 050	468,9	210,5	117	1,16	38,75
AM	DG 226	400,0	514,5	287	1,23	39,90
AM	DG 042	1019,1	342,5	189	1,53	32,23
AM	DG 164	1073,8	763,7	424	1,44	35,98
AM	DG 064	797,4	595,7	331	2,71	42,00
AM	DG 069	417,0	1805,4	1003	3,70	40,21
AM	DG 224	1088,8	452,2	251	1,87	30,39
AM	DG 781	675,9	409,9	228	1,89	44,75
AM	DG 759	404,8	291,1	161	0,55	43,98
AM	DG 281	188,0	267,2	148	0,52	41,83
AM	DG 783	295,5	633,1	351	1,59	41,07
AM	DG 111	437,7	853,3	475	3,14	40,51
AM	DG 125	399,4	1012,3	562	2,51	40,26
AM	DG 138	665,2	724,6	402	2,72	34,58
AM	DG 283	657,7	277,3	154	1,08	38,87
AM	DG 368	486,4	328,5	183	0,59	43,22
AM	DG 778	185,0	631,9	351	2,19	43,04
AM	DG 274	1190,1	649,1	361	1,00	38,39
AM	DG 782	697,4	353,1	196	1,88	35,14
AM	DG 051	753,7	1327,0	736	3,28	43,04
AM	DG 055	682,7	1346,3	748	0,86	38,25
AM	DG 285	587,0	800,4	445	2,40	40,23
AM	DG 762	170,0	309,3	172	0,61	40,35
AM	DG 043	220,8	900,1	500	2,67	41,57
AM	DG 059	396,8	1320,6	733	5,04	36,36
AM	DG 057	900,3	528,3	293	2,14	37,92
AM	DG 776	300,9	585,4	325	1,78	40,32
AM	DG 320	519,2	108,8	60	0,66	35,26
AM	DG 275	171,6	223,2	125	0,53	35,58
AM	SRT 1532	99,8	254,5	142	0,45	39,23
AM	SRT 1379	1075,3	32,5	18	0,15	43,06
AM	SRT 1449	314,3	36,2	20	0,19	37,94
AM	SRT 1384	262,8	406,4	226	0,66	39,57
CO	MS 189	84,5	651,0	361	0,58	43,85
CO	MS 167	72,2	494,2	275	0,57	43,54
CO	MS 104	69,2	398,2	221	0,54	43,49
CO	MS 100	333,2	165,4	91	3,44	39,33
CO	MS 172	76,8	274,3	153	0,41	41,43
CO	MS 300	76,5	1573,1	874	1,97	40,52
CO	MS 118	81,5	358,7	199	0,61	43,11
CO	MS 257	58,1	223,8	125	0,42	43,16
CO	MS 093	91,9	463,0	257	0,60	39,85

Tabela 18 - Valores médios de 81 genótipos de mandioca considerando as características HCN – teor de compostos cianogênicos (mg kg^{-1}), teor de β -caroteno ($\mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$), Vit. A - teor de vitamina A (UI 100g^{-1}), CT – teor de carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) e teor de matéria seca (%). Piracicaba, 2011 (conclusão)

Região	Genótipo	HCN	β -caroteno	Vit A	CT	Matéria seca
CO	MS 080	71,6	362,0	202	0,71	42,51
CO	MS 022	106,2	517,0	287	0,80	41,99
CO	DG 420	416,2	721,3	402	1,44	34,81
CO	MS 159	38,0	307,9	171	0,42	41,00
CO	MS 334	88,2	249,5	138	0,50	42,73
CO	MS 103	107,7	421,8	234	0,60	41,16
CO	DG 032	307,5	932,1	517	2,79	40,77
CO	MS 304	89,2	244,3	136	0,33	39,41
CO	T 173	66,9	318,8	177	0,38	42,94
CO	T 193	58,7	305,0	169	0,42	42,50
CO	T 123	60,8	35,0	19	0,18	37,44
CO	T 002	38,0	315,0	174	0,40	42,82
CO	MS 063	78,7	526,5	293	0,80	43,39
CO	MS 301	65,5	538,9	299	0,92	42,59
CO	T 054	104,1	450,4	251	0,51	37,49
S	DG 136	59,1	208,1	115	0,36	41,66
S	SRT 1514	44,3	291,2	161	0,40	41,59
S	SRT 1521	163,8	330,4	184	0,48	34,87
S	SRT 1520	90,2	44,3	25	0,15	38,04
SE	DG 128	126,3	277,6	153	0,38	37,36
SE	T 081	70,2	230,6	129	0,38	41,43
SE	DG 637	52,2	326,4	181	0,40	41,70
SE	DG 744	97,0	25,4	15	0,13	41,32
SE	DG 746	90,9	230,5	128	0,53	43,25
SE	T 040	40,9	20,1	11	0,12	44,84
SE	SRT 1503	92,7	340,6	189	0,51	40,99
SE	T 050	1364,0	444,2	248	1,85	29,03
SE	DG 128	70,2	298,8	165	0,50	38,89
SE	T 056	123,0	323,7	228	0,76	38,37
SE	T 034	94,6	463,3	257	0,61	42,47
SE	T 075	89,2	33,1	18	0,15	37,54
SE	SRT 1140	116,4	802,4	445	0,95	43,56
SE	T 151	124,5	29,1	16	0,14	40,72
SE	T 038	32,9	153,2	85	0,44	40,10
SE	T 045	81,6	22,2	12	0,17	44,32
SE	T 143	48,6	218,4	121	0,49	39,07
SE	SRT 1142	68,8	293,1	163	0,42	39,63
V	IAC 6-01	239,1	1979,8	1100	2,79	31,35
V	IAC 576-70	81,3	214,3	119	0,38	39,91

A partir dos valores médios para as cinco características bioquímicas avaliadas (Tabela 18), foi realizada a análise de componentes principais, onde o valor acumulado do componente 1 (69,16%) mais o componente 2 (30,75%) foi de 99,91% (Figura 4). Através da análise de componentes principais verificou-se a formação de dois grupos: o grupo I formado basicamente pelos genótipos originados da região Amazônica e o grupo II formado pelos genótipos das demais regiões (Figura 4). É possível verificar pela análise de componentes principais e os quadros de análise de variância (Tabelas 12 e 14) que as características que mais influenciaram no agrupamento dos genótipos amazônicos foram os teores de HCN e carotenoides totais. Já o teor de matéria seca pouco influenciou nos agrupamentos dos genótipos (Figura 4 e Tabela 16).

Figura 4 - Análise de componentes principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18- verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados para os caracteres bioquímicos, matéria seca (M.S.), teor de compostos cianogênicos (HCN), teor de β -caroteno (b-car), teor de carotenoides totais (CT) e vitamina A (Vit A). Piracicaba, 2011

A partir da distância de Mahalanobis para os dados bioquímicos, observou-se na análise de agrupamento a formação de dois grupos distintos, sendo que em um dos grupos (grupo II) ocorre a presença da grande maioria dos genótipos originados da região Amazônica, com exceção dos genótipos DG 762 e SRT 1532, e o grupo I compreende principalmente os genótipos das regiões Sul e Sudeste (Figura 5). Esta distribuição corrobora os resultados obtidos pela análise de componentes principais (Figura 4). Através dos valores médios dos genótipos para os caracteres bioquímicos (Tabela 18) verifica-se que os genótipos do grupo II (Figura 5) têm em média maior concentração de compostos cianogênicos e carotenoides totais, o que também está de acordo com a análise de componentes principais.

Figura 5 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Mahalanobis baseada em cinco caracteres bioquímicos para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011

4.3 Caracteres moleculares

A partir dos 17 locos de microssatélites avaliados observou-se elevada diversidade genética entre os cinco grupos, subdivididos em função do local de origem do material (Tabela 19). Para os cinco grupos a média de número de indivíduos analisados (N) foi de 14,7. A porcentagem de locos polimórficos (P) foi de 100% para todas as regiões, representando um percentual bastante elevado, o que vai de acordo com os dados apresentados na literatura (FREGENE et al., 2003; PERONI et al., 2007; ROCHA et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2009, 2010, 2011). De acordo com Torggler et al. (1995), um loco é considerado polimórfico quando a frequência do alelo mais comum é igual ou inferior a 0,95, sendo a razão entre os locos polimórficos e o número total de locos da amostra.

O número médio de alelos por loco polimórfico (A) foi 3,58, variando de 2,71 (variedades comerciais) a 4,24 (região Amazônica). É uma medida importante, pois trata-se de um componente de diversidade conhecido como riqueza alélica. Os dados obtidos podem ser comparados aos resultados obtidos por Siqueira et al. (2010), que avaliando a diversidade genética entre 83 acessos de mandioca coletadas em diferentes municípios do Estado de Mato Grosso do Sul, a partir de nove locos de microssatélites, obtiveram valores que variaram entre 2,33 e 4,77. Peroni et al. (2007), avaliando 136 variedades locais coletadas nas regiões da Amazônia e Mata Atlântica, identificadas como mandiocas doce ou amarga, por meio de nove microssatélites, apresentaram valor médio de 4,56. Utilizando 11 marcadores microssatélites, Kizito et al. (2007) avaliaram a diversidade genética entre 288 variedades de mandioca coletadas em três distritos de Uganda, obtendo valor médio para número de alelos por loco de 4,9. Já Fregene et al. (2003) observaram valor médio de 4,03 alelos por loco avaliando 283 acessos a partir de 67 locos de microssatélites. Lokko et al. (2006), avaliando 79 genótipos de mandioca do programa de melhoramento do Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) a partir de 18 locos de SSR, obtiveram média de número de alelos por loco polimórfico de 2,7, variando de 2,6 a 2,8.

A heterozigosidade é uma medida que se refere à variabilidade genética, que estima o quanto de variação existe numa população e como esta variação está distribuída em função dos alelos presentes em um determinado loco. Os dados obtidos demonstram ampla variabilidade genética para os locos analisados. Os valores obtidos para os parâmetros de diversidade genética foram similares entre os grupos estudados, com valor médio de heterozigosidade observada (H_o) igual a 0,535, sendo o valor mais baixo apresentado pelos genótipos oriundos da região Amazônica (0,472) e o valor mais alto obtido entre os genótipos

da região Sudeste (0,642). Já a heterozigosidade esperada (H_e), ou diversidade gênica, teve média de 0,639, com valores variando entre 0,594 (região Centro-Oeste) e 0,724 (variedades comerciais). Os resultados apresentados estão de acordo com os dados descritos na literatura (FREGENE et al., 2003; LOKKO et al., 2006; PERONI et al., 2007; ROCHA et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2009, 2010, 2011; ALVES-PEREIRA et al., 2012; CARRASCO, 2012). Fregene et al. (2003) obtiveram $H_o = 0,514$, em média, variando entre 0,430 para genótipos coletados na Venezuela e 0,596 para os coletados na Nigéria. Para H_e a média foi de 0,536, variando de 0,396 para genótipos coletados na Guatemala a 0,618 para os coletados na Colômbia. Lokko et al. (2006) observaram valores médios de H_o igual a 0,591, variando de 0,498 a 0,645, e H_e igual a 0,447, variando entre 0,444 e 0,519. Alves-Pereira et al. (2012) obtiveram, para plantas adultas, H_o médio igual a 0,576 e para *seedlings*, $H_o = 0,421$. Já para H_e a média para plantas adultas foi de 0,631 e para *seedlings* foi de 0,572. Segundo Rocha et al. (2008), estes altos níveis de heterozigosidade obtidos sugerem que a recombinação e o fluxo gênico podem desempenhar um importante papel na preservação da diversidade da espécie.

Tabela 19 – Número de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco polimórfico (A), heterozigosidade média observada (H_o) e a heterozigosidade média esperada (H_e) para os cinco grupos mandioca, relacionados ao local de coleta dos genótipos: AM – região Amazônica; CO – região Centro-Oeste; SE – região Sudeste; S – região Sul; Variedades comerciais. Piracicaba, 2011

Grupos	N	A	Heterozigosidade média	
			H_o	H_e
AM	29,8	4,24	0,472	0,619
CO	20,7	3,94	0,500	0,594
SE	16,6	3,94	0,642	0,634
S	3,8	3,06	0,500	0,626
Variedades comerciais	2,6	2,71	0,559	0,724
Média	14,7	3,58	0,535	0,639

Avaliando as mesmas características, mas levando em consideração o loco (Tabela 20) para número médio de alelos por loco polimórfico, verifica-se que o loco GA 131 obteve o maior valor (7,00) e o loco SSRY 35 o menor (2,00), obtendo-se uma média de 4,53 alelos por locos. Já as heterozigosidades médias observadas (H_o) e esperadas (H_e) variam de 0,125 (loco GA 126) a 0,802 (loco SSRY 43) e de 0,417 (loco SSRY 185) a 0,828 (loco GA 131), respectivamente. Levando-se em consideração o número de alelos por loco e comparando com os resultados obtidos por Carrasco (2012), que utilizou oito iniciadores também utilizados neste trabalho, num total de 14 iniciadores, verifica-se que apenas os iniciadores

SSRY 27, SSRY 40 e GA 12 apresentaram valores médios iguais. Os outros cinco iniciadores utilizados em comum não tiveram os mesmos resultados.

Tabela 20 – Número de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco polimórfico (A), heterozigosidade média observada (H_o) e heterozigosidade média esperada (H_e) para os cinco grupos mandioca, relacionados ao local de coleta dos genótipos: AM – região Amazônica; CO – região Centro-Oeste; SE – região Sudeste; S – região Sul; Variedades comerciais, analisadas por loco. Piracicaba, 2011

Loco	N	A	Heterozigosidade média	
			H_o	H_e
SSRY 8	71	4	0,521	0,637
SSRY 21	71	6	0,408	0,702
SSRY 27	72	4	0,291	0,532
SSRY 35	66	2	0,651	0,498
SSRY 40	75	4	0,427	0,750
SSRY 43	81	5	0,802	0,724
SSRY 141	74	3	0,500	0,653
SSRY 185	74	3	0,284	0,417
SSRY 324	75	4	0,600	0,635
GAGG 5	64	6	0,672	0,720
GA 12	82	3	0,621	0,600
GA 21	78	4	0,359	0,497
GA 126	80	6	0,125	0,697
GA 127	75	5	0,573	0,662
GA 131	68	7	0,691	0,828
GA 136	80	5	0,588	0,694
GA 140	64	6	0,734	0,796
Média	73,5	4,53	0,521	0,649

A variabilidade genética total (H_T), pelo índice de Nei (1973), atingiu uma média de 0,651, confirmando a alta diversidade genética entre os materiais avaliados (Tabela 21). A maior parte desta diversidade está concentrada dentro de regiões ($H_S = 0,643$), variando de 0,404 (loco SSRY 185) a 0,812 (loco GA 140). A diversidade genética entre os grupos foi baixa, representando apenas 0,8%. Já a média dos valores da proporção entre grupos (G_{ST}) foi de 0,012. Os resultados estão de acordo com os dados obtidos por Siqueira et al. (2010), onde H_T foi igual a 0,668 e a maior parte da diversidade também concentrou-se dentro de grupos ($H_S = 0,577$). Siqueira et al. (2009) obtiveram resultados similares, com diversidade genética total de 0,635 e H_S igual a 0,552. Fregene et al. (2003) também obtiveram resultados semelhantes, sendo que a maior parte da diversidade genética total ($H_T = 0,650$) está dentro das populações ($H_S = 0,581$). Carrasco (2012) ao avaliar variedades tradicionais de mandioca

originadas de três municípios do Estado do Mato Grosso, da Baixada Cuiabana, a partir de 14 iniciadores, verificou que a H_T foi de 0,593, sendo que, concordando com o presente estudo, a maior parte da diversidade estava concentrada dentro de grupos ($H_S = 0,558$). Lokko et al. (2006) obtiveram dados um pouco inferiores, com diversidade genética total igual a 0,514, mas também com a maior parte da diversidade dentro de grupos (0,466).

Tabela 21 – Parâmetros de diversidade genética de Nei (1973) para 17 locos de microsatélites considerando cinco grupos de mandioca: AM – região Amazônica; CO – região Centro-Oeste; SE – região Sudeste; S – região Sul; Variedade comerciais

Loco	H_S	H_T	D_{ST}	G_{ST}
SSRY 8	0,579	0,606	0,027	0,044
SSRY 21	0,625	0,707	0,082	0,116
SSRY 27	0,620	0,595	-0,025	-0,042
SSRY 35	0,517	0,499	-0,017	-0,035
SSRY 40	0,762	0,759	-0,003	-0,004
SSRY 43	0,738	0,723	-0,015	-0,021
SSRY 141	0,656	0,676	0,020	0,029
SSRY 185	0,404	0,387	-0,016	-0,042
SSRY 324	0,579	0,632	0,053	0,084
GAGG 5	0,705	0,702	-0,003	-0,006
GA 12	0,636	0,625	-0,011	-0,018
GA 21	0,526	0,523	-0,002	-0,006
GA 126	0,694	0,685	-0,009	-0,016
GA 127	0,632	0,664	0,032	0,048
GA 131	0,755	0,800	0,035	0,031
GA 136	0,664	0,677	0,012	0,018
GA 140	0,812	0,802	-0,011	-0,013
Média	0,643	0,651	0,008	0,012

¹ H_S (componente da diversidade dentro de grupos), H_T (diversidade genética total da espécie), D_{ST} (componente de diversidade entre grupos), G_{ST} (proporção da diversidade genética entre grupos, onde $G_{ST} = D_{ST}/H_T$).

A análise de agrupamento para os genótipos avaliados apresentou estruturação determinada em função da região de origem dos genótipos (Figura 6), com a classificação dos acessos em três grupos. O primeiro grupo foi composto por três acessos, sendo dois da região Centro-Oeste (61 – DG 746 e 64 – SRT 1503) e um da Amazônia (17 – DG 274). O segundo grupo foi composto basicamente pelos acessos da região Amazônica e o terceiro grupo pelos demais acessos. Em trabalhos da literatura foi confirmada a existência de uma diferenciação genética entre grupos regionais de cultivares, sendo que esta estruturação também está associada ao teor de compostos cianogênicos presentes nas raízes das plantas (MÜHLEN et al., 2000; MÜHLEN et al., 2005; PERONI et al., 2007). A estruturação pode estar associada a preferência alimentar dos agrupamentos humanos, uma vez que, por segurança alimentar os indígenas amazônicos optavam por mandiocas com altas concentrações de compostos

cianogênicos, por estas apresentarem certas vantagens em relação a proteção contra ataques de herbívoros. A estruturação também pode ocorrer devido a outros fatores. Alves-Pereira et al. (2012) verificaram a ocorrência de uma estruturação em função do tipo de solo em que os genótipos eram cultivados, sendo que aqueles que eram cultivados em várzea diferiram fortemente dos cultivados em terra firme.

Figura 6 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Rogers modificada por Wright baseada em 17 locos de microssatélites para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011

Para a análise da estruturação dos genótipos utilizando a abordagem bayesiana realizada pelo programa STRUCTURE, foram testados os valores de K variando entre 1 e 10, sendo o número ótimo de K escolhido a partir dos valores de ΔK (EVANNO et al., 2005). A partir desta metodologia verificou-se o valor ótimo de $K = 2$ (Figura 7).

Figura 7 – Valores de ΔK para cada valor de K , calculado de acordo com Evanno et al. (2005), sendo que o maior valor de ΔK corresponde ao K ótimo

O gráfico não-hierarquizado foi escolhido de acordo com o teste de atribuição considerando $K = 2$ (Figura 8). Do total de genótipos avaliados, 42% encontram-se no primeiro grupo (cor vermelha) e 58% no segundo grupo (cor verde). O primeiro grupo encontra-se representado por 29 genótipos originados da região Amazônica, dois genótipos da região Centro-Oeste (48 – DG 032 e 50 – MS 304), dois da região Sudeste (69 – T 075 e 73 – T 045) e um da região Sul (78 – SRT 1521). Já o segundo grupo encontra-se formado basicamente pelos genótipos das regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, além de quatro genótipos da região Amazônica (22 – DG 762, 28 – DG 320, 30 – SRT 1532 e 31 – SRT 1379). Entre as duas variedades comerciais, verifica-se que uma é mais próxima geneticamente dos genótipos do segundo grupo (80 – IAC 6-01) e a outra apresenta uma similaridade de alelos com os dois grupos (IAC 576-70). É importante salientar que a estruturação obtida pela análise bayesiana é bastante semelhante a obtida pelo método de Neighbor-Joining (Figura 6). Verifica-se que existe uma tendência de agrupamento dos genótipos originados da região Amazônica, ou seja, basicamente ocorre a formação de dois

grupos, sendo um formado pelos acessos da Amazônia e outro formado pelos genótipos das demais regiões. Comparando os genótipos da Amazônia que ficaram mais próximos geneticamente dos genótipos do segundo grupo (22, 28, 30 e 31) a partir dos caracteres agronômicos e bioquímicos, verificou-se que os genótipos DG 762 (22) e SRT 1532 (30) apresentaram baixas concentrações de compostos cianogênicos ($170,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e $99,8 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente), sendo que a maioria dos genótipos da Amazônia apresentam altas concentrações de HCN (Tabela 18). Já entre os genótipos das outras regiões que se agruparam mais próximas aos da Amazônia (48, 50, 69, 73 e 78), apenas o genótipo DG 032 (48) apresentou altas concentrações de compostos cianogênicos ($307,5 \text{ mg kg}^{-1}$) e elevado teor de β -caroteno ($932,1 \text{ } \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$). A partir disso, não foi possível explicar o agrupamento dos genótipos a partir dos caracteres agronômicos e bioquímicos. No entanto, observa-se que os genótipos 48, 50, 69, 73 e 78, que foram agrupados no primeiro grupo, também foram agrupados no grupo dois no dendrograma obtido pelo método de Neighbor-Joining (Figura 6), havendo, portanto, grande concordância entre ambas as análises.

Figura 8 – Análise da estrutura genética de 81 acessos de mandioca originados de diferentes regiões brasileiras a partir de 17 locos microssatélites. Os 81 genótipos foram classificados em dois grupos ($K = 2$). A mesma cor para genótipos diferentes indica que eles pertencem ao mesmo grupo. Cores diferentes no mesmo indivíduo indicam a porcentagem de alelos compartilhados com cada grupo. Os números entre parênteses indicam a região de origem do genótipo: 1 – Amazônia; 2 – Centro-Oeste; 3 – Sudeste; 4 – Sul e; 5 – Variedades comerciais. Piracicaba, 2011

Os dados para cada alelo dos microssatélites foram transformados em binários, onde 1 indicava a presença do alelo e 0 indicava a ausência, para a realização da análise de coordenadas principais (Figura 9). O valor acumulado da coordenada 1 (11,5%) mais a coordenada 2 (7,15%) foi de 18,65%. Através da análise de coordenadas principais, mais uma vez verificou-se a tendência de agrupamento dos genótipos da Amazônia, distribuídos em sua grande maioria à direita do eixo da coordenada principal 1, e a distribuição aleatória dos genótipos coletados nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, em sua maioria distribuídos à esquerda do eixo da coordenada principal 1. Quanto às duas variedades comerciais, uma delas se agrupou mais próxima dos genótipos da Amazônia, enquanto a outra juntamente com os genótipos das outras regiões. Este resultado corrobora com os resultados obtidos nas análises de agrupamento pelo método de Neighbor-Joining (Figura 6) e análise Bayesiana (Figura 8).

Figura 9 – Análise de coordenadas principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18- verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados a partir de 17 locos microssatélites. Piracicaba, 2011

4.4 Análise conjunta dos caracteres agronômicos, bioquímicos e moleculares

Considerando todos os resultados obtidos, ou seja, os resultados para caracteres agronômicos, bioquímicos e moleculares foram realizadas avaliações conjuntas destes dados.

A dispersão dos genótipos a partir da distância de Mahalanobis para os caracteres agrônômicos e bioquímicos analisados conjuntamente pode ser observada na Figura 10.

Figura 10 – Arvore obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Mahalanobis baseada em dezesseis caracteres agrônômicos e cinco caracteres bioquímicos para os 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (vermelho), Centro-Oeste (azul), Sudeste (verde) e Sul (lilás), e as duas variedades comerciais (preto). Piracicaba, 2011

A análise conjunta dos dados bioquímicos e agronômicos, a partir da distância de Mahalanobis, demonstrou a formação de dois grupos distintos (I e II), mas de maneira diferente das análises separadas, ocorreu uma divisão do grupo II em dois subgrupos (II a e II b) (Figura 10). Pode-se observar também que o grupo I da análise conjunta é formado pelos mesmos genótipos do grupo I da análise utilizando somente os caracteres bioquímicos (Figura 5), com exceção de alguns que agruparam no grupo II b, ou seja, predominantemente genótipos das regiões Sudeste e Sul. As subdivisões do grupo II são compostas por todos os genótipos da região Amazônica com exceção do genótipo SRT 1532, que se agrupou no grupo

I, junto com genótipos das regiões Centro-Oeste e Sudeste, possivelmente por ser o único acesso da Amazônia que apresentou baixas concentrações de compostos cianogênicos ($99,8 \text{ mg kg}^{-1}$). Estes agrupamentos indicam que possivelmente os caracteres bioquímicos, principalmente a concentração de compostos cianogênicos (HCN), sejam mais efetivos na separação dos genótipos já que o agrupamento da análise conjunta ficou mais próximo do agrupamento da análise utilizando somente caracteres bioquímicos. A subdivisão do grupo II em subgrupos II a e II b foi determinada pela concentração de β -caroteno nas raízes. Os genótipos que compõem o subgrupo II apresentam concentrações de β -caroteno variando de médias a altas, enquanto que os do subgrupo II b apresentam baixíssimas concentrações (Tabela 18).

Os resultados dos componentes principais para análise conjunta (Figura 11) também corroboram esta informação. Pode-se observar que ocorre uma tendência de agrupamento dos genótipos da Amazônia, sendo este agrupamento determinado principalmente por estes genótipos apresentarem altas concentrações de compostos cianogênicos nas raízes.

Figura 11 – Análise de componentes principais para 79 genótipos de mandioca originados das regiões Amazônica (33 – vermelho), Centro-Oeste (24 – azul), Sudeste (18 – verde), Sul (4 – roxo) e duas variedades comerciais (IAC 576-70 e IAC 6-01 – preto), avaliados a partir de 16 caracteres agrônômicos e cinco bioquímicos. Piracicaba, 2011

O teste de Mantel mostrou não haver correlação significativa entre as distâncias obtidas para os caracteres agronômicos e bioquímicos, com coeficiente de correlação $r = -0,036$, o que indica a necessidade de utilizar os dois tipos de caracteres em análises de diversidade de mandioca.

A análise de correlação linear de Pearson entre todas as características agronômicas e bioquímicas avaliadas estão descritas na Tabela 22. Verifica-se que grande parte das características apresentou-se correlacionada significativamente a 1% e 5% de probabilidade. Algumas correlações altamente significativas ($P < 0,01$) são meramente funções matemáticas umas das outras, ou seja, é a somatória de duas variáveis que dará o resultado de outra ou uma conversão direta de uma característica em outra (β -caroteno e vitamina A). Estes são os casos das variáveis NR com NRC ($r = 0,81$) e NRD ($r = 0,92$); PTR com PRC ($r = 0,95$) e PRD ($r = 0,88$); PeTP com PTR ($r = 0,81$) e PePA ($r = 0,57$) e; β -caroteno e vitamina A ($r = 0,99$).

Correlações positivas mais elevadas, acima de 0,50, e altamente significativas ($P < 0,01$), foram observadas entre os caracteres altura total da planta (ATP) e produção de raízes comerciais (PRC) ($r = 0,51$) e de descarte (PRD) ($r = 0,55$), produção total de raízes (PTR) ($r = 0,58$), peso da parte aérea (PePA) ($r = 0,70$) e peso total da planta (PeTP) ($r = 0,70$); entre altura da primeira ramificação (APR) e relação entre a altura da primeira ramificação e altura total (B/A) ($r = 0,81$); entre número de raízes comerciais (NRC) e produção de raízes comerciais ($r = 0,82$), de descarte ($r = 0,56$) e total de raiz ($r = 0,78$); também ocorreu entre número total de raiz (NRT) e produção de raiz comercial ($r = 0,62$), produção de raiz descarte ($r = 0,73$) e produção de total de raiz total ($r = 0,75$); entre produção total de raiz e número de raiz descarte (NRD) ($r = 0,57$); entre porcentagem de raízes descartadas (D) e número de raízes comerciais ($r = -0,51$), produção de raízes comerciais ($r = -0,62$), produção total de raízes ($r = -0,54$) e índice de colheita (IC) ($r = -0,51$); entre produção de parte aérea correlacionou (PePA) e altura total da planta ($r = 0,70$), números de raiz comercial ($r = 0,55$), descarte ($r = 0,54$) e total ($r = 0,63$), produções de raiz descarte ($r = 0,57$) e total ($r = 0,57$); também ocorreu entre produção total de biomassa da planta (PeTP) e altura total da planta ($r = 0,70$), números de raiz comercial ($r = 0,77$), descarte ($r = 0,68$) e total ($r = 0,82$), produção de raiz comercial ($r = 0,70$) e descarte ($r = 0,76$); o índice de colheita correlacionou com números de raiz comercial ($r = 0,59$) e total ($r = 0,58$), produções de raízes comerciais ($r = 0,64$), descarte ($r = 0,58$) e total ($r = 0,70$) e, com porcentagem de raízes descartadas ($r = 0,51$).

Dentre os caracteres bioquímicos o teor de compostos cianogênicos (HCN) foi uma característica que apresentou correlação significativa com praticamente todas as outras características, sendo altamente significativa ($P < 0,01$) com APR ($r = -0,32$); B/A ($r = -0,42$);

NRC ($r = -0,33$); PRC ($r = -0,23$); NRD ($r = -0,34$); PRD ($r = -0,24$); NR ($r = -0,38$); PR ($r = -0,25$); PeTP ($r = -0,19$); IC ($r = -0,52$); β -caroteno ($r = 0,27$); Vit. A ($r = 0,26$); CT ($r = 0,52$) e MS ($r = -0,43$; e significativa ($P < 0,05$) com ATP ($r = 0,16$) e PeR ($r = -0,14$). Já os caracteres relacionados a propriedades vitamínicas (β -caroteno e Vit. A) apresentaram menor correlação com os outros caracteres, sendo que as correlações foram negativas e significativas ($P < 0,05$) apenas para (APR: $-0,15$; B/A: $-0,14$; NRD: $-0,17$; PRD: $-0,15$; NR: $-0,17$; PeTP: $-0,14$ e; IC: $-0,14$).

Tabela 22 – Coeficientes de correlação de Pearson para as características ATP – altura total da planta (m), APR – altura da primeira ramificação (m), B/A - relação entre altura da primeira ramificação e total (%), NRC – número de raízes comerciais por cinco plantas, PRC – produção de raízes comerciais (t ha⁻¹), PeRC – peso de raiz comercial (g raiz⁻¹), NRD – número de raízes descarte por cinco plantas, PRD – produção de raízes descarte (t ha⁻¹), PeRD – peso de raiz descarte (g raiz⁻¹), NR – número de raízes por planta, PTR – produção total de raízes (t ha⁻¹), PeR – peso de raiz (g raiz⁻¹), D – porcentagem de raízes descartadas, PePA – peso da parte aérea (t ha⁻¹), PeTP – peso total da planta (t ha⁻¹), IC – índice de colheita (%), HCN – teor de compostos cianogênicos (mg kg⁻¹), teor de β-caroteno (μg 100g⁻¹), Vit. A - teor de vitamina A (UI 100g⁻¹), CT – teor de carotenoides totais (mg 100g⁻¹) e teor de matéria seca (%). Piracicaba, 2011

	ATP	APR	B/A	NRC	PRC	PeRC	NRD	PRD	PeRD	NR	PTR	PeR	D	PePA
APR	0,37**													
B/A	-0,22**	0,81**												
NRC	0,50**	0,31**	0,05 ^{n.s.}											
PRC	0,51**	0,28**	-0,01 ^{n.s.}	0,82**										
PeRC	-0,01 ^{n.s.}	0,09 ^{n.s.}	0,11 ^{n.s.}	-0,12 ^{n.s.}	0,29**									
NRD	0,37**	0,33**	0,12 ^{n.s.}	0,50**	0,36**	0,10 ^{n.s.}								
PRD	0,55**	0,29**	-0,02 ^{n.s.}	0,56**	0,68**	0,21**	0,69**							
PeRD	0,24**	0,13*	-0,02 ^{n.s.}	0,28**	0,46**	0,18**	-0,20**	0,40**						
NR	0,49**	0,33**	0,07 ^{n.s.}	0,81**	0,62**	0,04 ^{n.s.}	0,92**	0,73**	-0,06 ^{n.s.}					
PTR	0,58**	0,25**	-0,08 ^{n.s.}	0,78**	0,95**	0,28**	0,57**	0,88**	0,35**	0,75**				
PeR	0,31**	0,12 ^{n.s.}	-0,07 ^{n.s.}	0,39**	0,69**	0,43**	-0,11 ^{n.s.}	0,45**	0,86**	0,09 ^{n.s.}	0,59**			
D	-0,25**	0,04 ^{n.s.}	0,19**	-0,51**	-0,62**	-0,14*	-0,09 ^{n.s.}	-0,14*	0,11 ^{n.s.}	-0,33**	-0,54**	-0,32**		
PePA	0,70**	0,23**	-0,16*	0,55**	0,44**	0,08 ^{n.s.}	0,54**	0,57**	0,17**	0,63**	0,57**	0,25**	-0,21**	
PeTP	0,70**	0,31**	-0,08 ^{n.s.}	0,77**	0,70**	0,16*	0,68**	0,76**	0,25**	0,82**	0,81**	0,40**	-0,36**	0,93**
IC	0,10 ^{n.s.}	0,19**	0,13 ^{n.s.}	0,59**	0,64**	0,18**	0,45**	0,58**	0,16*	0,58**	0,70**	0,39**	-0,51**	-0,04 ^{n.s.}
HCN	0,16*	-0,32**	-0,42**	-0,33**	-0,23**	-0,11 ^{n.s.}	-0,34**	-0,24**	-0,11 ^{n.s.}	-0,38**	-0,25**	-0,14*	0,08 ^{n.s.}	0,02 ^{n.s.}
β-caroteno	-0,04 ^{n.s.}	-0,15*	-0,14*	-0,11 ^{n.s.}	-0,10 ^{n.s.}	-0,03 ^{n.s.}	-0,17*	-0,15*	-0,02 ^{n.s.}	-0,17*	-0,13 ^{n.s.}	-0,02 ^{n.s.}	-0,04 ^{n.s.}	-0,09 ^{n.s.}
Vit. A	-0,04 ^{n.s.}	-0,15*	-0,14*	-0,12 ^{n.s.}	-0,10 ^{n.s.}	-0,03 ^{n.s.}	-0,17*	-0,15*	-0,02 ^{n.s.}	-0,17*	-0,13 ^{n.s.}	-0,02 ^{n.s.}	-0,04 ^{n.s.}	-0,09 ^{n.s.}
CT	0,01 ^{n.s.}	-0,26**	-0,29**	-0,22**	-0,19**	-0,13 ^{n.s.}	-0,29**	-0,24**	-0,06 ^{n.s.}	-0,31**	-0,23**	-0,11 ^{n.s.}	-0,01 ^{n.s.}	-0,14*
MS	-0,10 ^{n.s.}	0,03 ^{n.s.}	0,09 ^{n.s.}	0,13 ^{n.s.}	0,08 ^{n.s.}	0,02 ^{n.s.}	0,11 ^{n.s.}	0,04 ^{n.s.}	-0,02 ^{n.s.}	0,13*	0,09 ^{n.s.}	0,04 ^{n.s.}	-0,14*	-0,02 ^{n.s.}

	PeTP	IC	HCN	β-caroteno	Vit. A	CT
IC	0,34**					
HCN	-0,19**	-0,52**				
β-caroteno	-0,14*	-0,14*	0,27**			
Vit. A	-0,14*	-0,14*	0,26**	0,99**		
CT	-0,25**	-0,30**	0,52**	0,76**	0,76**	
MS	0,06 ^{n.s.}	0,26**	-0,43**	-0,11 ^{n.s.}	-0,11 ^{n.s.}	-0,27**

* significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ^{n.s.} Não significativo.

As análises de correlação pelo teste de Mantel, entre as distâncias obtidas a partir dos marcadores microssatélites e as distâncias obtidas a partir dos caracteres agronômicos e bioquímicos não foram significativas. Para os caracteres agronômicos o valor de r foi de -0,016 e para os bioquímicos foi de 0,06. Estes resultados podem ser explicados pelo fato dos marcadores microssatélites serem neutros, ou seja, não sofrerem a atuação da seleção (tanto natural, quanto a praticada pelo homem) (AGARWAL et al., 2008).

Considerando os valores médios de teor de compostos cianogênicos e a classificação em mandiocas bravas ($> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de polpa fresca) e mansas ($< 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de polpa fresca) obtidos para todos os genótipos e, utilizando a distância baseada em 17 locos de microssatélite, foi gerada uma árvore para verificar o possível agrupamento dos genótipos em função desta classificação (Figura 15). Pode-se verificar que ocorreu uma estruturação devido à classificação em mandiocas bravas e mansas utilizando a distância obtida pela genotipagem dos microssatélites.

Utilizando marcadores moleculares, alguns trabalhos foram desenvolvidos para determinar a estruturação genética dos grupos de mandiocas mansas e bravas (MÜHLEN et al., 2000; ELIAS et al., 2004; MUHLEN et al., 2005, PERONI et al., 2007). No estudo desenvolvido por Peroni et al. (2007) foram avaliadas por microssatélites variedades classificadas em mansas e bravas pelos agricultores tradicionais da região litorânea do Estado de São Paulo e da bacia hidrográfica do Rio Negro, Amazônia. Os autores verificaram uma alta diversidade genética dentro de cada grupo, sendo que a maior diversidade foi encontrada dentro do grupo das mansas ($H_s = 0,654$). Foram estimados os valores do coeficiente de diferenciação genética entre grupos ($G_{ST} = 0,048$) e a divergência genética entre grupos ($R_{ST} = 0,057$ com $P < 0,001$), demonstrando que mesmo sendo baixa, a divergência entre os grupos foi significativa, sendo que a maior parte da diversidade genética está dentro dos grupos. Elias et al. (2004), ao avaliar 117 genótipos de mandioca, sendo 23 mansas e 97 bravas, verificaram diferenciação genética entre os dois grupos ($F_{ST} = 0,1054$), além de um alelo exclusivo para as variedades mansas (184 loco GA126) e alelos raros exclusivos entre as variedades bravas.

A estruturação pode estar associada aos diferentes usos dados às variedades mansas e bravas. Variedades bravas precisam de um processamento antes do consumo, para a eliminação dos compostos cianogênicos e geralmente são utilizadas para a produção de farinha, enquanto que as mansas são utilizadas em consumo direto (PERONI, 2004). Outra possível explicação seria a de que a diferenciação teria sido provocada por um processo de seleção diferencial, onde populações selecionaram para altas concentrações de compostos

cianogênicos e outras baixas, de acordo com as condições em que viviam. McKey e Beckerman (1993) sugerem que para produzir nos solos pobres da Amazônia, seria vantajoso selecionar variedades bravas devido à sua rusticidade e também pelo fato de que o aumento da toxicidade servia como uma defesa natural da planta contra herbívoros.

Figura 12 – Arvore sem raiz obtida pelo método Neighbor-Joining e distância de Rogers modificada por Wrigth baseada em 17 locos de microsatélites para os 81 genótipos de mandioca classificados em mandiocas bravas ($> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de polpa fresca) e mansas ($< 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de polpa fresca). Piracicaba, 2011

5 CONCLUSÕES

A partir das análises dos marcadores moleculares e caracteres agronômicos e bioquímicos conclui-se que existe significativa variabilidade entre os genótipos avaliados, com diferenciação dos genótipos da Amazônia em relação aos genótipos coletados nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil. Possivelmente, esta estruturação se deve ao um processo de seleção diferencial ocorrido entre os acessos amazônicos.

A partir dos caracteres agronômicos foi possível identificar o genótipo DG 762 (Amazônia) para uma possível inserção em programas de melhoramento. Para os caracteres bioquímicos, o genótipo DG 069 (Amazônia) se destacou.

Os genótipos da região Amazônica apresentaram médias de concentrações de compostos cianogênicos e teores de carotenoides totais superiores aos demais genótipos.

Não há correlação entre as distâncias genéticas dos genótipos obtidas para os caracteres agronômicos, bioquímicos e moleculares.

Existe uma tendência de associação entre os marcadores moleculares e a classificação das mandiocas em bravas e mansas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J.A.A.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A.A.; SEDIYAMA, C.S.; ALVES, J.M.A.; NETO, F.A. Caracterização morfológica e agronômica de clones de mandioca cultivados no Estado de Roraima. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 4, p. 388-394, 2009.
- ALLEM, A.C. A new species of *Manihot*. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 160, p. 181-186, 1999.
- ALLEM, A. C. Cassava: biology, production and utilization. In: HILLOCKS, R.J.; THRESH, J.M.; BELLOTII, A.C. (Eds.). **The origins and taxonomy of cassava**. Reino Unido: Natural Resources Institute, University of Greenwich, 2002. p. 1-16.
- ALLEM, A.C.; MENDES, R.A.; SALOMÃO, A.N. & BURLE, M.L. The primary gene pool of cassava (*Manihot esculenta* Crantz subspecies *esculenta*, Euphorbiaceae). **Euphytica**, Wageningen, v. 120, p. 127-132, 2001.
- ALVES-PEREIRA, A.; PERONI, N.; ABREU, A.G.; GRIBEL, R.; CLEMENT, C.R. Genetic structure of traditional varieties of bitter manioc in three soil in Central Amazonia. **Genetica**, Netherlands, v. 10, p. 1259-1271, 2012.
- AMBRÓSIO, C.L.B.; CAMPOS, F.A.C.S.; FARO, Z.P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, p. 233-243, 2006.
- AMOROZO, M. C. M. **Um sistema de agricultura camponesa em Santo Antonio do Leverger, Mato Grosso, Brasil**. 1996. 269p. Tese (Doutorado em Antropologia) – Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- AMOROZO, M.C.M. Management and conservation of *Manihot esculenta* Crantz. germoplasm by tradicional farmers in Santo Antonio do Leverger, Mato Grosso State, Brazil. **Etnoecologica**, México, v. 4, p. 69-83, 2000.
- AGARWAL; M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Report**, Germany, v. 27, p. 617–631, 2008.
- AGBAJE, G.O.; TAYO, O; CHIOMA, G.G.O; AJOMALE, K.O. Evaluation of yellow-rooted cassava varieties for differences in β -carotene and gross energy. **Journal of Applied Sciences Research**, Jordan, v. 3, n. 10, p.946-948, 2007.
- ARROYO-KALIN, M. The Amazonian Formative: Crop domestication and anthropogenic soils. **Diversity**, Switzerland, v. 2, p. 473-504, 2010.
- ASANTE, I.K.; OFFEI, S.K. RAPD-based genetic diversity study of fifty cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. **Euphytica**, Wageningen, v. 131, p. 113-119, 2003.

BAENZIGER, P.S.; PETERSON, C.J. Genetic variation: its origin and use for breeding self pollinated species. In: STALKER, H.T.; MURPHY, J.P. (Eds.). **Plant Breeding in the 1990s**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 69–92.

BARTLEY, G.E.; SCOLNIK, P.A; GIULIANO, G.. Molecular biology of carotenoid biosynthesis in plantas. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. Palo Alto, v. 45, p. 287-301, 1994.

BHATTACHARJEE, R.; FERGUSON, M.; GEDIL, M.; DOMINIQUE, D.; INGELBRECHT, I.; Field collection, preservation and large scale DNA extraction procedures for cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **African Journal of Biotechnology**, Nigéria, v. 8, p. 3424-3430, 2009.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547p.

BORGES, M.F.; FUKUDA, W.M.G.; ROSSETTI, A.G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1159-1565, 2002.

BEECHING, J.R.; MARMEY, P.; GAVALDA, M.; NOIROT, M.; HAYSOM, H.R.; HUGHES, M.A.; CHARRIER, A. An assessment of genetic diversity within a collection of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm using molecular markers. **Annals of Botany**, Devon, v. 72, p. 515-520, 1993.

BRETTING, P.K.; WIDRLECHENER, M.P. Genetic markers and horticultural germplasm management. **HortScience**, Alexandria, v. 30,n. 7, p. 1349-1355, 1995.

BUSO, G.S.C.; CIAMPI, A.Y.; MORETZOHN, M.C.; AMARAL, Z.P.S.; BRONDANI, R.V. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Revista Biotecnologia e Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, p. 46-50, 2003.

CARRASCO, N.F. **Diversidade genética de variedades tradicionais de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em comunidades da Baixada Cuiabana em Mato Grosso por meio de microssatélites**. 2012. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

CARVALHO, C.R.L. **Determinação de isômeros geométricos de alguns carotenoides pro vitamínicos A por cromatografia líquida de alta eficiência**. 1996. 127 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N.; MORAES, R. M. de. **Análises Químicas de Alimentos**. Campinas: ITAL , 1990, 121p.

CARVALHO, L.J.C.B Biodiversidade e biotecnologia em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 2005, Campo Grande. **Resumos...**, Campo Grande: Sociedade Brasileira de Mandioca, 2005. Disponível em: <http://terere.cpao.embrapa.br/11cbm/_html/palestras/arquivoPDF/palestra_003.PDF>. Acesso em: 30 abr. 2010.

CARVALHO, L.J.C.B.; SCHAAL, B.A. Assessing genetic diversity in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm collection in Brazil using PCR-based markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 120, p. 133-142, 2001.

CARVALHO, L.J.C.B.; SCHAAL, B.A.; FUKUDA, W.M.G. Morphological descriptors and random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker used to assess the diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). CASSAVA BIOTECHNOLOGY: IINTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING, 4., 2000, Brasília. **Artigos...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/CBN, 2000. p. 51-64.

CEBALLOS, H. Mandioca Biofortificada. **Projeto Mandioca HarvestPlus**. Cali, [200-].

CEREDA, M.P. **Agricultura: Tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. 540p.

CHÁVEZ, A.L.; SÁNCHEZ, T.; JARAMILLO, G.; BEDOYA, J.M.; ECHEVERRY, J.; BOLANOS, E.A.; CEBALLOS, H.; IGLESIAS, C.A. Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. **Euphytica**, Wageningen, v. 143, p. 125-133, 2005.

CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P.; MAYA, M.M.; DUQUE, M.C.; IGLESIAS, C.; FREGENE, M.; TOHME, J.; BONIERBALE, M.; KRESOVICH, S.; KOCHERT, G. Microsatellites in cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae): discovery, inheritance, variability. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 97, p. 493-501, 1998.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Disponível em: <<http://www.ciat.cgiar.org/yuca/urg.htm>>. Acesso em: 19 nov. 2008.

COLOMBO, C. A. **Etude de la diversité génétique de maniocs américains (*Manihot esculenta* Crantz) par les marqueurs moléculaires (RAPD e AFLP)**. 1997. 144p. Thèse. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier, France, 1997.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A; VALLE, T.L. Genetic diversity characterization of cassava cultivars (*Manihot esculenta* Crantz).I. RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 21, p. 105-113, 1998.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Genetic relatedness between cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and *M. flabellifolia* and *M. peruviana* based on both RAPD and AFLP markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 2, p. 417-423, 2000.

COOKE, R. D. Enzymatic assay for determining the cyanide content of cassava and cassava products. **Centro Internacional de Agricultura Tropical**, Cali, 05EC-6, 1979, 14p.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Canadá, v.19, p. 299-306, 2001.

CRUZ, C.D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. 1990. 188p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Ithaca, v.12, p. 13-15, 1990.

ELIAS, M.; PANAUD, O.; ROBERT, T. Assessment of genetic variability in a traditional cassava (*Manihot esculenta* Crantz) farming system, using AFLP markers. **Heredity**, New York, v. 85, p. 219-230, 2000.

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**, New York, v. 58, p. 242-256, 2004.

EMPERAIRE L.; PINTON, F.; SECOND, G. Dinámica y manejo de la diversidad de las variedades de yuca del noroccidente amazónico (Brasil). **Etnoecologia**, México, v. 5, n. 7, p. 38-59, 2001.

EMPERAIRE, L.; PERONI, N. Traditional management of agrobiodiversity in Brazil: A case study of manioc. **Humane Ecology**, Netherlands, v. 35, p. 761-768, 2007.

ESSERS, A. J. A.; BOSVELD, M.; VAN DER GRIFT, R. M.; VORAGEN, A. G. J. Studies on the quantification of specific cyanogens in cassava products and introduction of a new chromogen. **Journal Science of Food and Agriculture**, London, v. 63, n. 3, p. 287-296, 1993.

ESUMA, W.; RUBAIHAYO, P.; PARIYO, A; KAWUKI, R.; WANJALA, B.; NZUKI, I.; HARVEY, J.J.W.; BAGUMA, Y. Genetic diversity of provitamin A cassava in Uganda. **Journal of Plant Studies**, Canadá, v. 1, n. 1, p. 60-71, 2012.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 14, p.2611–2620, 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization (2012). Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 12 jun. 2012.

FARALDO, M.I.F; SILVA, R.M.; ANDO, A.; VEASEY, E.A. Marcadores moleculares em mandioca. In: CEREDA, M.P. (Coord.). **Agricultura: Tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. p. 100-117.

FAUSTO, C. Uma plantinha venenosa. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.39, p.36-39, 2006.

FERREIRA, C.F.; ALVES, E.; PESTANA, K.N.; JUNGHANS, D.T.; KOBAYASHI, A.K.; SANTOS, V.J.; SILVA, R.P.; SILVA, P.H.; SOARES, E.; FUKUDA, W. Molecular characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with yellow-orange roots for beta-carotene improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 8, p. 23-29, 2008.

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

FREY, K.J. Plant breeding perspectives for the 1990s. In: STALKER, H.T.; MURPHY, J.P. (Eds.). **Plant Breeding in the 1990s**. Wallington: CABI International, Wallington, 1992. p. 1-13.

GALERA, J.M.V.; VALLE, T.L. Estruturação genética do germoplasma de mandioca através de informações comparativas entre estudos biológicos e antropológicos – resultados preliminares. **Revista raízes e amidos tropicais**, Botucatu, v. 3, n. 1, 2007.

GOUDET, J. **FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices** (version 2.9.3). Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>>. Acesso em: 10 ago. 2010.

HALLAUER, A.R. Use of genetic variation for breeding populations in cross polinated species. In: STALKER, H.T.; MURPHY, J.P. (Eds.). **Plant Breeding in the 1990s**. Wallinford: CAB International, 1992. p. 37-67.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, Califórnia, v. 4, n. 1, 9pp, 2001.

HARTL, D.L. **Princípios de genética de população**. 3ª ed. São Paulo: FUNPEC-EDITORA, 2008. p. 1-2.

HERSHEY, C.H. *Manihot* genetic diversity. In: International network for cassava genetic resources. **International Crop Network Series (IPGRI)**, Roma, v. 10, p. 111-134, 1994.

HERSHEY, C. H.; AMAYA, A. Genética, citogenética, estrutura floral e técnicas de hibridação de la yuca. In: DOMINGUES, C. E. **Yuca: Investigación, producción y utilización**. Cali: PNUD/CIAT, 1982. p. 113-126.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1612>>. Acesso em: 12 Jun. 2012.

IGLESIAS, C.; MAYEN, J.; CHÁVEZ, L.; CALLE, F. Genetic potential and stability of carotene content in cassava roots. **Euphytica**, Wageningen, v. 94, p. 367-373, 1997.

KAWUKI, R.S.; FERGUSON, M.; LABUSCHAGNE, M.T.; HERSELMAN, L.; ORONE, J.; RALIMANANA, I.; BIDIKA, M.; LUKOMBO, S.; KANYANGE, M.C.; GASHAKA, G.; MKAMILO, G.; GETHI, J.; OBIERO, H. Variation in qualitative and quantitative traits of cassava germplasm from selected national breeding programmes in sub-Saharan Africa. **Field Crops Research**, Netherlands, v. 122, p. 151-156, 2011.

KERR, W.E.; CLEMENT, C. R. Práticas agrícolas e consequências genéticas que possibilitaram aos índios da Amazônia uma melhor adaptação às condições ecológicas da região. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 10, n. 2, p. 251-261, 1980.

KIZITO, E.B.; CHIWONA-KARLTUN, L. EGWANG, T.; FREGENE, M.; WESTERBERGH, A. Genetic diversity and variety composition of cassava on small-scale farms in Uganda: an interdisciplinary study using genetic markers and farmer interviews. **Genetica**, Netherlands, v. 130, p. 301-308.

KVITSCHAL, M.V. **Caracterização e divergência genética de germoplasma de mandioca-de-mesa da região urbana de Maringá, Paraná**. 2008. 87p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

KVITSCHAL, M.V.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SCAPIM, C.A.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SAGRILO, E.; PEQUENO, M.G.; RIMOLDI, F. Comparison of methods for phenotypic stability analysis of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes for yield and storage root dry matter content. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 1, 2009 .

LEKHA, S.S.; SILVA, J.A.T.; PILLAI, S.V. Genetic variability studies between released varieties of cassava and central Kerala cassava collections using SSR markers. **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, Nigéria, v. 2, n. 4, p. 79-92, 2011.

LÉON, J. Origin, evolution and early dispersal of root and tuber crops. In: SYMPOSIUM OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR TROPICAL ROOTS CROPS, 1977, Cali. **Resumos...** Cali: International Society for Tropical Roots Crops, 1977. p. 20-36.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis**: computer program for the analysis of allelic data. *Version 1.0 (d15)*. Disponível em: <<http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda>>. Acesso em: 14 Jun. 2011.

LOKKO, Y.; DIXON, A.; OFFEI, S.; DANQUAH, E.; FREGENE, M. Assessment of genetic diversity among African cassava (*Manihot esculenta* Crantz) accessions resistant to the cassava mosaic virus disease using SSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Gatterleben, v. 53, n. 7, p. 1441-1453, 2006.

LORENZI, J.O.; PEREIRA, A.S.; MONTEIRO, D.A.; RAMOS, M.T.B. Características agronômicas e culinárias de clones de mandioca. **Bragantia**, Campinas, v. 47, n. 2, p. 247-253, 1988.

MAHALANOBIS, P.C. On generalized distance in statistic. **Proceedings of the National Institute Sciences**, New Delhi, v. 2, p. 49-55, 1936.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 27, p.209–220, 1967.

MARTINS, P.S. Dinâmica evolutiva em roças de caboclos amazônicos. In: VIERIA, I.C.G.; SILVA, J.M.C.; OREN, D.C.; D'INCAO, M.A. (Eds.) **Diversidade biológica e cultura da Amazônia**. Belém: Goeldi Editoração, 2001. p. 369-384.

MBA, R.E.C.; STEPHENSON, P.; EDWARDS, K.; MELZER, S.; NKUMBIRA, J.; GULLBERG, U.; APEL, K.; GALE, M.; TOHME, J.; FREGENE, M. Simple sequence repeat (SSR) markers survey of the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genome: towards an SSR-based molecular genetic map of cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, p. 21-31, 2001.

McKEY, D.; BECHERNAN, S. Chemical ecology, plant evolution and traditional manioc cultivation systems. In: HIK, C.M.; HLADICK, A.; LINARES, O.F.; PAGEZY, H.; SEMPLE, A.; HADLEY, M. (Eds) **Tropical Forests, People and Food: Biocultural Interactions and Applications to Development**. Parthenon: Carnforth, 1993. p. 83-112,

MEZETTE, T.F. **Seleção de variedades de mandioca de mesa (*Manihot esculenta* Crantz) com altos teores de carotenóides e vitamina A**. 2007. 58p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2007.

MEZETTE, T.F.; CARVALHO, C.R.L.; MORGANO, M.A.; SILVA, M.G.; PARRA, E.S.B.; GALERA, J.M.S.V.; VALLE, T.L. Seleção de clones-elite de mandioca de mesa visando a características agrônomicas, tecnológicas e químicas. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 3, p. 601-609, 2009.

MILLER, M. P. **Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA) 1.3**: a windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Disponível em: <<http://www.public.asu.edu>>. Acesso em: 20 jun. 2011.

MKUMBIRA, J.; CHIWONA-KARLTUN, L.; LANGERCRANTZ, U.; MAHUNGU, N.; SAKA, J.; MHONE, A.; BOKANGA, M.; BRIMER, L.; GULLBERG, U.; ROSLING, H. Classification of cassava into ‘bitter’ and ‘cool’ in Malawi: From farmers’ perception to characterization by molecular markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 132, p. 7-12, 2003.

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

MURRIETA, R.S.S. Dialética do sabor: alimentação, ecologia e vida cotidiana em comunidades ribeirinhas da Ilha de Ituqui, Baixo Amazonas, Pará. **Revista de Antropologia**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 39-88. 2001.

MÜHLEN, G.S.; MARTINS, P.S.; ANDO, A. Variabilidade genética de etnovariedades de mandioca, avaliada por marcadores de DNA. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 319-328, abr/jun, 2000.

MÜHLEN, G.S.; VALLE, T.L.; CARVALHO, C.R.L.; COLOMBO, C.A., ZATATIN, M. Estruturação de germoplasma de mandioca: diversidade genética e agrupamentos geográficos, evidenciados por marcadores de DNA e potencial cianogênico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51., 2005, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Genética, 2005. Disponível em: <http://web2.sbg.org.br/congress/CongressosAnteriores/Pdf_resumos/51/GP600.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2010.

NASSAR, N.M.A. Microcenters of wild cassava, *Manihot* spp., diversity in Central Brazil. **Turrialba**, San José, v. 28, n. 4, p. 345-347, 1978.

NASSAR, N.M.A. Cassava, *Manihot esculenta* Crantz and wild relatives: Their relationships and evolution. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Netherlands, v. 48, p. 429-436, 2001.

NASSAR, N.M.A. Wild and indigenous cassava, *Manihot esculenta* Crantz diversity: An untapped genetic resource. **Genetic Resource and Crop Evolution**, Netherlands, v. 54, p. 1523-1530, 2007.

NEBIYU, A. Genetic variations in cassava at Jimma, Southwest Ethiopia. **Tropical Science**, New York, v. 46, p. 171-175, 2006.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 70, p. 3321-3323, 1973.

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

NEI, M. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.

OJULONG, H.; LABUSCHANGNE, M.T.; FREGENE, M.; HERSELMAN, L. A cassava clonal evaluation trial based on a new cassava breeding scheme. **Euphytica**, Wageningen, v. 160, p. 119-129, 2008.

OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCovsky, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.29, n.2, p.294-307, 2006.

OLIVEIRA, M.V.C.; BALIZA, D.P.; SOUZA, G.A.; CARVALHO, S.P.; ASSIS, L.H.B. Caracterização de clones de mandioca utilizando marcadores microssatélites. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 170-176, 2012.

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

OLSEN, K.M.; SCHALL, B.A. Evidence on the origin of cassava: Phylogeography of *Manihot esculenta*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 96, p. 5586-5591, 1999.

OLSEN, K.M.; SCHALL, B.A. Microsatellite variation in cassava (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae) and its wild relatives: further evidence for a southern Amazonian origin of domestication. **American Journal of Botany**, Missouri, v. 88, n. 1, p.131-142, 2001.

OLSEN, K.M.; SCHAAL, B.A. DNA sequence data and inferences on cassava's origin and domestication. In: ZEDER, M.A.; BRADLEY, D.G.; EMSHWILLER, E.; SMITH, B.D.

(Eds.). **Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms**. Berkeley: University of California Press, 2006. cap.9, p.123-133.

ORTEGA-FLORES, C.I. **Carotenóides com atividade pró-vitâmica A e teores de cianeto em diferentes cultivadores de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do Estado de São Paulo**. 1991. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

O'BRIAN, G. M.; TAYLOR, A. J.; POULTER, N. H. Improved enzymic assay for cyanogens in fresh and processed cassava. **Journal Science of Food and Agriculture**, London, v. 56, n. 3, p. 277-289, 1991.

PENTEADO, M. de V.C. **Ocorrência de isômeros de β -caroteno em raízes de cinco cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do estado de São Paulo**. 1987. 66 p. Tese (Concurso de Livre-Docência) – Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1987.

PEREIRA, K.J.C. **Agricultura tradicional e manejo da agrobiodiversidade na Amazônia Central: um estudo de caso nos roçados de mandioca nas Reservas de Desenvolvimento Sustentável Amanã e Mamirauá, Amazonas**. 2008. 222p. Tese (Doutorado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

PERRIER, X.; FLORI, A.; BONNOT, F. Data analysis methods. In: HAMON, P.; SEGUIN, M.; PERRIER, X.; GLASZMANN, J. C. (Eds.), **Genetic diversity of cultivated tropical plants**. Enfield, Montpellier: Science Publishers, 2003. p. 43 - 76.

PERONI, N. **Ecologia e genética da mandioca na agricultura itinerante do Litoral Sul Paulista: uma análise espacial e temporal**. 2004.227p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

PERONI, N.; MARTINS, P.S.; ANDO, A. Diversidade inter- e intra-específica e uso de análise multivariada para morfologia de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): um estudo de caso. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, 1999.

PERONI, N.; HANAZAKI, N. Current and lost diversity of cultivated varieties, especially cassava, under swidden cultivation systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 92, p.171-183, 2002.

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

PIPERNO, D.R.; PEARSALL, D.M. **The Origins of Agriculture in the Lowland Neotropics**. San Diego: Academic Press, 1998. 400 p.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Pittsburgh, v. 155, p. 945–959, 2000.

PUJOL, B. et al. Germination Ecology of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in traditional agroecosystems: Seed and seedling biology of a vegetatively propagated domesticated plant. **Economy Botanic**, New York, v. 56, p. 366-378, 2002.

RAMALHO, M.A.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. Lavras: UFLA, 2004. 472p.

RENVOIZE, B. S. The area of origin of *Manihot esculenta* Crantz as a crop plant - a review of the evidence. **Economic Botany**, New York, v. 26, p. 352-360, 1972.

RIMOLDI, F.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SCAPIM, C.A.; VIDIGAL, M.C.G. Avaliação de cultivares de mandioca nos municípios de Maringá e de Rolândia no Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 459-465, 2003.

RIMOLDI, F.; VIDIGAL FILHO, P.S.; KVITSCHAL, M.V.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; PRIOLI, A.J.; PRIOLI, S.M.A.P.; COSTA, T.R. Genetic divergence in sweet cassava cultivars using morphological agronomic traits and RAPD molecular markers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.53, p.1477- 1486, 2010.

ROCHA, O.J.; ZALDIVAR, M.E.; CASTRO, L.; CASTRO, E.; BARRANTES, R. Microsatellite variation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in home gardens of Chibchan Amerindians from Costa Rica. **Conservation Genetics**, Netherlands, v. 9, p. 107-118, 2008.

ROGERS, D.J.; APPAN, S.G. *Manihot* and *Manihotoides* (Euphorbiaceae). **Flora Neotropica**, New York, n. 13, p. 272, 1973.

ROHLF, F.J. **NTSYS-PC**: numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York: Exeter Publisher, 1989. 210p.

SAMBATTI, J.B.M.; MARTINS, P.S.; ANDO, A. Folk taxonomy and evolutionary dynamics of cassava: a case study in Ubatuba, Brazil. **Economic Botany**, New York, v. 55, p. 93-105, 2001.

SANTOS, A.L.; MÜHLEN, G.S. Estudos sobre a domesticação e diversidade genética da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Disponível em: <http://www.unir.br/html/pesquisa/Pibic_XIV/Artigos_resumos.htm>. Acesso em: 16 Set. 2007.

SARMENTO, S.B.S. **Caracterização da fécula de mandioca (*Manihot esculenta* C.) no período de colheita de cultivares de uso industrial**. 1997. 162p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

SAS INSTITUTE Inc. **SAS/STAT user's guide for personal computers**, Version 8.2. Cary, New York, 2001.

SAUER, C.O. As plantas cultivadas na América do Sul tropical. In: RIBEIRO, D. (Ed.) **Suma etnológica brasileira**: etnobiologia. 2.ed. Petrópolis: FINEP, 1987. v. 1, p. 59-90.

SHANNON, J.C.; GARWOOD, D. L. Genetics and physiology of starch development, In: WHISTLER, R. L.; BeMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. (Ed.). **Starch: chemistry and technology**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1984. p. 25-86.

SILVA, J. R.; ASSUMPÇÃO, R.; VEGRO, C. L. R. **Cadeia produtiva de fécula de mandioca**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 1997. 27 p.

SIQUEIRA, M.V.B.M.; QUEIROZ-SILVA, J.R.; BRESSAN, E.A.; BORGES, A.; PEREIRA, K.J.C.; PINTO, J.G.; VEASEY, E.A. Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta*) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.32, n.1, 104-110, 2009.

SIQUEIRA, M.V.B.M.; PINHEIRO, T.T.; BORGES, A.; VALLE, T.L.; ZATARIM, M.; VEASEY, E.A. Microsatellite polymorphisms in cassava landraces from the Cerrado Biome, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Biochemical Genetics**, Netherlands, v. 48, p. 879-895, 2010.

SIQUEIRA, M.V.B.M.; BORGES, A.; VALLE, T.L.; VEASEY, E.A. A comparative genetic diversity assessment of industrial and household Brazilian cassava varieties using SSR markers. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p.745-752, 2011.

SIVIERO, A.; SCHOTT, B. Caracterização botânica e agrônômica da coleção de mandioca da Embrapa Acre. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v.7, p.31-41, 2011.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: SBG, 1995.186 p.

VALLE, T. L.; LORENZI, J.O.; GODOY JR, G.; RODRIGUES, B. M. Banco de germoplasma de mandioca do Instituto Agrônômico. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS, 1995, Campinas. **Resumos...** Campinas: IAC/CENARGEN, 1995. p.87.

VALLE, T. L.; CARVALHO, C. R. L.; RAMOS, M. T. B.; MÜHLEN, G. S.; VILLELA, O. V. Conteúdo cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 221-226, 2004.

VIDIGAL FILHO, P.S.; PEQUENO, M.G.; SCAPIM, C.A.; VIDIGAL, M.C.G.; MAIA, R.R.; SAGRILO, E.; SIMON, G.A.; LIMA, R.S. Avaliação de cultivares de mandioca na região noroeste do Paraná. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 69-75, 2000.

VIDIGAL FILHO, P.S.; PEQUENO, M.G.; KVITSCHAL, M.V.; RIMOLDI, F.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; ZUIN, G.C. Estabilidade produtiva de cultivares de mandioca-de-mesa coletadas no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n. 4, p. 551-562, 2007.

VIANA, J.M.S.; CRUZ, C.D.; BARROS, E.G. **Genética: fundamentos**. Viçosa: UFV, 2003. v. 1, p. 247-270.

VIEIRA, E.A. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1107-1715, 2008.

VIERIA, E.A. Characterization of sweet cassava accessions based on molecular, quantitative and qualitative data. **Crop Breedin and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 11, p. 232-240, 2011.

VILELLA, O.V.; PEREIRA, A.S.; LORENZI, J.O.; VALLE, T.L.; MONTEIRO, D.A.; RAMOS, M.T.B.; SCHMIDT, N.C. Competição de clones de mandioca selecionados para mesa e indústria. **Bragantia**, Campinas, v. 44, n. 2, p. 559-568, 1985.

WRIGHT, S. Variability within and among natural populations. In: WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**. University of Chicago: Chicago, v.4, 1978.

YEEH, Y.; KANG, S.S.; CHUNG, M.G. Evaluation of the natural monument populations of *Camellia japonica* (Thearaceae) in Korea based on allozyme studies. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Shanghai, v. 37, n. 1, p. 141-146, 1996.