

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Centro de Energia Nuclear na Agricultura

**Diversidade genética de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta*
Crantz) em áreas de Cerrado no Estado do Mato Grosso do Sul e de
variedades comerciais por meio de marcadores microssatélites**

Marcos Vinícius Bohrer Monteiro Siqueira

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ecologia Aplicada.**

Piracicaba

2008

Marcos Vinícius Bohrer Monteiro Siqueira
Licenciatura e Bacharel em Engenharia Biotecnológica

Diversidade genética de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em áreas de Cerrado no Estado do Mato Grosso do Sul e de variedades comerciais por meio de marcadores microssatélites

Orientadora:
Prof^a Dr^a ELIZABETH ANN VEASEY

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ecologia Aplicada.

Piracicaba
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Siqueira, Marcos Vinícius Bohrer Monteiro

Diversidade genética de etnovarietade de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em áreas de Cerrado no Estado do Mato Grosso do Sul e de variedades comerciais por meio de marcadores microssatélites / Marcos Vinícius Bohrer Monteiro Siqueira. - - Piracicaba, 2008.

88 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Agricultura 2. Cerrado 3. Mandioca 4. Marcador Molecular 5. Variação genética vegetal 6. Variedades vegetais I.Título

CDD 633.4

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

*Dedico este trabalho a memória da minha
querida avó, Lília Bohrer Monteiro...*

*Ofereço este trabalho à Mulher que, mesmo longe,
esteve sempre ao meu lado - Carmen Lúcia, minha mãe.*

AGRADECIMENTOS

Já dizia Tao-Tsé que “o agradecimento é a memória do coração”. Sendo assim, gostaria de agradecer a todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para o crescimento, desenvolvimento e concretização deste Projeto, nomeadamente:

- À Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro concedido (Processo n.º 05/53407-4).
- À Prof^a Elizabeth Ann Veasey, pela orientação fornecida neste trabalho, confiança, amizade e oportunidades concedidas - sua humildade e espírito de trabalho foi um exemplo para meu amadurecimento acadêmico!
- Ao Prof. Giancarlo Conde Xavier Oliveira pelas sugestões e críticas, tornando este trabalho mais rico com suas idéias e opiniões.
- Ao Dr. Carlos Colombo pelas imprescindíveis correções e avaliações no projeto.
- À Dr^a Teresa Losada Valle pelo acesso aos materiais utilizados neste projeto e pela simpatia com que sempre me recebeu no Instituto Agrônomo em Campinas.
- Ao Laboratório de Biologia Molecular do Prof. Marcio Castro-Filho pela disponibilização do equipamento laboratorial.
- Aos colegas de laboratório de Ecologia Evolutiva e Genética Aplicada (LEEGA) que muito contribuíram na evolução dos trabalhos e na aprendizagem: Marines, Gustavo, Tiago, Eduardo, Eliane, Lidinalva, Patrícia, Osvaldo e a grande e querida amiga Aline Borges.
- Ao Kayo Pereira, Fernando Pioto e Mônica Conte pela amizade e pelas importantes correções e sugestões na dissertação.
- Ao Lucielio Manoel da Silva pela ajuda na formatação do trabalho.
- À colega Thaísa Pinheiro escolhendo meu trabalho como tema de sua monografia.
- Aos funcionários Ronaldo José Rebello pela ajuda na coleta na Fazenda de Anhemi, Carlos Veríssimo pela assistência no laboratório e Domingos de Sávio Amaral pela manutenção das variedades de mandioca no campo experimental da ESALQ. Suas experiências contribuíram e muito no decorrer do mestrado.

- A Ângela Peres e Amália Antão da Seção de Atividades Internacionais pela forma atenciosa prestando ajudas inestimáveis ao longo dos últimos anos.
- Aos funcionários da Biblioteca Central (ESALQ) pelas correções, sugestões, cordialidade e simpatia com que sempre fui tratado.
- Aos meus pais, irmãos e familiares que me incentivaram neste desafio. À Tia Lilinha, exemplo de “lutadora”, um especial agradecimento e eterna gratidão por tudo o que fez e continua fazendo por mim.
- A Cristiane Acero Rodrigues Caraça pelo seu amor, companhia e exemplo, e a sua família, que me recebeu e acarinhou de forma incondicional até hoje, tornando muitos dias em momentos únicos.
- A todos os amigos da República Blue House meu eterno “muito obrigado - vocês foram minha segunda família por um bom tempo, jamais esquecerei”!
- A colega Lígia Medeiros e a todos os docentes que fizeram parte das reuniões em *prol* da melhoria do PPGI-EA.
- Ao Nei e Giovana pelos felizes momentos de confraternização e contribuições nesta reta final.
- Ao meu *brother* Rogério pela incrível amizade no dia-a-dia e pelo incentivo constante na busca do conhecimento como pesquisador e na melhoria como ser humano.
- A Leticia Prestes e sua família pelo carinho e apoio em muitos momentos desta fase acadêmica.
- Aos que aqui não foram mencionados, por lapso ou esquecimento, mas que fazem jus sua presença, meu eterno e muito obrigado.

“São fúteis e cheias de erros as ciências que não nasceram da experimentação, mãe de todo conhecimento”.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS.....	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Agricultura tradicional e a agrobiodiversidade	19
2.2 Cultura da mandioca.....	23
2.2.1 Origem, domesticação e diversificação	23
2.2.2 Aspectos taxonômicos, botânicos e agronômicos	26
2.2.3 Importância da cultura	28
2.3 Marcadores moleculares	31
2.3.1 Marcadores microssatélites	33
2.3.2 Caracterização de germoplasma de mandioca por meio de marcadores moleculares	34
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Material vegetal	36
3.2 Análise de microssatélites	43
3.2.1 Extração do DNA	43

	8
3.2.2 Quantificação do DNA	44
3.2.4 Separação dos produtos de amplificação e avaliação	46
3.3 Análise estatística	48
4 RESULTADOS.....	49
4.1 Etnovarietades	49
4.1.1 Diversidade genética avaliada por microssatélites	49
4.1.2 Estrutura genética	53
4.2 Variedades Comerciais	58
4.2.1 Níveis de polimorfismo pelos marcadores SSR	58
4.2.2 Similaridade genética entre os genótipos	59
5 DISCUSSÃO	63
5.1 Etnovarietades	63
5.2 Variedades Comerciais	69
6 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	74

RESUMO

Diversidade genética de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em áreas de Cerrado no Estado do Mato Grosso do Sul e de 20 variedades comerciais por meio de marcadores microssatélites

O estudo de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), originárias de diferentes regiões do Brasil, com marcadores microssatélites, permite obter informações sobre a diversidade genética e a distribuição desta diversidade em roças, comunidades e regiões geográficas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a diversidade genética de 83 etnovariedades de mandioca cultivadas em áreas de cerrado do Estado do Mato Grosso do Sul (MS) e de 20 variedades comerciais usadas na região Centro-sul do Brasil. A partir de nove locos de microssatélites, avaliou-se o nível e a distribuição da diversidade genética entre e dentro de 21 roças de agricultura tradicional na área de estudo, e de um grupo de 20 variedades comerciais (9 de mesa e 11 industriais). Elevada variabilidade genética para as etnovariedades de mandioca no cerrado sulmatogrossense foi detectada. Todos os locos mostraram-se polimórficos, com um número médio de 7,55 alelos/loco. O número médio de alelos por loco/roça foi 2,55/roça, sendo que 10 roças apresentaram 100% de polimorfismo. Observou-se menor valor para a heterozigosidade média observada ($\bar{H}_o = 0,31$) em relação à diversidade gênica média ($\bar{H}_e = 0,51$), sendo esses valores de heterozigosidade considerados elevados. À semelhança de outros estudos realizados com mandioca, a maior parte da variabilidade genética concentrou-se dentro de roças ($H_S = 0,551$). No entanto, ao contrário de outros estudos, esta encontrou-se estruturada no espaço, tendo-se observado correlação relativamente alta ($r = 0,45$) e significativa ($p < 0,035$) entre distâncias genéticas médias e distâncias geográficas entre municípios. Ambas as análises de agrupamento para etnovariedades e para roças, bem como o gráfico de dispersão a partir da análise de componentes principais, indicaram a separação dos municípios de Costa Rica e Cassilândia dos demais municípios. Conclui-se que a grande variabilidade e a estruturação espacial observada podem estar relacionadas, entre outros, ao processo de colonização da região, envolvendo diferentes rotas migratórias populacionais a que os municípios da região foram submetidos. Os resultados para as variedades comerciais revelaram grande polimorfismo (100%) e grande variabilidade genética dentro dos dois grupos (mesa e industrial). Observou-se grande amplitude para o índice de similaridade de Jaccard (variando de 0,29 a 0,82) o que também demonstra a grande variabilidade dos genótipos avaliados e a baixa vulnerabilidade genética dos materiais atualmente sob cultivo na região Centro-sul do Brasil. Genótipos contrastantes para uso como parentais em programas de melhoramento foram detectados. Comparando-se os dois grupos, as variedades de mesa mostraram-se mais divergentes entre si. Houve ainda uma tendência à separação das variedades industriais das de mesa.

Palavras-chave: Agricultura tradicional; Etnovariedades; *Manihot esculenta*; Microssatélites; Variabilidade genética; Variedades comerciais

ABSTRACT

Genetic diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces in Cerrado areas in Mato Grosso do Sul State and commercial varieties with microsatellites markers

Studies with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces, originated from different regions in Brazil, using microsatellite markers, allows the estimation of genetic diversity and the distribution of this diversity within and among households, geographic communities and regions. The objective of this study was to characterize the genetic diversity of 83 cassava landraces from the State of Mato Grosso do Sul (MS), cultivated in areas of Cerrado ecosystem, and of 20 commercial varieties used in the Center-south region of Brazil. The genetic diversity of the landraces and its distribution among and within 21 households in the study area, as well as of 20 commercial varieties (11 industrial and nine home consumption varieties) were evaluated using nine microsatellite loci. Results showed a high genetic variability for the cerrado cassava ethnovarieties of MS. All loci were polymorphic, with an average number of 7.55 alleles/locus. The average number of alleles per locus/household was 2.55, whereas 10 households presented 100% polymorphism. A lower value was found for the average observed heterozygosity ($\bar{H}_o = 0.31$) in relation to the average gene diversity ($\bar{H}_e = 0.51$), although these are considered high heterozygosity values. In agreement to other studies with cassava, most of the genetic diversity was concentrated within households ($H_S = 0.551$). However, on the contrary to other studies, this genetic diversity was found to be structured in space, showing a relatively high ($r = 0.45$) and significant ($p < 0.035$) correlation between mean genetic distances and geographic distances between municipalities. Both the cluster analyses conducted for the 83 ethnovarieties and for the 21 households, and the scatter graph obtained from the principal component analysis, pointed to the separation of the municipalities of Costa Rica and Cassilândia from the other municipalities. It was concluded that the high variability and space structuring observed can be related, among other factors, to the settling process in the region, involving different migratory population routes to which these municipalities were submitted. Results showed a high polymorphism for the commercial varieties (100%) and high genetic variability between the two groups (home consumption and industrial varieties). A wide range for the Jaccard's similarity index (varying from 0.29 to 0.82) was observed demonstrating the high variability of the genotypes analyzed and the low genetic vulnerability of the planting materials currently under cultivation in the Center-south region of Brazil. Contrasting genotypes used as parents in plant breeding programs were detected. In comparison, home consumption varieties were more divergent among themselves. A tendency was also noticed towards the separation of industrial and home consumption varieties.

Keywords: Commercial varieties; Genetic variability; Landraces; *Manihot esculenta*; Microsatellites; Traditional agriculture.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Pantaneira do município de Costa Rica, Mato Grosso do Sul, realizando o descasque da mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) (Fonte: Teresa Lousada Valle - IAC).....	22
Figura 2 - Perfil geral do Banco de Germoplasma do Departamento de Genética da ESALQ/USP (A), seleção de manivas para plantio no Banco de Germoplasma do Departamento de Genética da ESALQ/USP (B) e etnovariedades de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) coletadas para o estudo (C e D).....	37
Figura 3 - Mapa do Estado de Mato Grosso do Sul, com destaque para os sete (respectivos) municípios avaliados	38
Figura 4 - Imagem de satélite com a localização dos sete municípios analisados do Estado de Mato Grosso do Sul.....	38
Figura 5 - Folhas de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) maceradas em almofariz de porcelana (A) e amostras com o tampão de extração CTAB 3% (B).....	44
Figura 6 - Zimogramas dos microssatélites amplificados a partir dos <i>primers</i> GA-5 (A) e GA-126 (B).....	48
Figura 7 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA e coeficiente de similaridade de Jaccard para 83 etnovariedades de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) distribuídas entre sete municípios de MS.....	55
Figura 8 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA e distância de Nei (1972) para 21 roças de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>). Os algarismos romanos referem-se aos grupos I (roças de Sonora, Pedro Gomes e Rio Verde de Mato Grosso); II (Costa Rica); III (Paranaíba e Inocência); IV (Costa Rica e Cassilândia); V (Costa Rica); e VI (Inocência).....	56
Figura 9 - Gráfico de dispersão baseado na análise das componentes principais de 21 roças com 83 etnovariedades de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) cultivada no Mato Grosso do Sul, Brasil.....	57

- Figura 10 - Representação da correlação (r) entre a matriz de distâncias geográficas e matriz de distâncias genéticas de Nei (1972), obtida por marcadores microssatélites com dados de 21 roças. Probabilidade (p) associada à significância de r 58
- Figura 11 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA e coeficiente de similaridade de Jaccard para nove locos de microssatélites e 20 variedades comerciais de mandioca (*Manihot esculenta*)..... 60
- Figura 12 - Gráfico baseado nos componentes principais de 20 variedades comerciais de mandioca (*Manihot esculenta*) cultivadas na região Centro-sul do Brasil. Linha inteira – variedades industriais; linha tracejada – variedades de mesa 63

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Relação das 83 etnovariedades avaliadas no estudo, bem como a identificação no Banco de Germoplasma no Instituto Agronômico (IAC), município, roças amostradas, nome popular, origem da variedade e observações diversas	39
Tabela 2 - Lista dos municípios, roças e número de etnovariedades de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) analisados por município	41
Tabela 3 - Lista das 20 variedades comerciais de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) analisadas ...	42
Tabela 4 - Seqüência dos <i>primers</i> (<i>forward/reverse</i>) utilizados para os microssatélites de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) e seus respectivos tamanhos (pb) e temperatura de anelamento (°C) (Chavariaga-Aguirre et al., 1998)	46
Tabela 5 - Ingredientes para preparo de gel de poliacrilamida a 6%	47
Tabela 6 - Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) para etnovariedades de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) analisadas por loco.....	50
Tabela 7 - Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) para etnovariedades de mandioca analisadas por roça.....	52
Tabela 8 - Diversidade dentro de roças (H_s), diversidade genética total (H_T), diversidade entre roças (D_{ST}') e proporção da diversidade genética entre roças (G_{ST}), em nove locos de etnovariedades de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>)	53
Tabela 9 - Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) para variedades comerciais de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) industriais e de mesa.....	59

Tabela 10 - Índices de similaridade de Jaccard para os 20 genótipos avaliados de mandioca (<i>Manihot esculenta</i>).....	61
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

μ l – Microlitros

μ g – Microgramas

ng - Nanogramas

pb - pares de bases

Kb – Kilobase (1 Kb = 1000 pb)

ml – Mililitros

M - Molar

1 INTRODUÇÃO

Quando pensamos em “sistemas agrícolas tradicionais”, normalmente visualizamos sistemas de produção voltados principalmente para a subsistência do grupo de produtores com utilização de insumos locais e tecnologia simples. São grupos de indivíduos ligados por laços de parentesco, tanto biológico como ritual, com um alto grau de conhecimento do ambiente onde vivem. As plantas cultivadas por comunidades deste gênero são elementos essenciais à sua continuidade, no modo como cumprem o papel primordial de fornecer a base da alimentação do grupo (AMOROZO, 1996). Além disso, a variabilidade de plantas mantidas pelos agricultores tradicionais pode ser compreendida como a base dos recursos fitogenéticos de interesse sócio-econômico atual e potencial para utilização em programas de melhoramento genético, biotecnologia e outras ciências afins (VALOIS et al., 1996). Para se compreender melhor a complexidade e a importância da agricultura tradicional brasileira, e das plantas cultivadas nesses sistemas, alguns estudos focaram a sua principal cultura: a mandioca.

No início da década de 90, estabeleceu-se um modelo que explica a dinâmica evolutiva de espécies de propagação vegetativa como a mandioca (CURY, 1993). Este modelo, ampliado por Martins (1994), assume que a recombinação genética na mandioca, em áreas de plantio, é uma das principais fontes de amplificação genética em roças através da germinação espontânea de sementes. As sementes podem ser o produto de cruzamentos entre diferentes clones, autofecundação e hibridização interespecífica. Essas áreas de plantio denominadas de roças foram classificadas como sistemas agrícolas tradicionais sendo estes promotores de conservação *on farm*, mantendo o processo de amplificação da variabilidade genética. Este estudo pioneiro fundamentou outros estudos de dinâmica evolutiva dessa espécie no Departamento de Genética da ESALQ/USP, desenvolvidos em áreas de agricultura autóctone no litoral de São Paulo (Vale do Ribeira) e em diversas regiões da Amazônia, com destaque para os trabalhos de Faraldo (1994), Cury (1998), Peroni (1998), Faraldo (1999), Faraldo et al. (2000), Mühlen (1999), Mühlen et al. (2000), Peroni e Martins (2000), Sambatti et al. (2000, 2001), Silva (2000), Bressan et al. (2004) e Siqueira et al. (2005).

O estudo da genética de populações teve grande impulso a partir da década de 70, com o advento das técnicas de biologia molecular, especialmente marcadores isoenzimáticos. Porém, com o desenvolvimento de marcadores moleculares baseados em polimorfismos ao nível das

seqüências de DNA, estes estudos ganharam uma poderosa ferramenta para caracterizar e avaliar recursos genéticos, especialmente para entender a estrutura e organização da diversidade genética das populações e seu monitoramento ao longo do tempo (FIGUEIRA; CASCARDO, 2001). Os microssatélites, marcadores moleculares comumente utilizados em estudos de populações, envolvem o desenvolvimento de *primers* específicos, que é um processo oneroso e caro. A limitação básica que existe hoje para a aplicação mais ampla desta tecnologia na análise genética é a grande quantidade de trabalho envolvido, mão-de-obra qualificada, reagentes e equipamentos específicos (FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1998). No entanto, uma vez obtidos os *primers* informativos para uma espécie, os custos e a demanda de mão-de-obra são reduzidos drasticamente, e os ensaios laboratoriais são rápidos, aumentando a acessibilidade da técnica. As maiores vantagens dos microssatélites são o seu elevado polimorfismo revelado e o fato de ser um marcador codominante.

A mandioca é uma importante cultura nacional e apesar de amplamente estudada, os trabalhos que caracterizam a diversidade genética de variedades locais isoladas do Estado do Mato Grosso do Sul, através de microssatélites, são escassos. Embora o Estado do Mato Grosso do Sul seja dividido em três biomas principais, Pantanal, Mata Atlântica e Cerrado, a opção por municípios do Cerrado deveu-se por causa do maior número de roças, sendo este o bioma que concentra o maior número de agregados populacionais de pessoas. Considerada uma importante área prioritária para a conservação da biodiversidade, o Cerrado sofre ameaças de todas as formas, dentre as quais se destacam a erosão dos solos, a degradação das diversas formas de vegetação, o uso abusivo do fogo para abertura de pasto e a monocultura (sobretudo da soja), levando muitas roças ao extermínio (KLINK; MACHADO, 2005).

Este estudo visa trazer maiores informações a respeito das etnovariedades ou variedades tradicionais cultivadas em áreas de Cerrado no Estado Mato Grosso do Sul, para tentar compreender melhor as hipóteses do modelo de dinâmica evolutiva proposto para mandioca, bem como oferecer subsídios para a conservação genética *in situ* e *on farm*, junto aos agricultores, bem como para a conservação *ex situ* dessas variedades.

Paralelamente a este estudo, avaliou-se a diversidade genética de 20 variedades comerciais de mandioca com alto desempenho fenotípico usadas na região Centro-Sul do Brasil. Este trabalho, em parceria com o Instituto Agrônomo (IAC), de Campinas, visa obter uma

maior compreensão genética sobre variedades comumente comercializadas na região, e desta forma, contribuir para futuros programas de melhoramento da espécie.

Objetivos

Pretendeu-se com este trabalho, caracterizar a diversidade e a estrutura genética de etnovariedades de mandioca cultivadas por agricultores tradicionais em áreas de Cerrado no Estado de Mato Grosso do Sul, a partir do uso de marcadores microssatélites. Desta forma, destacam-se os seguintes objetivos do trabalho:

- Caracterizar a diversidade genética, por meio de marcadores microssatélites, de etnovariedades de mandioca originárias de áreas de Cerrado de Mato Grosso do Sul;
- Avaliar de que maneira encontra-se distribuída esta diversidade, seja entre e dentro de roças, e entre e dentro de municípios;
- Avaliar a estruturação espacial do material avaliado;
- Caracterizar a diversidade genética, por meio de marcadores microssatélites de variedades comerciais com alto desempenho fenotípico cultivadas na região Centro-Sul do Brasil.

Hipóteses

- Existe grande diversidade genética concentrada entre as etnovariedades na região de estudo, em função do tipo de agricultura praticada por estes agricultores, que, em geral, propiciam a manutenção e aumento desta diversidade.
- As etnovariedades em regiões próximas e limítrofes comportam um patrimônio genético análogo, enquanto que se espera verificar maior divergência entre as variedades de municípios mais distantes.
- A maior parte da diversidade a ser observada concentra-se dentro de roças e/ou municípios do que entre roças e municípios, à semelhança de outros estudos realizados previamente com mandioca originárias de outras regiões do Brasil, em concordância com o seu sistema reprodutivo, que é a alogamia e reprodução vegetativa.
- Existe pouca diversidade genética entre as variedades comerciais e uma separação clara entre as variedades industriais e de mesa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Agricultura tradicional e a agrobiodiversidade

A preocupação com a conservação da agrobiodiversidade não é recente. Ela remonta aos trabalhos pioneiros de N.I. Vavilov e H.V. Harlan nas primeiras décadas do Século XX. Porém, até meados dos anos 1980, quase todos os esforços de conservação dos recursos genéticos agrícolas foram direcionados à coleta e armazenagem *ex situ* (BRUSH, 2000). Apenas então, quando as limitações e problemas de tais programas tornaram-se evidentes, a conservação *in situ* em agroecossistemas (*in situ conservation on farm*) passou a ser sugerida como estratégia alternativa e complementar à *ex situ* (ALTIERI; MERRICK, 1987; SALICK; MERRICK, 1989; JARVIS et al., 2000).

A fome e a subnutrição afetam uma parte significativa da população brasileira, apesar das condições climáticas e de solo favoráveis para a agricultura. Um dos problemas é que a maior parte das plantações está voltada para a produção em larga escala, sendo esta mais lucrativa e fácil de operar (GEIER, 1998). Assim, a agricultura tradicional vem perdendo espaço em relação às novas formas produtivas agrícolas, mesmo perante as inúmeras vantagens que ela oferece, tais como: a possibilidade natural de renovação do solo; facilitação da reciclagem de nutrientes do solo; a utilização racional dos recursos naturais; a manutenção da biodiversidade (que é importante para a formação do solo), entre outras (MIKLÓS, 1998).

O termo agricultura autóctone ou agricultura tradicional refere-se ao sistema agrícola cujas bases técnicas reportam ao Brasil pré-colonial, mantida pelas populações indígenas remanescentes e populações que se utilizam da técnica transmitida culturalmente por seus antepassados (CURY, 1993). Essas técnicas adaptam-se aos ecossistemas das regiões onde são praticadas (FARALDO et al., 2000). Esse tipo de agricultura é caracterizado pelo uso de um ciclo de corte da vegetação em estágio de sucessão secundária, seguido pela queima desta vegetação quando seca, plantio, cultivo, abandono da área após a colheita e o retorno à área após alguns anos. Este tipo de agricultura é conhecido comumente por agricultura itinerante, agricultura de coivara, ou de corte e queima, ou ainda, em inglês, como “slash-and-burn” (ÉDEN, 1988; CURY, 1993; ÉDEN, 1993). Os impactos e contribuições deste tipo de agricultura através de análises históricas foram revisados por Houghton et al. (1991). Segundo Bellon (1996), a diversidade genética de determinadas espécies é mantida por agricultores autóctones, através do sistema

“slash-and-burn”, para satisfazerem uma série de necessidades, em função do contexto sócio-econômico em que estão inseridos.

Espécies cultivadas na agricultura autóctone podem ser consideradas fornecedoras permanentes de novos materiais genéticos, pois os processos evolutivos estão constantemente ativos nessas populações (BRUSH, 1995). Essa diversidade genética é notada no grande número de variedades de espécies cultivadas, conhecidas como variedades tradicionais ou etnovariedades, como mandioca, arroz, batata-doce, cará, inhame, milho, goiaba, uva, etc. (BRUSH et al., 1981; HAMON; TOURE, 1990; CLEVELAND et al. 1994; STRUSS; PLIESKE, 1998; CATTAN-TOUPANCE et al., 1998; PERONI e HANAZAKI, 2002; BRESSAN et al., 2005). Povos indígenas no continente americano mantêm cultivares com ampla diversidade, devido ao tipo de manejo e cultura destes povos (KERR; CLEMENT, 1980; BOSTER, 1985; MARTINS, 1994; SALICK et al., 1997; PERONI, 1998).

O termo etnovariedades, segundo Brown (1978), define populações ecológica ou geograficamente distintas que se diferenciam na composição genética interna e entre outras populações, tendo sido resultantes da seleção local realizada pelos agricultores-melhoristas. O termo em inglês, “landrace”, sofreu evoluções na sua definição durante décadas, contudo, parece que a de Mansholt (1909) continua sendo a melhor, recebendo maior credibilidade e aceitação (ZEVEN, 1998). Para Mansholt, as etnovariedades autóctones são variedades com alta capacidade de tolerar o stress biótico e abiótico, resultando numa alta estabilidade produtiva inserida num sistema de agricultura com baixo *input* de energia. As etnovariedades também podem ser definidas como raças locais, cultivadas normalmente por pequenos agricultores, na qual o melhoramento não foi efetuado, apresentando uma alta diversidade genética em relação às outras populações, constituindo-se num reservatório de genes, o qual pode ser utilizado para formar novas variedades melhoradas ou até mesmo transmitir características desejáveis às variedades comerciais (ZEVEN, 1998; SILVA et al., 2002).

A mandioca é a principal planta cultivada na agricultura autóctone no Brasil e em outras áreas tropicais da América do Sul (MARTINS, 1994). Cultivada sob um sistema de agricultura tradicional, assegura uma fonte de variabilidade genética, possuindo características únicas, ausentes nas espécies melhoradas (CLEVELAND et al., 1994). Numa pesquisa para verificar a extensão da diversidade genética de sete culturas cultivadas em Bohol, nas Filipinas, junto a agricultores tradicionais, foi registrado o cultivo de 88 variedades, entre as quais, 29 de mandioca

(CBDC, 2001). Os pesquisadores observaram que a diversidade associada a essas culturas era grandemente influenciada pelo sistema reprodutivo da cultura, pelas práticas de manejo dos agricultores e pelas pressões de seleção exercidas tanto pelo próprio homem como por causas naturais. Vários outros investigadores avaliaram acessos de mandioca, caracterizando variedades melhoradas e etnovariedades oriundas de várias regiões do Brasil chegando a resultados e conclusões semelhantes. Destacam-se, pela sua importância, trabalhos de Bezerra (1997), Cury (1993, 1998), Faraldo (1994, 1999), Peroni (1998), Mühlen (1999), Silva (2000), Martins (2001) e Sambatti et al. (2000, 2001).

Cury (1993) e Martins (1994, 2001) propuseram que a roça fosse a unidade básica evolutiva, local onde atuam os processos de geração, amplificação e manutenção da variabilidade genética, indicando que a variabilidade genética está concentrada dentro das roças. Peroni et al. (1999) descreveram e analisaram a diversidade intra-específica de algumas variedades de mandioca na Floresta Atlântica Brasileira e destacaram a importância da manutenção da agricultura tradicional, bem como da emergência de novas políticas de manutenção da mandioca em sistemas de roça brasileira.

Segundo Diegues e Arruda (2001), a diversidade de populações tradicionais existentes no Brasil é fruto da miscigenação de índios, brancos e escravos negros. Como exemplo, podemos encontrar populações tradicionais do tipo: caiçaras (no litoral brasileiro), açorianos (no litoral catarinense e rio-grandense), babaçueiros (na região Meio-Norte [Goiás, Tocantins, Maranhão e Piauí]), caboclo-ribeirinhos amazônicos (na Floresta Amazônica), caipira-sitiantes (no Sudeste e Centro-Oeste), pantaneiros (no Mato Grosso e Mato Grosso do Sul [Figura 1]), entre muitas outras.



Figura 1 - Pantaneira do município de Costa Rica, Mato Grosso do Sul, realizando o descasque da mandioca (*Manihot esculenta*) (Fonte: Teresa Lousada Valle - IAC)

Estas populações têm gerado formas particulares de sobrevivência, que envolvem a exploração de uma multiplicidade de habitats, como por exemplo, as florestas e as áreas já transformadas para fins agrícolas. A exploração desses habitats não se reduz à visão econômica dos recursos naturais, revelando ainda um profundo conhecimento destes, das épocas de reprodução das espécies e a utilização de um calendário complexo dentro do qual se ajustam, com maior ou menor integração, os diversos usos do ecossistema. Tais conhecimentos têm sido adquiridos pela tradição herdada dos mais velhos, e de mitos e símbolos que levam à manutenção e ao uso sustentado dos ecossistemas naturais (Diegues, 1996).

Apesar desta importância ser salientada ao mais alto nível, em alguns casos o impacto negativo da agricultura chamada ‘moderna’ na agricultura tradicional e na biodiversidade foi tão severo que muitas práticas agrícolas tiveram que mutar-se radicalmente; noutros casos passaram a fazer parte de arquivos históricos (HARROP, 2005). Uma longa revisão de medidas que visam a proteção da agricultura tradicional e os conhecimentos a ela associados foi realizada por Harrop (2007). Segundo o autor, muito da pesquisa realizada nos últimos anos tem demonstrado a importância dos diferentes sistemas de agricultura tradicional, contudo, os organismos nacionais e internacionais responsáveis por esses espaços não proporcionam medidas de proteção reais para reverter a situação. Elias et al. (2000) reforça que na conservação da agricultura tradicional deve-se ter em conta as particularidades do ambiente em que as regiões estão inseridas, sendo que a ação do homem não só condiciona a terra, mas a continuidade de muitas populações vegetais usadas neste tipo de agricultura.

2.2 Cultura da Mandioca

2.2.1 Origem, domesticação e diversificação

A origem e domesticação da mandioca há muito que é discutida, contudo a maior parte dos estudos apontam para os trópicos baixos, entre a América do Sul e o México. Um dos primeiros estudos a apontar a domesticação e dispersão da mandioca no Brasil foi apresentado por Pohl (1827). Estudos mais recentes indicaram os Estados de Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Rondônia e Acre como possíveis regiões brasileiras de domesticação da mandioca (Allen, 1997; Olsen e Schaal, 1999). Consideráveis conhecimentos nos últimos anos nas áreas de botânica e genética, focando os principais centros de domesticação, levaram Allen (1987, 1994, 1999) a sugerir que as subespécies *Manihot esculenta* Crantz ssp. *flabellifolia* (Pohl) e *M. esculenta* Crantz ssp. *peruviana* (Mueller Argoviensis) tenham sido os possíveis ancestrais da mandioca. Um dos primeiros trabalhos nessa linha, abordando aspectos da filogenia da espécie com o auxílio de técnicas moleculares, foi o de Bertram e Schaal (1993). Eles pesquisaram a filogenia da mandioca através da análise de RFLP e DNA de cloroplasto. Sua pesquisa abrangeu 12 espécies de *Manihot* oriundas das Américas. Entretanto, não chegaram a nenhuma conclusão. Nassar (2000) contribuiu com a citogenética para auxiliar na compreensão da origem da mandioca, assumindo que a mandioca originou-se por hibridação entre duas espécies selvagens, seguido pela reprodução vegetativa de um híbrido. Carvalho e Schaal (2001), estudando os aspectos genéticos e filogenéticos de *M. esculenta* ssp. *esculenta*, *M. esculenta* ssp. *flabellifolia* e *M. pilosa*, confirmaram a proximidade genética entre *M. esculenta* ssp. *esculenta* e *M. esculenta* ssp. *flabellifolia*, bem como o distanciamento de *M. pilosa* destas duas. Olsen e Schaal (1999; 2001) e Olsen (2004) tentaram esclarecer a origem da mandioca, avaliando características morfológicas, geográficas e filogenéticas de inúmeras populações nessas regiões. Nesses estudos foram utilizados dois tipos de marcadores de DNA: SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) e SSR (*Simple Sequence Repeats*). Foram coletadas mandiocas de origens geograficamente diferentes, num total de 212 acessos, avaliando-se 20 plantas escolhidas ao acaso de cada acesso. Concluiu-se que a mandioca foi domesticada a partir de uma subespécie de *Manihot*, *M. esculenta* ssp. *flabellifolia*, e não de um híbrido como se acreditava. O estudo propõe que a espécie originou-se no sul da Amazônia e que a espécie *M. esculenta* ssp. *flabellifolia* é a ancestral da espécie cultivada atualmente.

Com toda essa discussão, as últimas pesquisas de caráter interdisciplinar, envolvendo taxonomia, biossistemática e cladística, têm convergido em direção ao consenso que a mandioca descende mesmo de *M. flabellifolia* (ALLEN, 2002; OLSEN, 2004).

A mandioca foi provavelmente cultivada pela primeira vez no Brasil, na Venezuela e na América Central (ROGERS, 1963, 1965). É uma espécie domesticada por povos pré-colombianos, visando a produção basicamente de raízes. Evidências arqueológicas indicam que a mandioca é cultivada na região da Colômbia e Venezuela há cerca de 3000 a 7000 anos (ROUSE; CRUXENT, 1963; REICHEL-DOLMATOFF, 1965). Segundo Hershey e Jennings (1992), a domesticação ocorreu em várias áreas, de modo simultâneo. Após o descobrimento da América, houve uma rápida dispersão dessa espécie. No século XVI, a mandioca foi introduzida na Ásia e na África por portugueses e espanhóis, onde se desenvolveu com grande sucesso e, hoje, o continente africano é considerado um centro secundário de diversidade (LEFÉVRE, 1989). Uma longa e detalhada explicação sobre os aspectos ligados a domesticação da espécie foi feita por Allen (2002).

A antiguidade da domesticação da mandioca é reforçada pela grande possibilidade do cultivo de plantas de propagação vegetativa (na qual se inclui a mandioca) se ter iniciado antes do cultivo de plantas com sementes (HARRIS, 1967), e pela grande importância que a cultura tem nos sistemas de produção classificados antropologicamente como primitivos. Jennings (1979) especula que a domesticação da mandioca envolveu seleção para tamanho do tubérculo, hábito de crescimento ereto, menor número de ramificações, e habilidade para propagação vegetativa através de pedaços do caule (manivas). O processo gerou respostas correlacionadas em diversos outros caracteres, como por exemplo: a seleção para plantas menos ramificadas favoreceu genótipos com acúmulo de reserva no caule e gemas caulinares protuberantes.

Rouse e Cruxent (1963) detectaram artefatos para processar mandioca entre 3000 e 7000 anos atrás. Hershey e Almaya (1984) atestam que o termo mais utilizado para designar mandioca está em uso a mais de 3500 anos. Quando os europeus chegaram à América no século XV, a mandioca já era cultivada em todo o continente (PATIÑO, 1964, citado por ALLEN, 2002).

A diversificação da mandioca está concentrada principalmente na América Latina e Caribe. Aproximadamente 8.500 acessos de mandioca são mantidos nas diversas coleções a nível mundial, dos quais 7.500 encontram-se na América do Sul (COSTA e MORALES, 1994).

Acredita-se que a maioria desses acessos são etnovarietades, cultivadas sob sistema de agricultura tradicional (MUHLEN et al., 2000). O maior centro de diversidade do gênero *Manihot* se encontra especificamente no Brasil, onde ocorre cerca de 70% das espécies do referido gênero (ROGERS e APPAN, 1973). Em virtude da adaptação específica das variedades de mandioca, formaram-se no Brasil, a partir de 1994, sob a liderança da EMBRAPA, seis bancos regionais de germoplasma de mandioca (FUKUDA et al., 1997).

Pouco ou quase nada tem sido discutido no Brasil sobre como podem ser integradas estratégias de conservação de áreas protegidas, ou Unidades de Conservação, com estratégias que beneficiem agricultores tradicionais que conservam espécies, variedades, conhecimento e processos de manejo (PERONI, 2007). Apesar da grande diversidade da mandioca observada na maior parte do território brasileiro, a perda dessa diversidade é descrita em inúmeros trabalhos. Peroni e Hanazaki (2002) referem que grande parte dessa perda é devido ao abandono das roças pelos filhos dos proprietários, sublinhando a necessidade de estratégias e políticas de conservação junto às comunidades caiçaras, entre muitas ações, a salvaguarda de materiais genéticos insubstituíveis. Quando o papel das populações humanas tradicionais, mantenedoras da diversificação genética da mandioca, é interrompido, seja por conflitos agrários, pela migração forçada ou problemas de outra natureza, a geração da amplificação de novas variedades deixa de existir (MARTINS, 2001). Para Cury (1993), o sistema de agricultura autóctone observado nas localidades por ele estudada, apresenta alto valor histórico e biológico, visto preservar as práticas agrícolas e o ambiente onde ocorrem os processos de domesticação e diversificação da mandioca. Para o autor, a conservação *in situ* de germoplasma de mandioca deve manter não só esta diversidade, mas também conservar o ambiente de cultivo original. Sambatti et al. (2000) reforça a idéia de que não basta conservar apenas uma roça para realizar a conservação *in situ*. É preciso, entretanto, ter em mente que a grande vantagem da conservação *in situ* é a manutenção da dinâmica evolutiva nas populações cultivadas. Os autores exemplificam a medida através do seguinte exemplo: a chance de um recombinante favorável ou mesmo um mutante favorável ser criado é tremendamente ampliada se considerarmos toda uma comunidade praticando agricultura em comparação com uma roça de um agricultor.

2.2.2 Aspectos taxonômicos, botânicos e agronômicos

Dentro da sistemática botânica de classificação hierárquica a mandioca pertence à classe das Dicotiledôneas, à subclasse Archiclamydeae, à ordem Euphorbiales, à família Euphorbiaceae, à tribo Manihoteae, ao gênero *Manihot* e à espécie *Manihot esculenta* Crantz (Fukuda, 1999). Assim, *Manihot esculenta* Crantz atualmente é classificada como *M. esculenta* Crantz ssp. *esculenta* sendo que *M. esculenta* ssp. *flabellifolia* (Pohl.) Cif. e *M. esculenta* ssp. *peruviana* (Müll.) Allem, são os prováveis progenitores selvagens que compõem, junto com a *M. esculenta* Crantz ssp. *esculenta*, o conjunto gênico primário (CURY, 1993), embora as pesquisas mais recentes apontem *M. esculenta* ssp. *flabellifolia* como sendo o único ancestral da mandioca (OLSEN, 2004).

Identificadas 98 espécies do gênero *Manihot*, a mandioca (*M. esculenta*) é a única comestível (FUKUDA, 1999). 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 ou doces não têm sabor amargo, contêm baixo teor de glicosídeos cianogênicos e são consumidas com ou sem qualquer processamento, principalmente na culinária diária (VALLE et al., 2004). A diferenciação entre “amarga” e “doce” é feita pelo conhecimento popular, sendo que a amarga é mais tóxica (possuindo tanino e cianeto) e precisa ser processada para consumo humano. Isto não se verifica com a doce que é usada de forma tradicional e direta (BORÉM, 1999; ELIAS et al., 2004). Peroni (1998) concluiu através de seu estudo que os agricultores diferenciam coerentemente as variedades de mandioca através da morfologia. Entretanto, não distinguem genótipos diferentes “dentro” das etnovariedades, quando as plantas apresentam grande semelhança morfológica. Isto também foi demonstrado por Cury (1998), referindo no seu trabalho que não houve correlação entre o uso das etnovariedades pelos agricultores e os potenciais cianogênicos encontrados. Cury (1993) registrou ainda que as sinônimas quanto ao nome local não significam identidade genética e a recíproca também é verdadeira.

A mandioca é uma espécie alógama, altamente heterozigótica, monóica e de $2n = 36$ cromossomos (BORÉM, 1999). A variabilidade das populações por meio da recombinação genética é conseguida a partir da reprodução sexuada. Isso garante novas combinações com maiores capacidades agronômicas e adaptativas que seus progenitores. Contudo, segundo Silva

(2000), a mandioca, ao longo do tempo, tem sido propagada vegetativamente por ação humana, embora tenha mantido a reprodução sexuada ativa. Do ponto de vista agrônomo, biológico e experimental a espécie manteve a rusticidade, não perdendo a capacidade de reproduzir-se sexuadamente; do ponto de vista etnoecológico, os bancos de sementes mantidos na agricultura tradicional revelam um papel primordial na evolução da cultura (PUJOL et al., 2002). Apesar da menor variabilidade genética da forma cultivada (*M. esculenta* subsp. *esculenta*) em relação às populações selvagens, contribuíram para a manutenção e geração desta diversidade, segundo Mühlen et al. (2005): a grande amplitude ambiental, social e histórica e a possibilidade de introgressão nas áreas de simpatria com espécies silvestres do conjunto gênico primário, entre outros.

Várias formações e tamanhos se verificam nas raízes da mandioca: cilíndricas, cônicas e algumas vezes globosas. O tamanho ideal e desejado pelas indústrias é de cerca de 30 a 40 cm, livres de defeitos e dotadas das características para os fins a que se destinam. O interior das raízes pode apresentar inúmeras tonalidades, entre os quais o amarelo, o creme e o rosa, sendo o branco o mais frequente. O modelo caulinar é sub-arbustivo; quando adulto é lenhoso, quebradiço e dotado de nós salientes. Pode apresentar vários tons acastanhados e prateados. O sistema foliar apresenta folhas simples inseridas no caule em disposição alterna-espirlada, lombadas e com pecíolos longos. As folhas podem apresentar uma gama diversificada de tons que passam pelo verde, amarelo e roxo. As flores não apresentam cálice ou corola apresentando uma estrutura indefinida denominada de perianto, composta por cinco tépalos de coloração amarela, avermelhada ou roxa, os quais nas flores femininas encontram-se separadas. O fruto é uma cápsula com uma a três sementes sendo estas carunculadas (CONCEIÇÃO, 1987; SILVA, 2000; CEBALLOS; CRUZ, 2002).

Fukuda e Guevara (1998) publicaram uma lista de descritores morfológicos e agrônômicos padronizados, para a mandioca, divididos em categorias. Estes descrevem inúmeros aspectos da cultura, desde o florescimento da cultivar, passando pela cor da polpa, altura das ramificações, peso médio das raízes, conteúdo de ácido cianídrico na planta, entre outros.

Levando-se em conta que a mandioca é originária de região tropical, depreende-se logo que o clima ideal deve ser quente, livre de geadas, com chuvas abundantes e bem distribuídas para o seu crescimento normal, exigindo boa insolação e luminosidade nos intervalos de chuva. A precipitação pluviométrica é o fator de maior importância para a mandioca (CONCEIÇÃO,

1987). A melhor época de plantio da mandioca é no início do período chuvoso – fundamental para assegurar boa produtividade. As manivas (pequeno fragmento do caule) podem ser plantadas segundo quatro distintas modalidades: em matumbo, covas, camalhões e sulcos (SILVA et al., 2001).

A mandioca pode ser usada em consórcio com várias culturas como o milho, o algodão, o amendoim e o arroz, rentabilizando sua produção sem causar prejuízo ao cultivo da mandioca (DOMINGUÉZ, 1984; CAMARGO, 1985; EMBRAPA, 2004). O Banco do Nordeste do Brasil (1967) apontou várias vantagens para o método de cultivo em forma “amontada” verificando-se um melhoramento na economia da água e a proteção contra a erosão do solo.

A colheita é feita manualmente podendo um homem colher diariamente entre 800 a 1400 kg de raízes dependendo das características do cultivar e da textura do solo (IPA, 2004). A época de colheita é diferente de região para região, sendo que em termos gerais, o processo é realizado quando a planta perde as folhas, verificando-se um máximo de produção de raízes com alto teor de amido (CONCEIÇÃO, 1987). Relativamente ao processo de conservação das raízes, esta deve ser consumida rapidamente após a colheita, já que é um produto que se estraga com relativa facilidade; contudo, além do processo de congelação, o armazenamento no solo (abrigado da exposição solar) pode conservar raízes em bom estado até 90 dias (CAMARGO, 1985). Vários estudos têm sido realizados para minimizar os riscos de podridão da farinha armazenadas, e muito se tem conseguido através de estudos de microbiologia alimentar (NETO et al., 2004).

2.2.3 Importância da Cultura

A mandioca, conhecida por muitos nomes populares, sobretudo como “macaxeira” e “aipim” no Brasil, é utilizada por aproximadamente 500 milhões de pessoas dos continentes Africano, Asiático e Sul-Americano. O Brasil é responsável por 25 % da produção mundial, situando-se abaixo do continente Africano (responsável por 38 % da produção) e Asiático (35 % da produção mundial) (FAO, 2007). Dados recentes apontam para um aumento acentuado na produção de mandioca pelo Brasil. Fazendo-se uma análise sobre os 120 produtos que entram na dieta alimentar da humanidade, vemos que apenas 15 espécies de plantas (entre os quais a mandioca) são consumidas por cerca de 80 % da população mundial (CÂMARA et al., 1985; NASS, 2001; IBGE, 2007). A mandioca ocupa no mundo mais de 16 milhões de hectares produzindo mais de 170 milhões de toneladas de raiz (ANDERSON et al., 2004; FAO, 2007),

com cerca de 27,6 milhões de toneladas produzidas apenas em território brasileiro durante a safra de 2006 (IBGE, 2007), sendo que no Brasil o consumo médio anual é de 50,6 kg/pessoa (LORENZI, 2003).

A mandioca é cultivada em quase todo território nacional, desde os Estados do Amazonas até o Rio Grande do Sul, sob as mais diferentes condições de solo, clima e sistemas de cultivo (BONIERBALE et al., 1995). A região de Cerrados no Brasil, com área de 274 milhões de hectares e características de Savanas, compreende uma extensa área contínua nos Estados de Goiás, Bahia, Minas Gerais e Mato Grosso, e algumas penínsulas e áreas disjuntas que se estendem por outros estados (EITEN, 1972). Esta região é de fundamental importância para a agricultura brasileira e representa um dos principais centros de dispersão da cultura da mandioca. Segundo a Embrapa (2006), as baixas produtividades da cultura na região são devidas principalmente à utilização de variedades não melhoradas e à ocorrência de pragas e doenças. Na região do Cerrado, estima-se que em torno de 80% das áreas com mandioca são cultivadas por pequenos produtores, existindo variedades próprias para o plantio nessa região tais como: a Vassourinha, Gostosa, Amarelinha, Engana Ladrão, Sergipe, Manteiga, Mandioca Pão e Cacau (Minas Gerais); Fitinha, Amarelinha, Olho Junto, Espeto e Fécula Branca (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul); e Cacau, Vassourinha, Pão da China, Amarelinha, IAC 576-70, Canela de Urubu, Buritis, Americana, Japonezinha e Pioneira (Goiás e Distrito Federal).

Vários são os cultivares de mandioca utilizados comercialmente, sendo que no melhoramento da mandioca os objetivos recaem sobre caracteres múltiplos, considerando dois aspectos importantes: o ecossistema e a finalidade de exploração de cultivo (CEREDA, 2002). O controle e erradicação das doenças que afetam a cultura da mandioca (PITA et al., 2001), a adaptação ao stress abiótico gerado pela seca (CACH et al., 2006), o aumento do valor nutricional (CHÁVEZ et al., 2005) e a melhoria na produção industrial são alguns dos objetivos no melhoramento desta cultura (KAWANO, 2003).

Um dos fatores que determina a forma de aproveitamento das raízes de mandioca é o conteúdo de compostos cianogênicos (HCN), variável para diferentes cultivares de mandioca. Assim, as variedades cultivadas que apresentam baixos teores desses compostos nas raízes, popularmente denominadas como mansa, aipim ou macaxeira, podem ser consumidas 'in natura' como podem ser utilizadas para qualquer outra finalidade. As raízes de cultivares com alto teor

de compostos cianogênicos, chamados de mandiocas “bravas”, somente podem ser consumidas após serem submetidas a algum processo de destoxificação e são consumidas na forma de farinha e fécula. Portanto, mandioca de mesa se diferencia da mandioca brava por apresentar baixos teores de ácido cianídrico (HCN) nas raízes. Além de baixos teores de HCN nas raízes, as variedades de mandioca indicadas para mesa devem apresentar sabor característico agradável, um cozimento mais rápido e estável, maior qualidade da massa cozida, maior tempo de conservação após a colheita e cor de polpa de raiz variável de acordo com o costume da região (VALLE et al., 2004; MEZETTE, 2007). Na África, muitos trabalhos têm sido efetuados conjuntamente com a população de modo a melhorar a qualidade das raízes e o aumento da produção, tanto das variedades para fins industriais como variedades para mesa, sobretudo junto aos agricultores tradicionais (MANU-ADUENING et al., 2006).

Segundo Camargo (1985) e Silva et al. (2001), o Brasil é tradicionalmente o pioneiro no aproveitamento industrial da mandioca. Seu uso alimentar é tão diversificado que se torna difícil referir todas as aplicações gastronômicas. A fécula, o polvilho e a farinha de mesa merecem destaque pela sua utilização em nível nacional. A principal importância da mandioca, como matéria-prima industrial, é a de ser fonte de amido e seus derivados. O amido acumula-se nas raízes e funciona como um depósito de reservas para os períodos de crescimento e dormência das plantas. A possibilidade de obtenção de álcoois finos a partir da raiz da mandioca foi conduzida pelo Centro de Raízes Tropicais (Botucatu, São Paulo) e já produziu vodca de excelente qualidade a partir do álcool da mandioca. Na indústria têxtil é usada para reduzir ruptura e desfibramento nos teares, para espessar os corantes e agir como suporte das cores. Na indústria de papel a matéria-prima serve para dar corpo, para aumentar a firmeza e o peso de papel, papelão e tecidos, aumentar a resistência das dobras e melhorar a aparência dos produtos finais (SILVA et al., 2001; EMBRAPA, 2004). De múltiplos usos, as folhas podem ser utilizadas para a alimentação animal e silagens. Como é um produto que se deteriora rapidamente após a colheita, seu uso na forma de raspa e silagem são os mais eficientes, uma vez que têm a vantagem de concentrar os princípios nutritivos e serem de fácil armazenamento (CEREDA, 2002).

Ao nível das importações mundiais, a Europa adquire cada vez mais derivados da mandioca, utilizando esses subprodutos para rações balanceadas em nutrição animal substituindo o milho e a cevada (CÂMARA; GODOY, 1990). O “pão do Brasil” como é conhecida a mandioca deixou de ser visto como uma cultura de subsistência; na atualidade as exportações

continuam a representar importantes fontes de rendimento para inúmeros países. Novas pesquisas e a aplicação em novos processos biotecnológicos tornam promissor o futuro da mandioca (CONCEIÇÃO, 1987).

No Estado do Mato Grosso do Sul a cultura da mandioca vem se expandindo devido aos produtores de fécula (VALLE et al., 2005). Este Estado planta hoje mais de 50 mil hectares de mandioca, alcançando 19 toneladas de raiz por hectare, compreendendo a maior produtividade obtida no país. A cultura da mandioca é considerada como a principal cultura nos assentamentos rurais sul-mato-grossenses, e a terceira em geração de empregos no Brasil, ficando atrás apenas das culturas de café e milho. Mato Grosso do Sul possui 16 indústrias produtoras de fécula em funcionamento, que processam mais de 80% da produção de raiz de mandioca do Estado (EMBRAPA, 2004). Pasa (2005) realizou um levantamento etnobotânico de plantas classificadas em diferentes categorias de uso em uma comunidade no Estado do Mato Grosso do Sul, revelando que a mandioca constitui o principal cultivo, sendo considerada como exploração tipicamente regional, não tendo fins lucrativos. Dados semelhantes foram obtidos em outros municípios como em Santo Antônio do Leverger, Estado do Mato Grosso, quanto ao cultivo da mandioca (AMOROZO, 2000) e entre os caiçaras da Mata Atlântica em São Paulo (BEGOSSEI et al., 2002).

2.3 Marcadores Moleculares

Num curto espaço de tempo, a Genética Molecular permitiu avanços relevantes em prol da agricultura. As técnicas de genética molecular possibilitaram 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). O termo marcador indica que a sua função é, entre outras, identificar ou “etiquetar algo”. Os marcadores genéticos são utilizados para marcar alelos cuja expressão seja de difícil identificação. Nesse caso, pode-se selecionar o alelo de interesse de forma indireta, por meio de um marcador. Adicionalmente, estes marcadores têm sido utilizados em estudos de divergência genética, testes de paternidade, identificação de cultivares, mapeamento genético de QTL's (*Quantitative Trait Loci*), entre outros (MONTALDO; MEZA-HERRERA, 1998; RAMALHO et al., 2004).

Antes dos marcadores moleculares utilizavam-se os marcadores morfológicos, sendo estes de fácil detecção, normalmente determinados por um único gene. Como exemplo temos o

nanismo, a deficiência em clorofila, a cor das pétalas, entre outros. Porém, seu número reduzido e a incapacidade de marcar alelos de interesse, fizeram com que fossem substituídos por marcadores isoenzimáticos (proteínas) e de DNA (FERREIRA; GRATTAPLAGIA, 1998; RAMALHO et al., 2004). As descrições morfológicas são ainda hoje o “cartão de apresentação” de uma nova variedade. Estes têm papel fundamental na divulgação das características agronômicas de novos materiais genéticos, e podem influenciar decisivamente na escolha de variedades por parte de agricultores e outros interessados. Contudo, as descrições morfológicas apresentam limitações, especialmente na distinção de genótipos elite. Em culturas de base genética estreita, eles podem muitas vezes não distinguir adequadamente cultivares comerciais (SMITH; SMITH, 1992; PECCHIONI et al., 1996). Algumas características morfológicas podem ter a desvantagem de serem influenciadas, em maior grau, por fatores ambientais, e podem não representar a real similaridade ou diferença entre os indivíduos. Por outro lado, marcadores de DNA representam estritamente a variação genética, não sofrendo influência ambiental (WEISING et al., 1995).

As informações obtidas por meio dos marcadores moleculares são muito úteis na identificação de genótipos contrastantes em programas de melhoramento, permitindo a análise de genótipos de interesse, a obtenção de informações relativas à variabilidade existente e à associação com características fenotípicas. A seleção assistida por marcadores detecta diferenças genético-moleculares, representando um futuro promissor para a agricultura (FARALDO et al., 2002).

Um aspecto a realçar é a otimização das técnicas moleculares para a comparação de genótipos dentro de cada espécie, pois variações nos resultados de caracterização molecular podem ocorrer em função de ajustes nas mesmas (FERREIRA; GRATTAPLAGIA, 1998). Um exemplo é a técnica de RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*) que é de difícil reprodutibilidade de um laboratório para o outro. Técnicas como essa devem ser usadas com muita cautela, pois originam diferenças que podem não existir na realidade. O recomendável é que os pesquisadores que já utilizam essa técnica, convertam os marcadores de RAPD de interesse naqueles do tipo SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*), que são de maior especificidade e reprodutibilidade (GRATTAPLAGIA, 1998). De qualquer maneira, com essa ou outras técnicas de marcadores de DNA, será importante que os dados de caracterização do

cultivar de um programa de melhoramento possam ser comparados com o de outros (MILACH, 1998).

2.3.1 Marcadores Microsatélites

Os genomas eucarióticos apresentam várias classes de sequências repetidas. Uma delas consiste de repetições em *tandem* de pequenas sequências de 1 a 6 nucleotídeos, denominadas microsatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) (ALBERT et al., 1994; FERREIRA; GRATTAPLAGIA, 1998).

Esta técnica baseia-se na reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para detectar variações em locos de sequências repetitivas, tendo sido citada inicialmente em trabalhos de genética humana (LITT; LUTY, 1989; WEBER; MAY, 1989). A técnica de microsatélites revela polimorfismo num 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, em variações no comprimento do segmento detectado pela PCR e na separação de fragmentos amplificados em gel de eletroforese (BUSO et al., 2003). Cada loco de SSR é analisado individualmente ao utilizar-se um par de *primers* específicos para sua amplificação. Mais de um loco pode ser analisado simultaneamente quando os alelos têm tamanhos suficientemente diferentes e migram para zonas separadas do gel (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores SSR caracterizam-se por serem codominantes (ambos os alelos de um indivíduo heterozigótico são visualizados), por fornecerem um alto índice de informação, serem abundantes, de genotipagem rápida e fácil, estarem aparentemente distribuídos por todo o genoma, serem multialélicos e não dependerem de grandes quantidades de DNA para serem analisados via PCR (FERREIRA; GRATTAPLAGIA, 1998; ALVES, 2002; CEREDA, 2002).

Classificados em três famílias (repetições puras – os locos de microsatélites são formados por um único motivo repetitivo; compostas – mais de um motivo compõem o microsatélite; e interrompidas – os motivos são intercalados por nucleotídeos que não fazem parte da unidade de repetição), os microsatélites de plantas são cinco vezes menos abundantes que os microsatélites em humanos, onde ocorre um microsatélite a cada 6 Kb. Em plantas, uma busca em bancos de dados de sequências de DNA publicados, revelou que sítios de

microssatélites são largamente distribuídos com uma frequência de um a cada 50 Kb. Sua presença foi constatada em 34 espécies vegetais, sendo que o elemento repetido mais comum foi o dinucleotídeo AT (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; PINTO et al., 2001).

Os microssatélites possuem vantagens sobre os marcadores dominantes RAPD e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) principalmente para mapeamento genético (BUSO et al., 2003). Para Pinto et al. (2001), o grande uso de microssatélites está associado ao fato deste marcador, a cada amplificação, revelar um único loco, o qual é frequentemente multialélico. Segundo Scott et al. (2000), os locos simples dos marcadores de microssatélites são caracterizados pela sua hipervariabilidade, abundância e uniformidade, reprodutibilidade, multialélicos, herança Mendeliana e serem do tipo codominante. Existem desvantagens relevantes que se destacam na aplicação dos microssatélites: grande quantidade de trabalho para o desenvolvimento prévio dos marcadores (clonagem e seqüenciamento das regiões que flanqueiam a região microssatélite), pessoal especializado e equipamento sofisticado aliado ao elevado custo de um procedimento desta natureza. Contudo, pelos excelentes resultados numa ampla variedade de plantas analisadas, esses marcadores são muito satisfatórios (CONTE, 2004).

2.3.2 Caracterização de germoplasma de mandioca por meio de marcadores moleculares

Diversos trabalhos visando a análise da diversidade genética de germoplasma de mandioca já foram realizados tanto com isoenzimas (RESENDE et al., 2000; CABRAL et al., 2002; MONTARROYOS et al., 2003; ZALDIVAR et al., 2004), como com marcadores moleculares como RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (BEECHING et al., 1993), AFLP (WONG et al., 1999; ELIAS et al., 2001), RAPD (COLOMBO et al., 2000; ASANTE; OFFEI, 2003; COSTA et al., 2003; ZACARIAS et al., 2004), microssatélites (MKUMBIRA et al., 2003; ELIAS et al., 2004) e eventualmente a combinação de vários marcadores (MUHLEN et al., 2000; CARVALHO; SCHAAL, 2001).

Os microssatélites têm sido utilizados principalmente para a detecção de polimorfismo, estudos de evolução (ONSEL; SCHAAL, 1999), origem e domesticação (OLSEN, 2004), diversidade genética (MÜHLEN et al., 2000; ELIAS et al., 2004), graus de parentesco entre as espécies silvestres do gênero *Manihot* (NASSAR; COLLEVATTI, 2005), construção de mapas genéticos (FREGENE et al., 1997; JORGE et al., 2000; MBA et al., 2001), estudos de herança e variabilidade (CHAVARRIAGA-AGUIRRE et al., 1998), sistema reprodutivo (BRESSAN et al.,

2004), melhoramento (OKOGBENIN; FREGENE, 2002) e caracterização e identificação de acessos e etnovarietades presentes nos bancos de germoplasma (FARALDO et al., 2002; FREGENE et al., 2003; MKUMBIRA et al., 2003).

Muhlen et al. (2000) avaliaram 54 etnovarietades de mandioca originárias de quatro regiões brasileiras, classificando-as em bravas (38 variedades) e mansas (17 variedades). Este estudo reforça a tese de que os microssatélites são ferramentas úteis na avaliação de diversidade genética de etnovarietades de mandioca e que é possível, a partir deste marcador molecular, detectar uma possível compartimentação do germoplasma de mandioca em dois grupos: variedades bravas e mansas. Foram utilizados para estas análises os marcadores RAPD e AFLP que apresentaram uma variabilidade de locos bastante inferior, comparativamente aos apresentados por microssatélites. Elias et al. (2004) usaram microssatélites para analisar etnovarietades tradicionais de mandioca de cinco regiões da América do Sul. Entre as variedades tradicionais, foram encontrados 15 alelos de microssatélites que não estavam presentes na amostragem da coleção mundial que foi usada como referência. Dez destes alelos já haviam sido detectados em espécies silvestres de *Manihot*. Apenas uma leve estruturação geográfica da variabilidade foi observada neste trabalho, no entanto, foi evidenciada uma diferenciação genética entre variedades bravas e de mesa, sugerindo que cada forma tenha evoluído separadamente após a domesticação.

Em um trabalho de maior escala, Fregene et al. (2003) utilizaram 283 acessos de mandioca entre a África (Tanzânia e Nigéria) e países da América do Sul (Brasil, Colômbia, Peru, Venezuela e Argentina) e Central (Guatemala e México), verificando uma variação de 63 locos com o auxílio de microssatélites. Concluíram que o nível de heterozigotidade foi alto entre todos os países, e que os maiores índices de diversidade foram encontrados justamente no Brasil e na Colômbia. Com este estudo, permitiu-se estabelecer com mais detalhe a estrutura filogenética das etnovarietades e avaliar as distâncias genéticas e a frequência dos alelos entre duas regiões distintas – países Neotropicais e a África. Estudos como estes vêm realçar a elevada diversidade genética da mandioca em termos de números, calculando-se que existam cerca de 7000 variedades espalhadas em todo o mundo, em sua maioria etnovarietades, mantidas por agricultores tradicionais em suas roças (KERR; CLEMENT, 1980; BOSTER, 1985; HERSHEY, 1994; SALICK, et al., 1997; EMPERAIRE et al., 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Este estudo foi realizado a partir de acessos da coleção de germoplasma de mandioca do Instituto Agrônomo (IAC), em Campinas, SP, coletados no Estado do Mato Grosso do Sul. Uma duplicata desses acessos encontra-se na coleção de germoplasma de mandioca do Departamento de Genética, ESALQ/USP, no município de Anhembi, SP (Figura 2A). Foram coletadas manivas das etnovariedades selecionadas para o estudo (Figura 2B), as quais foram plantadas próximo ao Laboratório de Ecologia Evolutiva e Genética Aplicada (LEEGA) no Departamento de Genética, em Piracicaba, SP (Figuras 2C e 2D), onde as análises foram conduzidas.

Foram selecionadas para o estudo etnovariedades de mandioca cultivadas no Estado do Mato Grosso do Sul (MS), em ecossistema de Cerrado, provenientes de sete municípios: Sonora (17° 34' 37" S; 54° 45' 28" W), Pedro Gomes (18° 06' 02" S; 54° 33' 07" W), Rio Verde de Mato Grosso (18° 55' 05" S; 54° 50' 39" W), Costa Rica (18° 32' 38" S; 53° 07' 45" W), Cassilândia (19° 06' 48" S; 51° 44' 03" W), Paranaíba (19° 40' 38" S; 51° 11' 27" W) e Inocência (19° 43' 32" S; 51° 55' 48" W) (Figuras 3 e 4). Dentro de cada município, os acessos foram coletados em diferentes roças de agricultura tradicional. Acredita-se que o desenho amostral, que considera a roça e não a variedade como população, deve ser enfatizado neste item, visto que como já sublinhado anteriormente, é a roça a unidade básica evolutiva e a principal entidade geradora da diversidade genética da espécie. Foram avaliadas ao todo 21 roças, somando-se um total de 83 etnovariedades (Tabelas 1 e 2).



Figura 2 - Perfil geral do Banco de Germoplasma do Departamento de Genética da ESALQ/USP (A), seleção de manivas para plantio no Banco de Germoplasma do Departamento de Genética da ESALQ/USP (B) e etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta*) coletadas para o estudo (C e D)

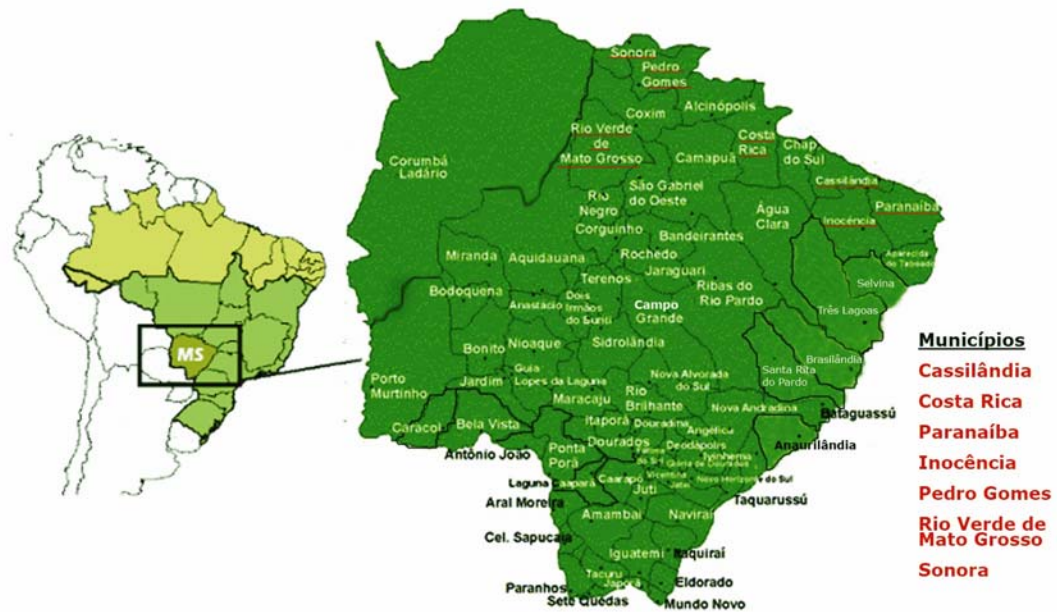


Figura 3 - Mapa do Estado de Mato Grosso do Sul, com destaque para os sete (respectivos) municípios avaliados

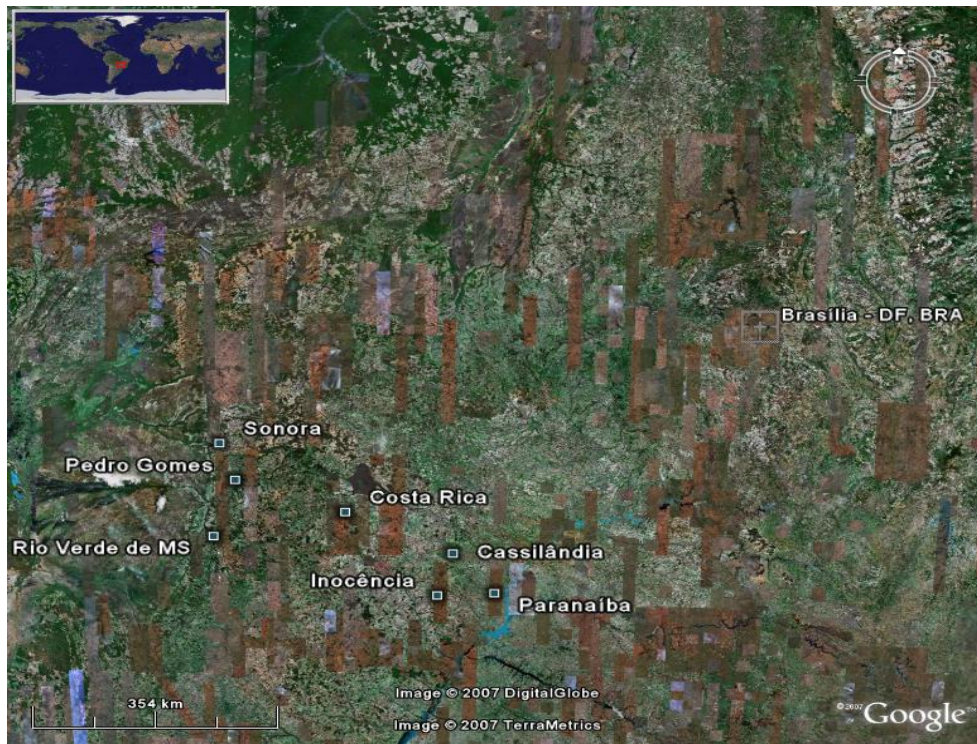


Figura 4 - Imagem de satélite com a localização dos sete municípios analisados do Estado de Mato Grosso do Sul

Tabela 1 - Relação das 83 etnovarietades avaliadas no estudo, bem como a identificação no Banco de Germoplasma no Instituto Agrônômico (IAC), município, roças amostradas, nome popular, origem da variedade e observações diversas

(continua)

N.º	N.º IAC	Município	Roça	Nome da Variedade	Origem	Observações
1	89	Sonora	R1	Castela	Pedro Gomes	tardia parece Vassourinha paulista
2	92	Sonora	R1	Vassourinha	*	(p/ farinha - velha é amarga) parece A. Catarina (Buriti)
3	93	Sonora	R1	Amarelina Buriti	Paraguai	não ramifica)
4	94	Sonora	R1	Paraguaiona	Pedro gomes	para farinha
5	95	Sonora	R2	*	Local	
6	96	Sonora	R2	Macaxeira	Ceara	boa para cozinhar
7	97	Sonora	R2	Branca	Local	para farinha
8	98	Sonora	R2	*	*	mesa e farinha
9	99	Pedro Gomes	R3	Paraguaiona	Local	
10	100	Pedro Gomes	R3	*	*	polpa rosa porte baixo, precoce, muito
11	101	Pedro Gomes	R3	Menina 1	Regional	produtiva
12	102	Pedro Gomes	R3	*	*	porte baixo
13	104	Pedro Gomes	R4	Menina 2	*	porte baixo - precoce
14	105	Pedro Gomes	R4	De Fritar	Paraguai	*
15	106	Pedro Gomes	R5	*	EMBRAPA	Frita sem cozinhar
16	107	Pedro Gomes	R5	Amarela	Local	*
17	113	Rio Verde de MS	R6	Amarela legítima	*	*
18	114	Rio Verde de MS	R6	Pantaneira	*	boa para cozinhar e farinha
19	117	Rio Verde de MS	R7	De Fritar	Pantanal	*
20	118	Rio Verde de MS	R7	Amarelinha	*	Parece A. Catarina. Para mesa e farinha
21	121	Rio Verde de MS	R7	A.manteiga	Itauçu - BA	*
22	122	Rio Verde de MS	R7	Massa fina	Local	enxuta, boa para comer cozida
23	123	Rio Verde de MS	R7	*	Paraná	cozida, porte baixo, muito produtiva
24	124	Rio Verde de MS	R8	De Fritar	Local	*
25	125	Rio Verde de MS	R8	não sabe	Local	produz com 10 meses
26	126	Rio Verde de MS	R8	Cuiabana	Local	*
27	127	Rio Verde de MS	R8	Macaxeira	*	cozinha sempre, procurada para comercio-
28	128	Rio Verde de MS	R8	não sabe	Local	parece A. Catarina
29	129	Rio Verde de MS	R8	Paulistinha	não sabe	*
30	156	Costa Rica	R9	Castelinha Branca	*	boa para polvilho e farinha
31	157	Costa Rica	R9	Amarela	Local	precoce porte baixo
32	159	Costa Rica	R9	Menina	*	*
33	161	Costa Rica	R10	Cacau	Bom Jardim - GO	
34	162	Costa Rica	R10	Vassourinha Branca	Local	cultivada para polvilho
35	163	Costa Rica	R10	Pão	*	*
36	164	Costa Rica	R10	Amarela	*	raízes compridas
37	166	Costa Rica	R10	Amarela	*	parece A Catarina

Tabela 1 - Relação das 83 etnovarietades avaliadas no estudo, bem como a identificação do Banco de Germoplasma no Instituto Agrônômico (IAC), município, roças amostradas, nome popular, origem da variedade e observações diversas

(continuação)

N.º	N.º IAC	Município	Roça	Nome da Variedade	Origem	Observações
38	167	Costa Rica	R10	Paraguinha	Campo Grande	parece A Catarina (farinha amarela e cheirosa) cozida, polvilho e farinha
39	168	Costa Rica	R11	Vassourinha Roxa	local	
41	170	Costa Rica	R11	não sabe	local	
42	171	Costa Rica	R11	não sabe	local	
43	172	Costa Rica	R11	não sabe	local	
44	173	Costa Rica	R12	Polvilho	local	não cozinha, não é brava, muito produtiva, para polvilho
45	174	Costa Rica	R12	Buriti	Mineiros de Goiás - GO	boa para cozinhar
46	175	Costa Rica	R12	Vassourinha vermelha	local	boa para farinha, fécula, cozida pouco produtiva
47	176	Costa Rica	R12	Broto Roxo	local	boa para cozinhar
48	177	Costa Rica	R13	não sabe	local	
49	178	Costa Rica	R13	não sabe	local	
50	179	Costa Rica	R13	não sabe	local	
51	181	Costa Rica	R13	Vermelha	Aporé - GO	quando cozida as raízes ficam cor cenoura
52	184	Costa Rica	R13	não sabe	local	
53	185	Costa Rica	R13	não sabe	local	
54	187	Costa Rica	R13	não sabe	local	
55	200	Cassilândia	R14	não sabe	não sabe	
56	201	Cassilândia	R14	Amarela	local	parece ^a Catarina # da199 , amarela , não água
57	203	Cassilândia	R14	Cacau	não sabe	boa para farinha e polvilho
58	204	Cassilândia	R14	Vassourinha branca	não sabe	
59	205	Cassilândia	R14	Buriti	*	*
60	206	Cassilândia	R14	Vassourinha. Vermelha	*	*
61	207	Cassilândia	R15	Amarela	local	*
62	208	Cassilândia	R15	Pão	*	cozinha bem , as vezes amarga
63	209	Cassilândia	R15	não sabe	*	
64	210	Cassilândia	R15	não sabe	local	Parece 576-70
65	211	Cassilândia	R15	*	*	canela de Urubu
66	212	Cassilândia	R15	Amarela	*	*
67	213	Cassilândia	R15	*	*	*

Tabela 1 - Relação das 83 etnovarietades avaliadas no estudo, bem como a identificação do Banco de Germoplasma no Instituto Agrônômico (IAC), município, roças amostradas, nome popular, origem da variedade e observações diversas

(conclusão)

N.º	N.º IAC	Município	Roça	Nome da Variedade	Origem	Observações
68	214	Cassilândia	R15	*	*	*
69	215	Cassilândia	R15	*	*	*
70	217	Cassilândia	R15	*	*	*
71	218	Cassilândia	R16	*	Itaja-GO	*
72	219	Cassilândia	R16	*	Itaja-GO	*
73	223	Paranaíba	R17	*	*	*
74	225	Paranaíba	R17	*	*	*
75	226	Paranaíba	R17	*	*	*
76	228	Paranaíba	R18	*	*	*
77	232	Paranaíba	R19	*	*	*
78	233	Paranaíba	R19	*	*	*
79	235	Paranaíba	R19	*	*	*
80	236	Paranaíba	R19	*	*	*
81	259	Inocência	R20	Vassourinha	*	Precoce
82	260	Inocência	R20	Vass. Amarela	local	
83	264	Inocência	R21	não sabe	não sabe	*

Tabela 2 - Lista dos municípios, roças e número de etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta*) analisados por município

Municípios	Roças (R)	Número de etnovarietades
Sonora	R1 e R2	8
Pedro Gomes	R3, R4 e R5	8
Rio Verde de MT	R6, R7 e R8	13
Costa Rica	R9, R10, R11, R12 e R13	25
Cassilândia	R14, R15 e R16	18
Paranaíba	R17, R18, e R19	8
Inocência	R20 e R21	3
Total	21	83

Foram também, neste estudo, avaliadas 20 variedades comerciais de mandioca, pertencentes à coleção de germoplasma do IAC, as quais foram classificadas em dois grupos:

variedades de mesa e variedades industriais. As industriais foram as seguintes: IAC – 12, IAC – 13, IAC – 14, IAC – 15, IAC – Caapora, IAC – 90, Fécula branca, Espeto, Olho Junto, Taquari e Branca de Santa Catarina, somando-se 11 variedades. As nove variedades de mesa foram as seguintes: IAC – 576-70, SRT 1333, SRT 1221, Ouro do Vale, IAC – Clone 06/01, IAC – 14-18, IAC – Jaçanã, Três Meses e IAC – Mantiqueira (Tabela 3).

Tabela 3 - Lista das 20 variedades comerciais de mandioca (*Manihot esculenta*) analisadas

Sigla	Nome	Uso	Origem
IAC12	IAC – 12	Industriais	IAC
IAC13	IAC – 13	Industriais	IAC
IAC14	IAC – 14	Industriais	IAC
IAC15	IAC – 15	Industriais	IAC
CAAP	IAC Caapora	Industriais	IAC
IAC90	IAC – 90	Industriais	IAC
FECBR	Fécula Branca	Industriais	Paraná
ESP	Espeto	Industriais	Paraná
OLHO	Olho Junto	Industriais	Paraná
TAQ	Taquari	Industriais	Taquari – RS
BSC	Branca de Santa Catarina	Industriais	Santa Catarina
576-70	IAC – 576-70	Mesa	IAC
SRT1333	SRT – 1333	Mesa	Coxim – MS
SRT1221	SRT – 1221	Mesa	São Pedro do Turvo-SP
OURO	Ouro do Vale	Mesa	Pindamonhangaba-SP
CLONE06/01	Clone 06/01	Mesa	IAC
1418	IAC – 14-18	Mesa	IAC
JAC	IAC – Jaçanã	Mesa	IAC
TRES	Três Meses	Mesa	Paraná
MANT	IAC 24-2 – Mantiqueira	Mesa	IAC

3.2 Análise de microssatélites

3.2.1 Extração do DNA

Para a fase de extração de DNA foi seguida a metodologia desenvolvida por Elias et al. (2004) com algumas modificações. Foram coletadas folhas jovens recém expandidas, as quais foram desidratadas em estufa a 60°C por um período de três dias, e depois maceradas em almofariz de porcelana (Figura 5A).

O extrato vegetal obtido foi armazenado em microtubos de 1,5 ml de polipropileno. Desta amostra foi retirada uma alíquota de 50 mg que foi transferida para um tubo contendo 0,8 ml de tampão de extração CTAB 3% (brometo de cetiltrimetilamônio), contendo: TRIS [tris-(hidroximetil)-aminometano]-HCl 1,0 M pH 8,0; NaCl 1,4 M; CTAB 3%; EDTA [ácido etileno diamino tetracético] 0,5 M pH 8,0; Mercaptoetanol 1%. O CTAB tem como função solubilizar as membranas e auxiliar o processo de remoção de contaminantes como polissacarídeos. Na presença do NaCl, o CTAB precipita o DNA seletivamente. Os tubos foram encubados por 1 hora em banho-maria à 65°C, sendo invertidos lentamente a cada 15 minutos para que houvesse uma homogeneização. Em seguida, foi adicionado 0,5 ml de uma mistura que consiste em 24 partes de clorofórmio em 1 parte de álcool isopropílico (24:1), misturando-se por agitação manual por 1 minuto. Esta solução tem a função de precipitar o DNA e RNA, e alguns polissacarídeos. O material foi centrifugado a 12 260 g por 10 minutos, retirando-se logo após 0,5 ml da fase líquida, transferindo-a para um novo tubo. Foi adicionado novamente 0,5 ml da solução 24:1 (clorofórmio: álcool isopropílico), agitando-se levemente o tubo, posteriormente centrifugado a 12 260 g durante 10 minutos. Foram transferidos 0,4 ml do sobrenadante para novo tubo, adicionando-se 0,35 ml de isopropanol pré-esfriado à -20°C. O material foi mantido por 1 hora à temperatura de 5°C (Figura 5B).

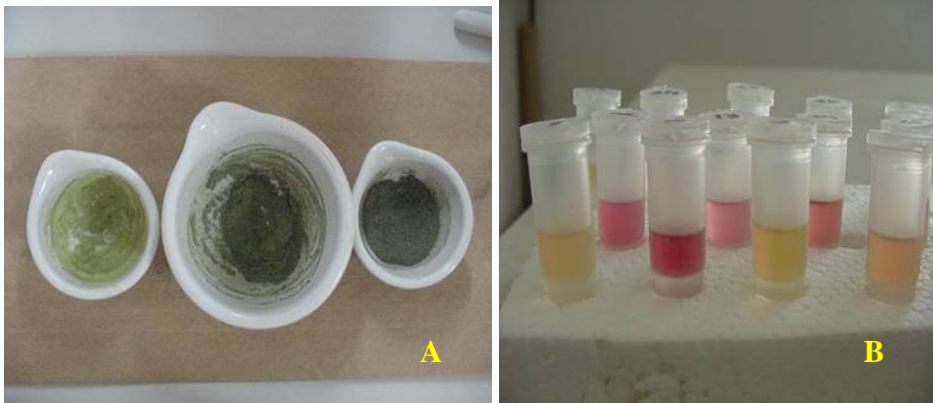


Figura 5 - Folhas de mandioca (*Manihot esculenta*) maceradas em almofariz de porcelana (A) e amostras com o tampão de extração CTAB 3% (B)

Após este período o material foi centrifugado a 12 260 g por 10 minutos, obtendo um sedimentado no fundo do tubo. O sobrenadante foi retirado e o pellet ficou a secar por aproximadamente 12 horas em temperatura ambiente. O pellet foi ressuspense em solução tampão TE (Tris-EDTA), sendo adicionado 0,2 ml de TE mais 0,008 ml de RNase em cada tubo. Os tubos foram colocados em banho-maria por 30 minutos à 38-36°C, para posteriormente serem armazenados no freezer.

3.2.2 Quantificação do DNA

Foi estimada a concentração de DNA da solução armazenada de cada indivíduo através da corrida das amostras em gel de poliacrilamida a 4%. Juntou-se 3 µl de solução armazenada mais 5 µl de solução de azul de bromofenol, depositando-se os 8 ml da solução formada nos poços do gel preparado. A solução de azul de bromofenol (tampão da amostra) foi preparada juntando-se 30 mg de azul de bromofenol mais 3,12 g de ficol em 30 ml de água MilliQ. Foram utilizadas as soluções padrões de 5, 10, 20, 30, 40 e 60 ng de DNA, para comparação. A corrida eletroforética foi realizada em cuba contendo tampão de corrida (10% TBE 10X e 90% água destilada) a uma voltagem de 60 Volts por 30 min, e de 120 Volts durante o período de 3 horas.

Após a corrida do gel, este foi corado com nitrato de prata (BASSAM et al., 1991), colocando-se o gel numa bandeja onde as bandas foram fixadas com 125 ml de solução fixadora (etano absoluto [100 ml], ácido acético [5 ml] e água destilada [895 ml]), adicionando-se previamente a esta 0,25 g de nitrato de prata por 3 minutos. Em seguida drenou-se a solução da

bandeja e lavou-se o gel duas vezes com 150 ml de água destilada (uma por 1 minuto e outra rapidamente), retirando-se o excesso de prata na drenagem de cada lavagem. Para visualização do DNA extraído usou-se uma solução básica (hidróxido de sódio [30 g], água destilada [1000 ml] e formaldeído [0,4 ml]).

3.2.3 Amplificação do DNA

Esta etapa se baseia na mistura da solução de trabalho contendo o DNA da amostra com uma mistura de soluções, que fornece os reagentes necessários para a reação (Mix). A quantidade de elementos do Mix para cada tubo de reação foi: 0,2 µl de TAQ-Polimerase (50U/µl); 1,0 µl de Tampão (10X); 1,0 µl MgCl₂ (50 mM); 0,5 µl de *Primer F* (5pmoles/µl); 0,5 µl de *Primer R* (5pmoles/µl); 1,0 µl de DNAtp's (2,5 mM de cada); 3 µl de H₂O Milli-Q e 3 µl de DNA em cada tubo. Estas quantidades foram multiplicadas pelo número de indivíduos utilizados para as reações.

O último componente acrescentado foi a TAQ polimerase. A enzima DNA Taq polimerase tem a função de realizar a extensão da fita de DNA, a partir de cada terminal 3' dos *primers*, à 72°C. Os dNTP's (dCTP, dGTP, dATP, dTTP) são utilizados como molde à seqüência alvo e têm a função de promover a extensão da fita de DNA. O magnésio (MgCl₂) é essencial para a reação, pois a enzima Taq polimerase para atuar depende de magnésio (Co-fator). Para o preparo dos dNTP's, acrescentou-se 20 µl de cada base (A,G,T,C) em 920 µl de Água Milli-Q.

Para proceder a reação de amplificação foi utilizado o termociclador modelo MyCycler Thermal Cycler da BioRad. As reações de PCR seguiram a seguinte seqüência: 4 min a 95°C, 29 ciclos de 1 min a 95°C, 2 min na temperatura de anelamento definida para cada *primer*, 2 min a 72°C, e uma fase final de extensão de 1 min a 72°C. Nove *primers* pré-estabelecidos por Chavarriaga-Aguirre et al. (1998) e já utilizados em trabalhos anteriores foram escolhidos para a realização da amplificação (Tabela 4).

Tabela 4 - Seqüência dos *primers* (*forward/reverse*) utilizados para os microssatélites de mandioca (*Manihot esculenta*) e seus respectivos tamanhos (pb) e temperatura de anelamento (°C) (Chavarriga-Aguirre et al., 1998)

Nome do Microssatélite	Seqüência 5' à 3' do primer	Amplitude do tamanho (pb)	Temperatura de anelamento (°C)
GA-5	TAATGTCATCGTCGGCTTCG	109 - 127	60
	GCTGATAGCACAGAACACAG		
GA-12	GATTCCTCTAGCAGTTAAGC	131 - 157	57
	CGATGATGCTCTTCGGAGGG		
GA-21	GGCTTCATCATGGAAAAACC	104 - 126	62
	CAATGCTTTACGGAAGAGCC		
GA-126	AGTGGAAATAAGCCATGTGATG	178 - 220	57
	CCCATAATTGATGCCAGGTT		
GA-127	CTCTAGCTATGGATTAGATCT	203 - 239	59
	GTAGCTTCGAGTCGTGGGAGA		
GA-131	TTCCAGAAAGACTTCCGTTCA	75 - 119	54
	CTCAACTACTGCACTGCACTC		
GA-134	ACAATGTCCCAATTGGAGGA	308 - 338	52
	ACCATGGATAGAGCTCACCG		
GA-136	CGTTGATAAAGTGGAAAGAGCA	145 - 161	64
	ACTCCACTCCCGATGCTCGC		
GA-140	TTCAAGGAAGCCTTCAGCTC	154 - 164	62
	GAGCCACATCTACTCGACACC		

3.2.4 Separação dos produtos de amplificação e avaliação

O material amplificado foi separado em gel de poliacrilamida a 6% (Tabela 5) a uma voltagem inicial (30 minutos) de 60 V e final (3 horas e 30 minutos em média) de 120 V em tampão 10% TBE (Tris 0,09 M, ácido bórico 0,09 M, EDTA 2 mM) 10X. Foram utilizados como

padrões os *ladders* de 10 pb e 100 pb, preparados da seguinte maneira: 5 μ l de *ladder*, acrescido de 25 μ l de tampão da amostra, mais 95 μ l de água Milli-Q, totalizando 125 μ l (40ng/ μ l). Os géis foram corados com nitrato de prata, conforme descrito no item 3.2.2. Os géis analisados foram seguidamente fotografados para posteriores avaliações (Figura 6).

Tabela 5 - Ingredientes para preparo de gel de poliacrilamida a 6%

PRODUTOS	QUANTIDADE
TBE (5X)	25,00 ml
Tampão C	34,50 ml
TEMED	125 μ l
Persulfato de Amônio	0,21 g
Água destilada	76,5 ml
Total	136 ml

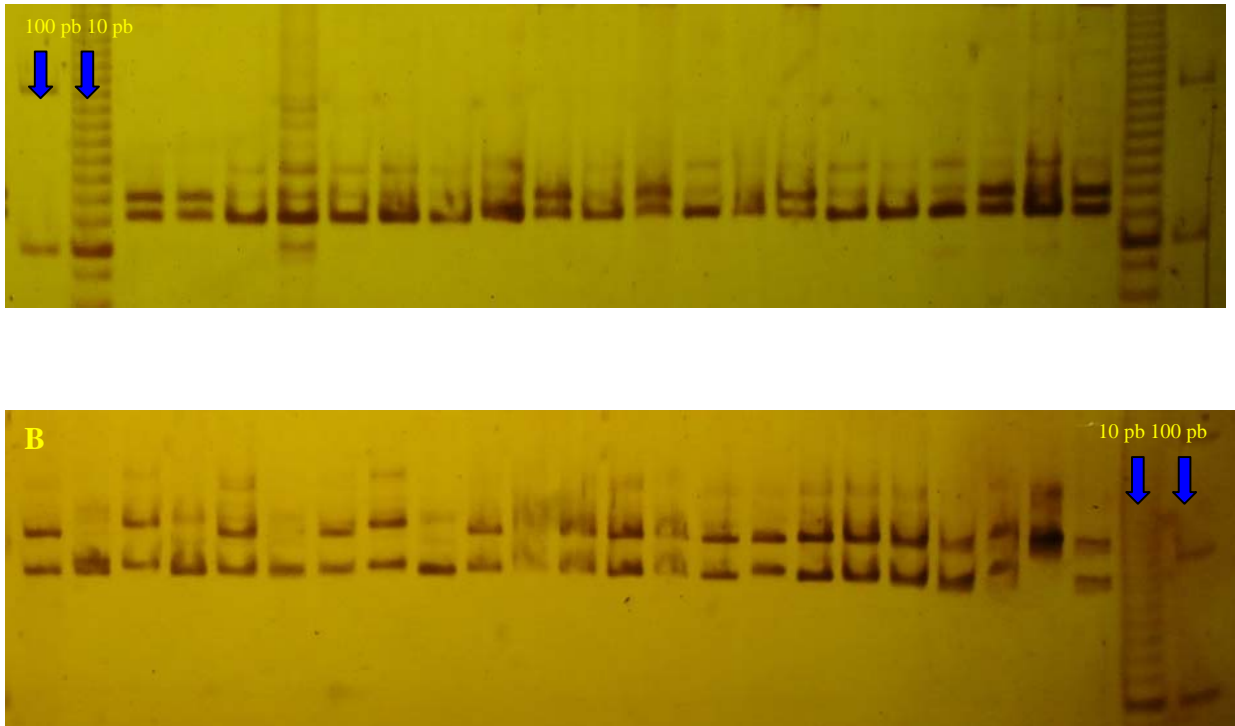


Figura 6 - Zimogramas dos microssatélites amplificados a partir dos *primers* GA-5 (A) e GA-126 (B)

3.3 Análise estatística

3.3.1 Análise estatística das etnovariiedades de Mato Grosso do Sul

Na análise estatística estimaram-se as frequências alélicas e os índices de diversidade genética, como porcentagem de locos polimórficos, número de alelos por loco (\bar{A}), heteroziguidade média observada (\bar{H}_o) e esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) através do programa GDA (Genetic Data Analysis) (LEWIS e ZAYKIN, 2001). Os índices de diversidade genética de Nei (1973) [diversidade total (H_T), proporção da diversidade entre roças (G_{ST}) e diversidade dentro de roças (H_S)] foram gerados pelo programa FSTAT (GOUDET, 1995).

Foi realizada uma análise de agrupamento para as 83 etnovariiedades com dados de presença/ausência (1/0) de bandas de SSR por meio do índice de similaridade de Jaccard e método UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) utilizando o *software* NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) (ROHLF, 1992). Além disso, realizou-se uma análise de componentes principais (SAS, 1999) com os dados de presença/ausência de bandas SSR, e a partir dos dois primeiros componentes construiu-se um gráfico de dispersão para as etnovariiedades, pelo *software* BioStat 4.0 (AYRES et al., 2005).

Realizou-se também uma análise de agrupamento para roças, a partir das frequências alélicas obtidas para roças, por meio da distância genética de Nei (1972) e método UPGMA, utilizando o *software* NTSYS-pc (ROHLF, 1992).

A variação espacial foi realizada usando o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre a matriz de distância genética de Nei (NEI, 1972) e a matriz das distâncias geográficas entre os municípios usando o programa NTSYS-pc (ROHLF, 1992). Para testar a significância destas correlações, usou-se o teste estatístico de Mantel (MANTEL, 1967).

3.3.2 Análise estatística das variedades comerciais

Para a análise dos dados das variedades comerciais, foram estimados os parâmetros número médio de alelos por loco polimórfico, percentagem de locos polimórficos, e índices de diversidade [heterozigosidade média observada (H_o) e heterozigosidade média esperada (H_e) ou diversidade gênica, considerando-se dois grupos (variedades de mesa e variedades industriais)]. Os dados foram processados no software GDA (Genetic Data Analysis) (Lewis e Zaykin, 2001). O índice de similaridade de Jaccard entre os pares de variedades, que gerou uma matriz de similaridade, foi obtido pelo software NTSYSpc (Rohlf, 1992). Foi também realizada uma análise de agrupamento com dados de presença/ausência de bandas de SSR, por meio do índice de similaridade de Jaccard e método UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) utilizando o *software* NTSYSpc (Rohlf, 1992). Além disso, realizou-se uma análise de componentes principais (SAS, 1999) com os dados de presença/ausência de bandas SSR, e a partir dos dois primeiros componentes, responsáveis pelo maior grau de variação na amostra, construiu-se um gráfico de dispersão para as 20 variedades, pelo *software* BioStat 4.0 (Ayres et al., 2005).

4 RESULTADOS

4.1 Etnovariedades

4.1.1 Diversidade genética avaliada por microssatélites

Observou-se elevada variabilidade genética para as etnovariedades na região do cerrado de Mato Grosso do Sul. Pela avaliação dos nove locos de microssatélites das 83 etnovariedades, a

porcentagem de polimorfismo foi de 100% para todos os locos utilizados (Tabela 6). Em relação ao número médio de alelos por loco, o loco GA-126 obteve o maior valor (12,00), e o loco GA-21 o menor valor (4,00). A média para este índice foi de 7,33.

Tabela 6 - Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) para etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta*) analisadas por loco

<i>Locos</i>	N	\bar{A}	P (%)	\bar{H}_o	\bar{H}_e
GA-5	83,00	5,00	100	0,35	0,71
GA-12	83,00	5,00	100	0,40	0,63
GA-21	83,00	4,00	100	0,00	0,58
GA-126	83,00	12,00	100	0,77	0,85
GA-127	83,00	8,00	100	0,08	0,74
GA-131	83,00	7,00	100	0,04	0,75
GA-134	83,00	7,00	100	0,24	0,63
GA-136	83,00	7,00	100	0,25	0,68
GA-140	83,00	11,00	100	0,53	0,77
Média	83,00	7,33	100	0,30	0,71

A heterozigosidade pode ser considerada uma medida de variabilidade genética. Esta medida se refere a quanto dessa variação existe na população e como essa variação é distribuída através dos alelos em um loco que é analisado. Baixa heterozigosidade significa pouca variabilidade genética. Considera-se um loco polimórfico quando o alelo mais comum tem frequência inferior a 0,95 (MENEZES et al., 2006). A heterozigosidade de um marcador é a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto no loco marcador e depende do número de alelos e de sua frequência na população. A heterozigosidade observada (\bar{H}_o) é a proporção de indivíduos heterozigotos nas amostras da população. A heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) é a probabilidade (esperada) de um indivíduo ser heterozigoto num loco

qualquer. Neste estudo, os maiores valores de heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e esperada (\bar{H}_e) para a avaliação por locos foram atingidos em GA-126 ($\bar{H}_o = 0,77$ e $\bar{H}_e = 0,85$). Estes índices tiveram uma média de $\bar{H}_o = 0,30$ e $\bar{H}_e = 0,71$.

Para as 21 roças, divididas pelos sete municípios de Mato Grosso do Sul, a média do número de indivíduos analisados (N) foi de 3,95. Algumas roças apresentaram a análise de apenas um indivíduo, como no caso da roça 18 (em Paranaíba) e da roça 21 (em Inocência). A roça 15 no município de Cassilândia concentrou o maior número de indivíduos analisados (10). O número médio de alelos por loco (\bar{A}) foi de 2,55, variando de 1,33 (roça 18, município de Paranaíba, e roça 21, no município de Inocência) a 4,89 (roça 15, município de Cassilândia). A porcentagem de locos polimórficos (P) variou de 33% a 100%, sendo que o valor de 100% de polimorfismo foi obtido para 10 roças entre as 21 roças analisadas, representando um percentual relativamente elevado. Para a heterozigosidade observada (\bar{H}_o), o valor mais baixo registrou-se na roça 13 (0,19), município de Costa Rica, e o valor mais alto foi apresentado pela roça 5 (0,55), no município de Pedro Gomes. A média para este parâmetro foi de 0,31. A heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) atingiu a média de 0,51, registrando-se o valor mais baixo para a roça 20 no município de Inocência (0,30), e o mais alto para a roça 15 (0,70), município de Cassilândia.

Tabela 7 - Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) para etnovarietades de mandioca analisadas por roça

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

4.1.2 Estrutura genética

A variabilidade genética total (H_T), pelo índice de Nei (1973), atingiu uma média de 0,669 (66,9%), mostrando a alta diversidade genética no material avaliado nesta região de cerrado do Mato Grosso do Sul. A maior parte desta diversidade genética, no entanto, está concentrada dentro de roças ($H_S = 0,551$) considerando os nove locos avaliados (Tabela 8). Os valores de diversidade dentro de roças (H_S) variaram de 0,365 (36,5%) a 0,743 (74,3%), com o loco GA-126 apresentando o maior valor, e o loco GA-21 o menor. A diversidade genética entre roças (D_{ST}) registrou um valor mínimo de 0,043 (4,3%) para o loco GA-136 e máximo de 0,215 (21,5%) para o loco GA-21. A média deste índice foi de 0,123 (12,3%). Já os valores da proporção da variação entre roças (G_{ST}) variaram de 0,066 (6,6%) para o loco GA-136 a 0,370 (37%) para o loco GA-121, apresentando este índice uma média de 0,183 (18,3%).

Tabela 8 - Diversidade dentro de roças (H_S), diversidade genética total (H_T), diversidade entre roças (D_{ST}') e proporção da diversidade genética entre roças (G_{ST}), em nove locos de etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta*)

<i>Locos</i>	H_S^1	H_T	D_{ST}'	G_{ST}'
GA-5	0,499	0,689	0,199	0,286
GA-12	0,462	0,567	0,110	0,193
GA-21	0,365	0,570	0,215	0,370
GA-126	0,743	0,859	0,122	0,141
GA-127	0,544	0,690	0,154	0,221
GA-131	0,595	0,704	0,114	0,161
GA-134	0,489	0,563	0,078	0,138
GA-136	0,615	0,656	0,043	0,066
GA-140	0,651	0,721	0,074	0,102
Total	0,551	0,669	0,123	0,183

¹ H_S - componente da diversidade dentro de roças; H_T - diversidade genética total da espécie; D_{ST}' - diversidade genética entre roças; G_{ST}' - proporção da diversidade genética entre roças (D_{ST}'/H_T)

O dendrograma obtido na análise de agrupamento para as 83 etnovariedades (Figura 7) indica grande variabilidade genética entre as etnovariedades analisadas, tendo-se observado grande amplitude para o coeficiente de similaridade de Jaccard, variando de 0,16 a 1,00. Apenas uma duplicata (Pedro Gomes – nº 13, conhecida popularmente como Menina 2, e Rio Verde de Mato Grosso – nº 17, denominada como Amarela legítima) foi observada entre as 83 etnovariedades avaliadas. No dendrograma pode-se observar ainda a formação de dois grupos com pouco mais de 16% de similaridade (coeficiente de Jaccard ~ 0,20). No grupo I houve um agrupamento entre as etnovariedades dos municípios de Cassilândia e Costa Rica. No grupo II observaram-se algumas variedades desses municípios, mas não de forma expressiva. Neste grupo maior (grupo II), detectaram-se pequenos agrupamentos bem definidos como Paranaíba, Rio Verde de Mato Grosso e Sonora.

Já na análise de agrupamento obtida através das frequências alélicas dos dados de cada roça (Figura 8), pode-se observar agrupamentos bem definidos dos municípios amostrados. Observou-se a formação de três grandes grupos. No primeiro, observou-se a formação de três grupos: I (roças 1 a 8), dos municípios de Sonora, Pedro Gomes e Rio Verde de Mato Grosso; II (roça 9) de Costa Rica; e III (roças 17 a 20), dos municípios de Paranaíba e Inocência. O segundo grande grupo encontra-se subdividido em dois grupos: IV (roças 10, 11, 13, 14, 15 e 16), dos municípios de Costa Rica e Cassilândia e V (roça 12), de Costa Rica. E, finalmente, o terceiro grande grupo, englobou apenas uma roça (21) (grupo VI), do município de Inocência. Este grupo VI ficou isolado com apenas uma roça (Roça 21) talvez devido ao limitado número de amostras analisadas (perda de material no campo), ou realmente pela dissimilaridade de material nessas áreas de cultivo. Possivelmente com um aumento de indivíduos analisados e locos revelados, a Roça 21 poderia estar próxima a Roça 20, visto que ambas pertencem ao município de Inocência (Figura 8).

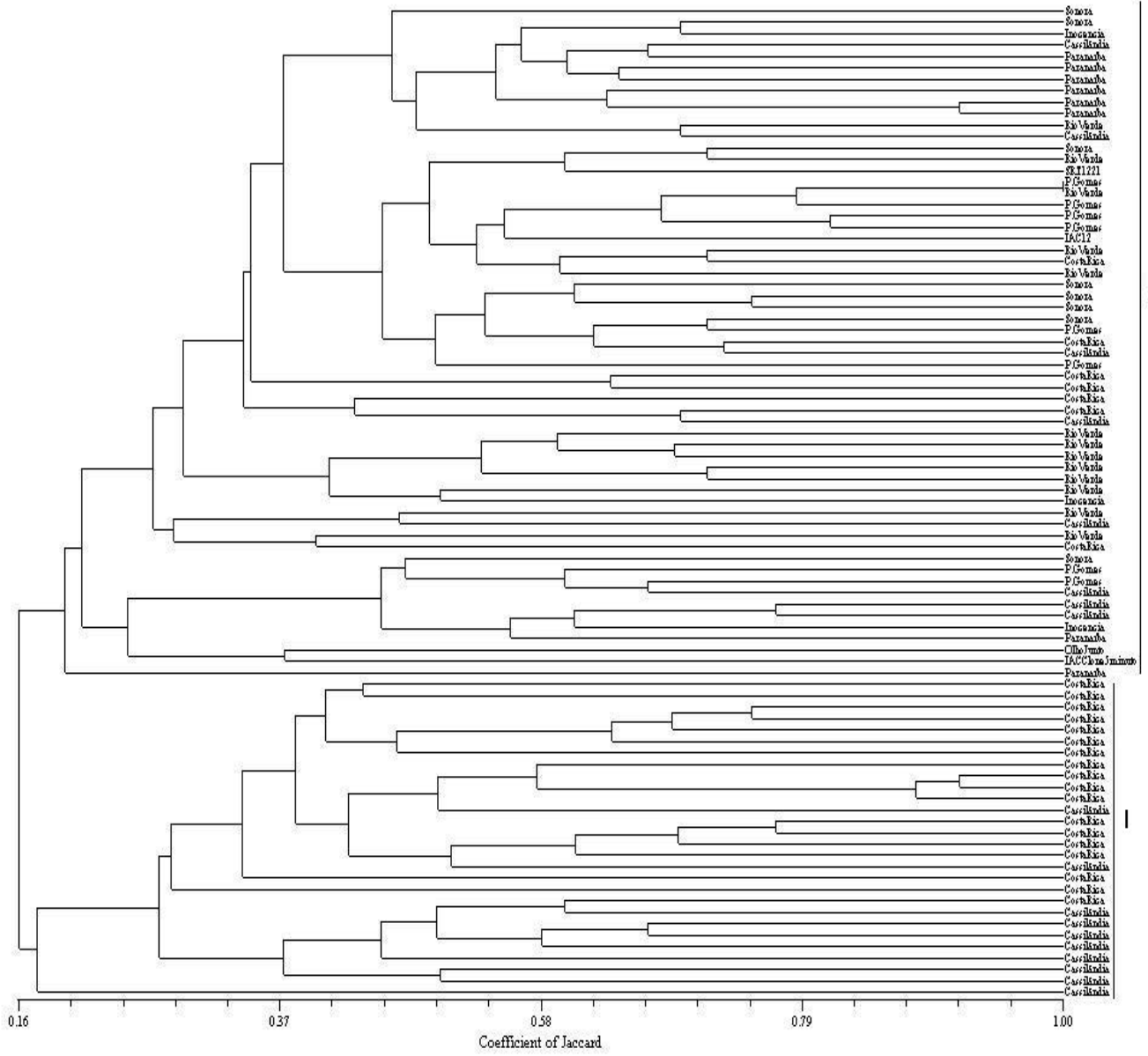


Figura 7 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA e coeficiente de similaridade de Jaccard para 83 etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta*) distribuídas entre sete municípios de MS

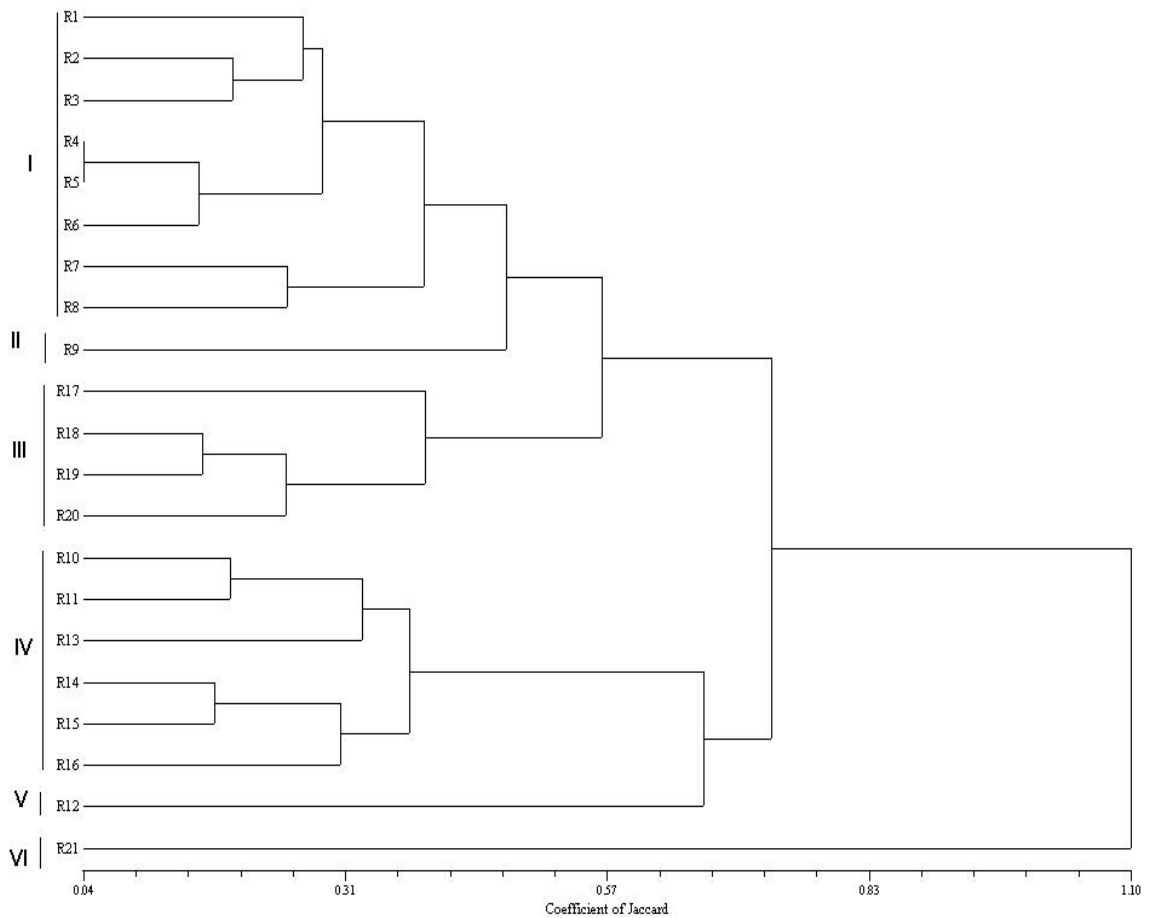


Figura 8 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA e distância de Nei (1972) para 21 roças de mandioca (*Manihot esculenta*). Os algarismos romanos referem-se aos grupos I (roças de Sonora, Pedro Gomes e Rio Verde de Mato Grosso); II (Costa Rica); III (Paranaíba e Inocência); IV (Costa Rica e Cassilândia); V (Costa Rica); e VI (Inocência)

Os resultados gerados pela análise dos componentes principais (PCA) mostraram, mais uma vez, a grande variabilidade genética do material avaliado, com etnovariedades distribuídas em todos os quatro quadrantes do gráfico de dispersão (Figura 9). Observa-se uma tendência para as etnovariedades da Costa Rica e Cassilândia, classificadas principalmente no grupo I do dendrograma de etnovariedades (Figura 7) e no segundo grande grupo do dendrograma por roças (Figura 8), estarem distribuídas, em sua maioria, nos quadrantes superiores, com exceção da roça 9 (classificada no primeiro grupo no dendrograma) situada nos quadrantes inferiores. Observa-se, portanto, em todas as Figuras 7, 8 e 9, uma separação nítida dos municípios de Costa Rica e

Cassilândia dos demais municípios, os quais encontram-se distribuídos em sua maioria, nos quadrantes inferiores do segundo componente principal.

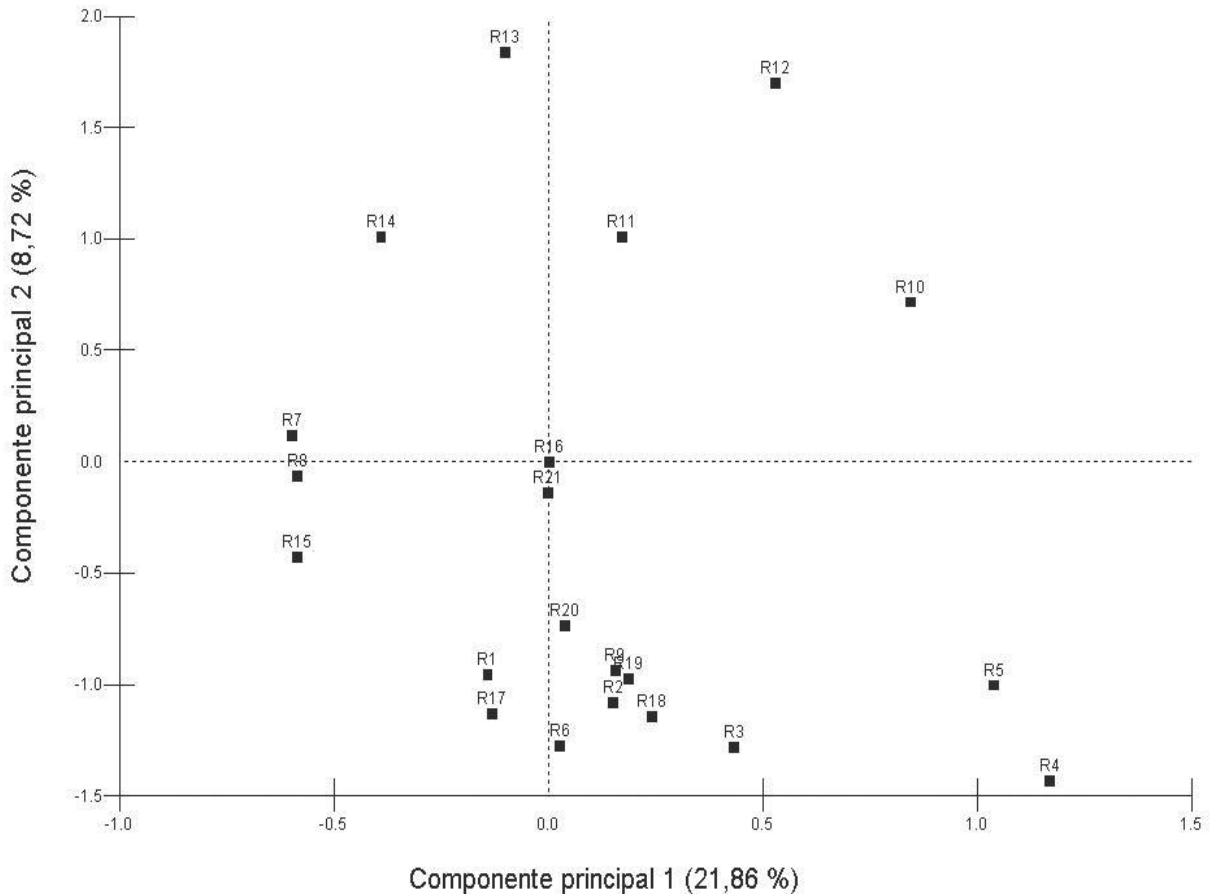


Figura 9 - Gráfico de dispersão baseado na análise das componentes principais de 21 roças com 83 etnovariiedades de mandioca (*Manihot esculenta*) cultivada no Mato Grosso do Sul, Brasil

As distâncias genéticas de Nei (NEI, 1972) calculadas entre os municípios variaram de 0,108 a 0,625. Estes valores foram comparados com as distâncias geográficas entre estes municípios. A correlação entre as distâncias genéticas de Nei e as distâncias geográficas entre os municípios avaliados foi relativamente alta ($r = 0,4567$) e significativa ($p < 0,0355$), como pode-se observar na Figura 10. Este resultado sugere um padrão espacial da variabilidade genética entre as roças nos sete municípios, estando elas estruturadas no espaço.

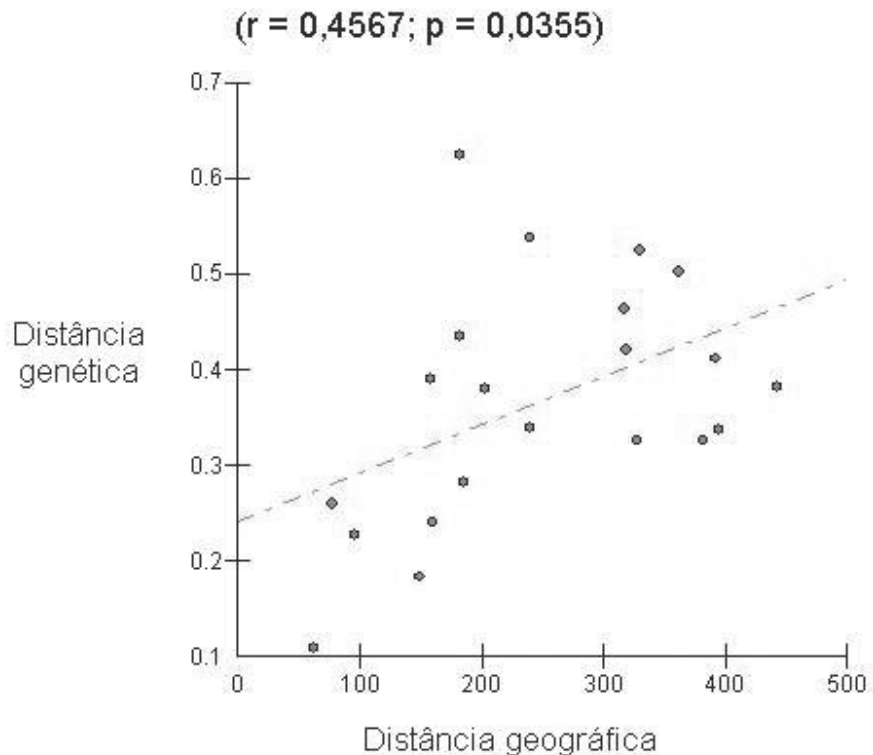


Figura 10 - Representação da correlação (r) entre a matriz de distâncias geográficas e matriz de distâncias genéticas de Nei (1972), obtida por marcadores microssatélites com dados de 21 roças. Probabilidade (p) associada à significância de r .

4.2 Variedades Comerciais

4.2.1 Níveis de polimorfismo pelos marcadores SSR

Os resultados obtidos revelaram que existe grande polimorfismo para todos os locos analisados atingindo valores de 100%, tanto para as variedades de mesa como para as variedades industriais. Em relação ao número médio de alelos por loco polimórfico, as variedades de mesa apresentaram valor maior (4,00) do que as variedades industriais (2,80), sendo que a média para este índice foi de 3,40 (Tabela 9).

A heterozigosidade observada é um índice de diversidade genética muito influenciado pelo sistema reprodutivo da espécie. Uma população natural de espécie alógama apresenta maior heterozigosidade do que uma população de espécie autógama. A heterozigosidade esperada ou

diversidade gênica é um índice de diversidade que não sofre influência do sistema reprodutivo e pode ser utilizado para comparação da diversidade genética entre espécies de diferentes formas de reprodução (FARALDO et al., 2002). Os valores de heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e esperada (\bar{H}_e) foram: $\bar{H}_o = 0,309$ e $\bar{H}_e = 0,467$ para as variedades industriais, e $\bar{H}_o = 0,433$ e $\bar{H}_e = 0,642$ para as variedades de mesa, sendo que a média, entre elas, foi $\bar{H}_o = 0,371$ e $\bar{H}_e = 0,555$, respectivamente (Tabela 9). Observa-se, portanto, maiores índices de heterozigosidade para as variedades de mesa.

Tabela 9 - Número médio de indivíduos analisados (N), número médio de alelos por loco (\bar{A}), percentagem de locos polimórficos (P), heterozigosidade média observada (\bar{H}_o) e heterozigosidade média esperada ou diversidade gênica (\bar{H}_e) para variedades comerciais de mandioca (*Manihot esculenta*) industriais e de mesa

<i>Variedades</i>	N	\bar{A}	P (%)	\bar{H}_o	\bar{H}_e
Industriais	8,20	2,80	100	0,309	0,467
Mesa	8,20	4,00	100	0,433	0,642
Média	8,30	3,40	100	0,371	0,555

4.2.2 Similaridade genética entre os genótipos

O dendrograma da análise de agrupamento indica grande variabilidade genética entre as variedades avaliadas. O coeficiente de similaridade de Jaccard foi amplo, variando de 0,29 a 0,82 no dendrograma (Figura 11). Entre os 20 genótipos avaliados, duas variedades observadas (SRT1333 e SRT1221) apresentaram um elevado índice de similaridade de 0,82.

A Tabela 10 mostra maior amplitude para este índice de similaridade, variando de 0,095 (IAC 12, IAC 90) e (IAC 15, 1418), as mais divergentes entre si, à 0,818 (SRT 1333, OURO), e (SRT 1333, CLONE 06/01), as mais similares entre si.

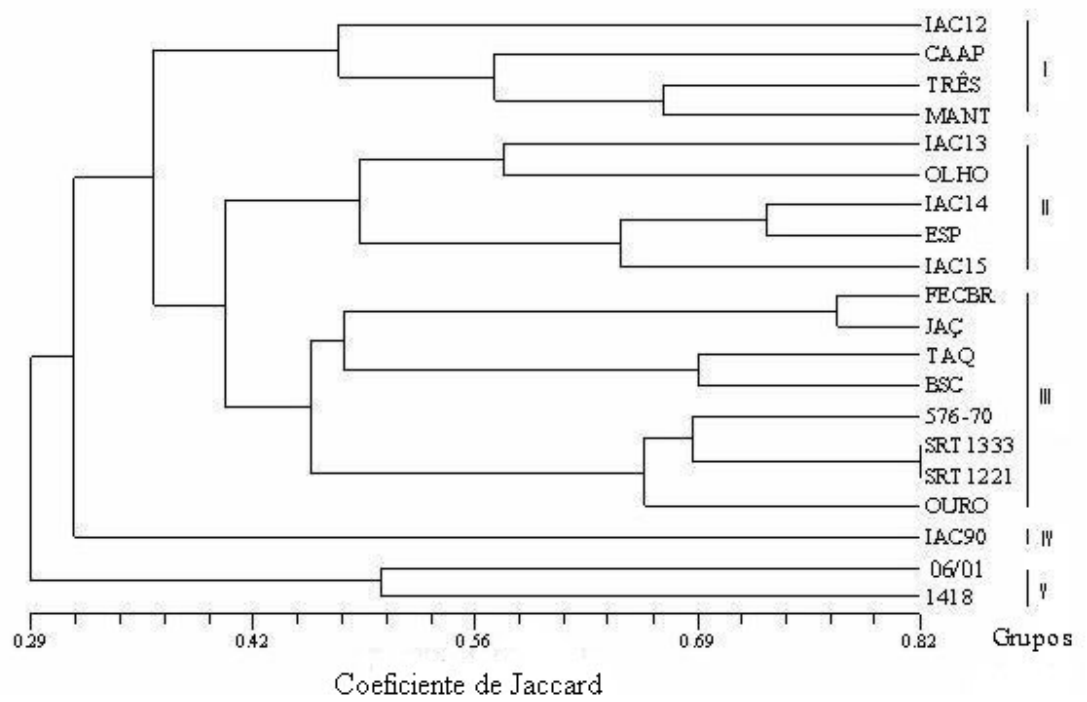


Figura 11 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA e coeficiente de similaridade de Jaccard para nove locos de microssatélites e 20 variedades comerciais de mandioca (*Manihot esculenta*)

Tabela 10 - Índices de similaridade de Jaccard para os 20 genótipos avaliados de mandioca (*Manihot esculenta*)

	IAC12	IAC13	IAC14	IAC15	CAAP	IAC90	FECBR	ESP	OLHO	TAQ	BSC	576-70	SRT1333	SRT1221	OURO	CLONE 06/01	1418	JAÇ	TRÊS	MANT
IAC12	1,000																			
IAC13	0,471	1,000																		
IAC14	0,533	0,571	1,000																	
IAC15	0,412	0,438	0,615	1,000																
CAAP	0,500	0,353	0,615	0,467	1,000															
IAC90	0,095	0,294	0,250	0,313	0,235	1,000														
FECBR	0,333	0,533	0,500	0,467	0,467	0,400	1,000													
ESP	0,375	0,500	0,727	0,667	0,538	0,357	0,667	1,000												
OLHO	0,278	0,571	0,429	0,400	0,313	0,333	0,500	0,583	1,000											
TAQ	0,300	0,389	0,533	0,500	0,500	0,533	0,600	0,571	0,438	1,000										
BSC	0,227	0,238	0,412	0,389	0,389	0,412	0,471	0,438	0,333	0,688	1,000									
SRT1333	0,294	0,313	0,357	0,250	0,400	0,357	0,333	0,357	0,333	0,467	0,533	1,000								
SRT1221	0,400	0,429	0,385	0,267	0,429	0,385	0,462	0,385	0,357	0,500	0,467	0,750	1,000							
OURO	0,389	0,500	0,467	0,353	0,533	0,467	0,643	0,500	0,467	0,667	0,444	0,615	0,818	1,000						
CLONE 06/01	0,263	0,353	0,235	0,222	0,294	0,313	0,375	0,333	0,400	0,333	0,389	0,615	0,818	0,533	1,000					
1418	0,190	0,263	0,158	0,095	0,278	0,222	0,353	0,167	0,375	0,316	0,368	0,315	0,500	0,412	0,438	1,000				
1418	0,250	0,200	0,222	0,211	0,278	0,158	0,353	0,313	0,294	0,250	0,368	0,235	0,333	0,263	0,438	0,500	1,000			
JAÇ	0,389	0,412	0,375	0,353	0,438	0,294	0,769	0,500	0,467	0,471	0,368	0,315	0,429	0,600	0,353	0,333	0,333	1,000		
TRÊS	0,500	0,278	0,400	0,294	0,571	0,167	0,375	0,333	0,235	0,333	0,250	0,250	0,357	0,438	0,294	0,211	0,353	0,533	1,000	
MANT	0,421	0,300	0,333	0,316	0,563	0,200	0,389	0,353	0,263	0,286	0,217	0,211	0,294	0,368	0,316	0,238	0,368	0,529	0,667	1,000

No dendrograma pode-se observar ainda a formação de cinco grupos com 42% de similaridade (coeficiente de Jaccard = 0,42): I) IAC12, CAAP, TRÊS e MANT (as duas primeiras sendo variedades industriais e as duas últimas de mesa); II) IAC13, OLHO, IAC14, ESP e IAC15 (todas variedades industriais); III) FECBR, JAÇ, TAQ, BSC, 576-70, SRT1333, SRT1221, OURO (contendo tanto variedades de mesa como industriais); IV) IAC 90 (variedade industrial); e V) CLONE 06/01 e IAC 14-18 (ambas variedades de mesa). Não houve uma separação nítida entre variedades de mesa e industriais, embora os grupos II e IV estejam representados unicamente por variedades industriais.

Com relação ao gráfico de dispersão das 20 variedades comerciais, elaborado com os dois primeiros componentes principais que explicaram 38% da variação total observada, observa-se uma tendência para as variedades industriais estarem distribuídas, em sua maioria, no quadrante esquerdo do componente principal 1 (Figura 12), com algumas exceções (CAAP, IAC 12). Já o quadrante direito deste componente englobou, principalmente, as variedades de mesa (JAÇ, TRÊS, MANT, 576-70, SRT 1333, OURO, CLONE 06/01, SRT 1221 e 1418). As variedades CLONE 06/01 e 1418 são originárias de programas de melhoramento do IAC, tendo sido classificadas num grupo isolado na análise de agrupamento (Figura 11). Outra constatação é que os grupos formados no dendrograma (Figura 11) encontram-se também discriminados no gráfico de dispersão (Figura 12). Embora a separação entre eles não seja muito bem definida, pode-se verificar a separação nítida do grupo I no quadrante superior e à direita do componente principal 1, e do grupo V no quadrante inferior do componente principal 2 e à direita do componente principal 1.

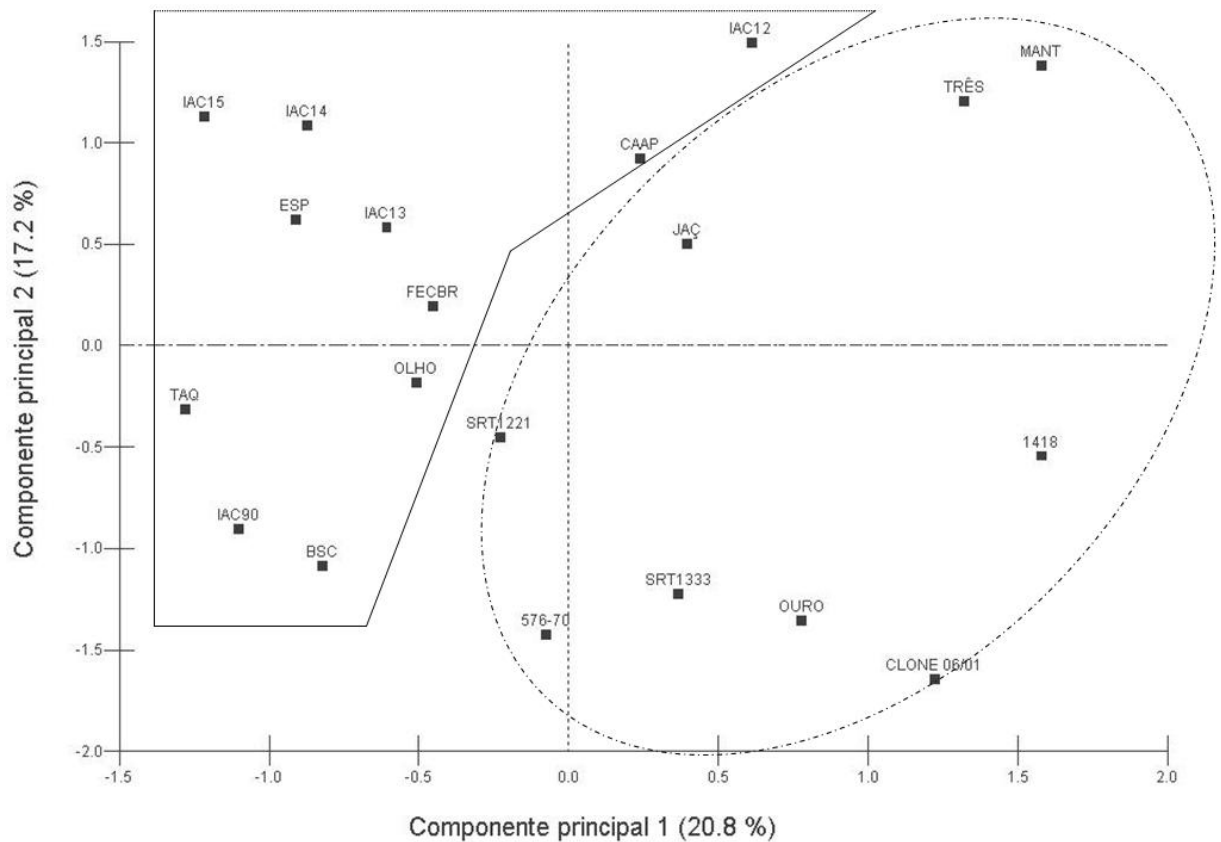


Figura 12 - Gráfico baseado nos componentes principais de 20 variedades comerciais de mandioca (*Manihot esculenta*) cultivadas na região Centro-sul do Brasil. Linha inteira – variedades industriais; linha tracejada – variedades de mesa

5 DISCUSSÃO

5.1 Etnovariedades

No presente estudo, as etnovariedades da região do cerrado do norte do Mato Grosso do Sul apresentaram elevados índices de diversidade genética, com a porcentagem de locos polimórficos atingindo valores de 100%. Esta grande diversidade pode estar relacionada ao processo de colonização da região. Pensa-se que a forte migração humana possa explicar a grande diversidade genética de mandioca nesta região Centro-Oeste do país, migração esta que começou há 10.000 através dos primeiros habitantes indígenas, ancestrais dos ameríndios contemporâneos Guaranis, Terenas, Caiouás e Caiapós. Ao longo dos anos, novos povos se estabeleceram na

região, como por exemplo, os Ofaiés. Nas primeiras décadas do século XX, com o advento da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, considerada um sinônimo de desbravamento da região oeste brasileira, foi notável o aumento da proximidade do sul matogrossense com o Estado de São Paulo (GUILLEN, 1988; GUIMARÃES, 1999). Isto leva-nos a pensar na forte permuta de material que é gerado entre o Estado de Mato Grosso do Sul, os seus quatro Estados vizinhos (Mato Grosso, Goiás, São Paulo e Paraná), assim como dois países, Paraguai e a Bolívia. Desta forma, barreiras geográficas deixaram de existir, fazendo com que a diversidade genética da cultura fosse amplificada. A maioria da literatura infere que a diversidade genética da mandioca está associada aos usos e costumes das populações locais desde a época pré-colombiana até aos dias atuais. Nos últimos anos, foram fundamentais para a formação das etnovarietades apresentadas neste trabalho, as migrações indígenas vindas através do Rio Paraguai, e as atuais migrações de brasileiros de outras regiões do País (nordestinos, gaúchos e mineiros) e paraguaios para o Estado de Mato Grosso do Sul, que trouxeram variedades de mandioca de suas terras de origem (ZATARIN; VALLE, 2001).

Sabe-se, a partir de estudos com várias culturas, que variedades tradicionais ou etnovarietades têm um alto nível de heterogeneidade genética comparado com as cultivares comerciais (DREISIGACKER et al., 2005; BRESSAN, 2005; MARTINS et al., 2006). A variabilidade genética é muito importante para a sustentabilidade dos pequenos agricultores locais, visto que é a base de sua dieta alimentar usada durante todo o ano. A partir de um baixo nível de aditivos químicos e pouca tecnologia usada, as etnovarietades conseguem apresentar alta estabilidade produtiva e uma grande adaptação ao meio em que estão inseridas. Esta constatação foi observada em estudos com arroz (OKA, 1991), inhame (CEREDA, 2001), entre outros. Isto também foi verificado a partir dos resultados obtidos neste trabalho, onde muitas roças apresentaram 100% de polimorfismo, denotando a diversidade genética da mandioca na região do cerrado do Estado do Mato Grosso do Sul.

Altos níveis de polimorfismo em estudos com marcadores isoenzimáticos e moleculares em mandioca têm sido encontrados no Brasil e em outras regiões do mundo. Faraldo et al. (2000) usaram 11 sistemas isoenzimáticos para determinar a variabilidade genética de 141 etnovarietades de mandioca do Brasil, obtendo-se 15 locos polimórficos. Cabral et al. (2002) analisaram 200 acessos de mandioca divididos em sete grupos consoantes com sua origem no Brasil. Oito sistemas isoenzimáticos permitiram determinar que a percentagem de locos

polimórficos variou de 87,5 a 100% entre os grupos, salientando que apenas o grupo do Estado da Bahia, entre os Estados avaliados, não obteve 100% de polimorfismo. Utilizando marcadores RAPD, Colombo et al. (2000) avaliaram 126 acessos de mandioca originários de diversas regiões brasileiras e alguns acessos do banco de germoplasma do CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), obtendo 85% de bandas polimórficas para os acessos do Brasil e 97% considerando todos os acessos avaliados, incluindo outros países, inclusive da África. Asante e Offei (2003) analisaram 50 acessos de mandioca da região de Ghana, África, com o auxílio de quatro *primers* RAPD. Os níveis de polimorfismo obtidos por estes autores se mantiveram entre 90% e 100% de locos polimórficos, sendo que os resultados obtidos detectaram altos níveis de fragmentos polimórficos diferenciando com precisão os genótipos cultivados na região. Um número de 54 bandas monomórficas (17,4%) e 257 polimórficas (84,6%) indicaram igualmente um alto grau de polimorfismo com o uso de marcadores RAPD na região africana de Moçambique, a partir da análise de 88 genótipos de mandioca (ZACARIAS et al., 2004). Esses resultados vêm reforçar a existência de um centro secundário de diversidade da mandioca no continente Africano.

Elias et al. (2000) encontraram 119 bandas de AFLP para analisar 31 acessos de mandioca cultivados na região de Guiana, usando como comparação 38 acessos de uma coleção *ex situ*. Dos dados obtidos, verificou-se que 94% das bandas eram polimórficas, sendo que 81% do polimorfismo deveu-se aos acessos cultivados e 92% do polimorfismo aos acessos selvagens. Mühlen et al. (2000) utilizaram três marcadores moleculares para quantificar a variabilidade genética de 54 etnovarietades de mandioca originárias do Amazonas (Rio Negro, Rio Branco e Rio Solimões) e litoral sul do Estado de São Paulo. Os marcadores que apresentaram maior polimorfismo foram os microssatélites, com 97,9% de bandas polimórficas, seguidos dos marcadores AFLP com 69,4% de bandas polimórficas e por último os marcadores RAPD, com 55,8% de bandas polimórficas. Deste trabalho, os autores puderam concluir que os três tipos de marcadores de DNA detectaram uma possível compartimentalização do germoplasma de mandioca em dois grupos: variedades bravas e variedades de mesa (aipins e macaxeiras). Fregene et al. (2003), avaliando 283 acessos de mandioca originários da África e de países Neotropicais com marcadores microssatélites, observaram que o maior número de locos polimórficos foi encontrado para os acessos do Brasil (100%) e da Colômbia (98,5%).

No presente estudo, avaliando cada roça como se fosse uma população, pôde-se observar uma heterozigiosidade relativamente alta, onde a média da heterozigiosidade observada foi de 0,31 e a esperada de 0,51 para o total de 21 roças avaliadas de sete municípios. Cabral et al. (2002), a partir de sistemas isoenzimáticos, obtiveram valores de heterozigiosidade observada que variaram de 0,381 (Região de Rondônia) a 0,615 (Região da Bahia), com uma média de 0,43. Fregene et al. (2003) e Elias et al. (2004), utilizando marcadores microssatélites, também constataram altos valores de heterozigiosidade observada, indo de encontro ao modo de reprodução da mandioca que é a reprodução vegetativa, porém, mantendo o sistema de reprodução por alogamia.

Para a heterozigiosidade esperada ou diversidade gênica, o valor médio obtido no presente estudo foi de $\bar{H}_e = 0,51$. De modo geral, a heterozigiosidade observada foi menor que a esperada, de acordo com as proporções genotípicas observadas. Este era um resultado esperado, uma vez que as etnovariedades dentro de cada roça estão sujeitas à ação de vários fatores evolutivos, como seleção, tanto natural como artificial, ou seja, aquela feita pelos agricultores, bem como deriva genética ou erosão genética. Estas constatações surgem em função da amostragem de variedades dentro de cada roça e da flutuação ao acaso do número de etnovariedades em cada roça. Outros fatores evolutivos também estariam atuando, como a migração, conforme verificado em vários estudos a partir da troca de manivas de etnovariedades de mandioca entre roças, muito comum neste sistema de agricultura tradicional (BELLON, 1991, 1996; BRUSH, 2000, 2007; ZALDIVAR et al., 2004). Considerando-se que são plantas alógamas e que esta cultura é, sobretudo, propagada vegetativamente pelo homem, os cruzamentos ao acaso entre os clones das diferentes variedades dentro de uma roça, e entre a espécie cultivada e as espécies selvagens do gênero *Manihot* ainda tem um papel preponderante na amplificação da diversidade (SILVA et al., 2002). Todos esses fatores evolutivos dentro das roças, consideradas como unidades básicas evolutivas e até mesmo como populações (PERONI, 2007), podem interferir nas proporções de Hardy-Weinberg. Não se pode considerar uma roça de mandioca como estando em equilíbrio de Hardy-Weinberg, principalmente em função do sistema de reprodução por propagação vegetativa. No entanto, toma-se este equilíbrio apenas como referencial visto que, segundo Faraldo et al. (2000), sendo a mandioca um material de propagação vegetativa, sua estrutura observada dificilmente poderá ser repetida, ou seja, não é possível esperar encontrar essas proporções em gerações futuras.

Com relação à estrutura genética, os resultados apontam que a maior parte da diferenciação gerou-se dentro de roças para as etnovariedades coletadas nos municípios de Mato Grosso do Sul, cujo resultado pode ser explicado pelo modelo de dinâmica evolutiva da mandioca proposto por Cury (1993) e Martins (1994), e em função do sistema reprodutivo por endogamia. Outros estudos também obtiveram maior diferenciação dentro de roças ou regiões geográficas do que entre roças ou regiões para mandioca (BOSTER, 1985; SAMBATTI et al., 2000; FARALDO et al., 2000; MÜHLEN et al., 2000; CABRAL et al., 2002), ou mesmo para batata-doce (*Ipomoea batatas*), que também é uma cultura alógama e de propagação vegetativa (VEASEY et al., 2007). Vários autores, entre eles Cury (1993), Martins (1994), Peroni (1998) e Elias et al. (2001), reforçam a idéia de que a história vital da espécie deve ser compreendida através do modelo de dinâmica evolutiva para a mandioca, que realça o papel de interação das atividades e ações humanas na amplificação da diversidade da espécie. Faraldo et al. (2000) mostraram que a estrutura genética da mandioca apresentava relativa divergência genética entre as regiões amostradas, relacionada possivelmente com o manejo das roças, migração de material genético e introdução de cultivares realizada pelo homem (troca de etnovariedades). Neste trabalho, é ilustrada uma tendência de que as etnovariedades da Região Amazônica apresentem maior variabilidade genética que as roças originadas da Região do Parque Indígena do Xingu, e que a maior parte da variabilidade genética das etnovariedades de mandioca está concentrada dentro das regiões geográficas. A hipótese, portanto, de grande diversidade genética dentro das regiões geográficas foi mais uma vez confirmada.

A correlação entre as distâncias genéticas de Nei e as distâncias geográficas entre todos os municípios avaliados foi relativamente alta ($r = 0,4567$) e significativa ($p < 0,0355$). Peroni (2004) obteve uma fraca, mas significativa, correlação positiva entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas ($r = 0,157$, $P = 0,032$) em seu estudo com etnovariedades de mandioca da região do Vale do Ribeira (região litorânea de São Paulo na qual se preservam populações caiçaras) e Rio Negro, pertencente ao Estado do Amazonas (região onde predominam os habitantes nativos, caboclos e ribeirinhos amazônicos). Contudo a falta de correlação entre a distância genética e a distribuição geográfica é possível de ser observada em outros trabalhos para mandioca (ZACARIAS et al., 2004), espécies de *Dioscorea* (BRESSAN, 2005), e batata-doce (VEASEY et al., 2007). Entre vários acessos em Moçambique, essa falta de correlação também foi observada e explicada por várias hipóteses, sendo que a principal aponta para a

circulação de materiais através dos agricultores, sobretudo os que têm elos de amizade e que poderiam ter facilitado a distribuição de variedades pelo território Moçambicano (ZACARIAS et al., 2004). Estes resultados, em conjunto com os resultados gerados por estudos etnobotânicos, mostram que o fluxo de etnovariedades entre agricultores é intenso e perdas locais são compensadas por reposições de variedades existentes nas proximidades de cada agricultor (PERONI, 2007).

No presente estudo, algumas relações de similaridade entre roças distantes, observadas na Figura 9, podem ser justificadas pelo fluxo gênico indireto, também observado por Sambatti et al. (2000). Isto é, sabe-se que existe fluxo gênico entre agricultores que se conhecem, mas não estão estabelecidos proximamente, o que indica que as trocas de manivas sejam realizadas de forma indireta. No entanto, foi visível a separação das etnovariedades dos municípios de Costa Rica e Cassilândia das etnovariedades dos demais municípios. Segundo Zatarin e Valle (2001), é entre as variedades regionais que as influências étnicas são mais visíveis. A formação de um agrupamento que reúne a maioria das roças dos municípios de Costa Rica e Cassilândia pode dever-se à concentração de agricultores que destinam suas mandiocas à fabricação de pão de queijo e outros produtos derivados de amido nas pequenas fecculárias da região. Observa-se nessa região influência de tradições mineiras, origem remota dessas populações (VALLE¹, informação verbal). Pela proximidade destes dois municípios, leva-nos a acreditar que existe entre estas localidades um fluxo maior de variedades, e deste modo, uma similaridade genética superior entre Costa Rica e Cassilândia em relação aos demais municípios. Já os municípios do nordeste do Estado de Mato Grosso do Sul, como Sonora, Pedro Gomes e Rio Verde de MS, sofrem grande influência de variedades paulistas e merece destaque a variedade “Vassourinha Paulista” de grande aceitação. Próximo a Goiás e Mato Grosso centrado no município de Pedro Gomes, observou-se também a predominância da variedade “Macaxeira” trazida para a região por migrantes nordestinos, na década de 70, apreciada por ter um longo período de cozimento (ZATARIN; VALLE, 2001).

Como já referido, uma das principais razões que Valle² (informação verbal) destaca para essa importante e rica diversidade observada, foram as diferentes rotas migratórias geradas na

¹ VALLE, T.L. Instituto Agronômico de Campinas

² VALLE, T.L. Instituto Agronômico de Campinas

região. Os municípios avaliados fizeram parte de importantes circuitos migratórios, nos quais agricultores vindos de São Paulo passando por Campo Grande estabeleceram suas roças em alguns municípios como Rio Verde de Mato Grosso, Sonora e Pedro Gomes. A rota pelo Rio Paranaíba foi também usada por mineiros previamente estabelecidos em Goiás. Além disso, a influência nordestina e gaúcha também teve seu peso na região agregando maior heterogeneidade de material proveniente de suas origens. Para Ladeira (1992, 2001), além dos movimentos migratórios, a ocupação (não contígua), o uso e a manutenção do espaço pelos índios Guarani Mbyá nesta faixa geográfica, que compreende algumas regiões do Paraguai, Argentina, Uruguai e regiões Sul e Sudeste do Brasil, se realizam em função do “movimento humano” que, por sua vez, propiciou a contínua interação das relações socioculturais do grupo como um todo. Schmitz e Gazzaneo (1991) sublinham o importante papel da mandioca para esta população indígena no seu modo de vida, e Noelli (1994, 2000), baseado em documentos históricos, cita que os Guarani são detentores de uma alta gama de variedades de mandioca.

5.2 Variedades Comerciais

Observou-se grande polimorfismo (100%) para todos os locos analisados nas variedades comerciais, tanto de mesa como industriais. Os resultados indicam, além disso, grande variabilidade genética entre os 20 genótipos analisados, bem como dentro dos dois grupos (variedades industriais e variedades de mesa), indicando baixa vulnerabilidade genética do material sob cultivo de mandioca na região Centro Sul do Brasil. Altos níveis de polimorfismo (97,5%) foram obtidos por Asante e Offei (2003) com marcadores RAPD utilizando quatro *primers* em 50 acessos de mandioca, e por Cabral et al. (2002) com marcadores isoenzimáticos (100%), avaliando 200 acessos oriundos de diversas regiões do Brasil. As variedades de mesa no presente estudo mostraram um índice bastante elevado (4,0) de alelos por loco. Fregene et al. (2003) analisando 283 acessos de mandioca de vários países com 67 locos de microssatélites, encontraram valores semelhantes, com uma média de 4,03 alelos por locos. Altos níveis de polimorfismo também foram atingidos por Mkumbira et al. (2003) usando sete locos de microssatélites para avaliar 277 genótipos cultivados por agricultores da região de Malawi, África. Observa-se que os dados de literatura referem-se a conjuntos de genótipos de coleções regionais e até mundiais, sendo que os obtidos no presente estudo quantificam genótipos

produzidos por um programa de melhoramento, alguns deles aparentados, submetidos a forte pressão de seleção. Assim, a seleção preservou a forte diversidade existente nos locos polimórficos. Comparando-se quatro grupos (genótipos de quatro distritos) de variedades tradicionais e um grupo com quatro variedades comerciais, provenientes de programas de melhoramento em Ghana, na África, Asante e Offei (2003), utilizando quatro *primers* RAPD, detectaram diversidade genética similar, com leve redução na média final para as variedades comerciais, quando comparadas às variedades tradicionais, fato curioso quando se considera que, em geral, variedades melhoradas apresentam forte redução em sua variabilidade genética. Em feijão, espécie autógama, Martinez-Castillo et al. (2006) observaram que a diversidade genética das variedades comerciais de cultivo local foi duas a quatro vezes menor que as variedades tradicionais cultivadas por agricultores locais no México.

Comparando-se os dois grupos de variedades, as variedades de mesa mostraram-se mais divergentes entre si, apresentando além do maior número de alelos por loco (4,0 alelos, contrastando com 2,8 das variedades industriais), também valores mais elevados de heterozigiosidade média observada (0,433) e diversidade gênica (0,642). As variedades de mesa possivelmente têm maior diversidade genética porque são submetidas a pressões de seleção muito mais amplas e subjetivas do que as industriais. O importante em variedades industriais é a produtividade, resistência à bacteriose, matéria seca e facilidade de mecanização, sendo que as demais características têm importância secundária. Em variedades de mesa há um número de características de importância similar: produtividade, resistência à bacteriose e um grupo imenso de características sensoriais (cor, sabor, cozimento, tipo de massa cozida, textura) que formam as singularidades típicas de mandioca. Portanto, as variedades de mesa comportam uma maior diversidade genética para atender a grande amplitude sensorial exigida pelos consumidores.

Pela análise de agrupamento, foi detectada a ocorrência de uma duplicata (SRT 1333/SRT 1221) com similaridade de 82%, inferindo que as variações genéticas existentes não foram suficientes para separar as amostras como duas variedades distintas. A duplicata refere-se a dois acessos com origem distinta (SRT1221 é de São Paulo e, SRT1331 do Mato Grosso do Sul). Como são também visualmente muito semelhantes, pressupõem-se que se trata da mesma variedade coletada em locais distintos, uma vez que essa variedade é amplamente distribuída nos Estados de Santa Catarina, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Paraná.

De modo geral, não se observou, na análise de agrupamento, a separação das variedades industriais das de mesa, exceto a formação de dois sub-grupos somente de variedades industriais. O gráfico de dispersão (Figura 12), obtido através da análise de componentes principais, no entanto, permitiu verificar uma certa compartimentação entre variedades de mesa e industriais, com as variedades industriais situando-se, em sua maioria, no quadrante esquerdo do primeiro componente principal e as de mesa principalmente no quadrante à direita do primeiro componente. Embora essas variedades não mostrem diferenças quanto ao seu teor cianogênico, as variedades com alto teor cianogênico (BSC, OLHO e CAAP) estão em posição intermediária entre os dois grupos. Diferentemente de outros autores, Mühlen et al. (2000), a partir de 49 bandas de microssatélites verificaram, apesar de alguma dispersão, uma separação de etnovariedades de mandioca bravas e mansas. Elias et al. (2004) verificaram que houve uma pequena estruturação genética entre etnovariedades mansas e bravas, encontrando agrupamentos entre bravas e mansas. O agrupamento entre variedades industriais e de mesa detectados neste trabalho pode ser consequência das variedades de indústria serem originadas do programa de melhoramento do IAC submetidas a pressões de seleção específicas, enquanto que nos outros trabalhos citados, que trabalharam exclusivamente com etnovariedades, não houve essa separação porque os agricultores tradicionais utilizam-se também de variedades de mesa para fazer farinha de mandioca. Em algumas regiões separam-se apenas variedades bravas e mansas.

Para a seleção de parentais visando a realização de cruzamentos, alguns parâmetros são importantes, entre eles a divergência genética dos genótipos dois a dois, como observado na Tabela 10. Se considerarmos a variedade CLONE 06/01, ela apresenta índices de similaridade abaixo de 20% com as variedades IAC15 (9,5 %), IAC14 (15,8 %), ESP (16,7 %) e IAC12 (19,0 %). Este resultado vai de encontro ao dendrograma, onde se observa que a variedade CLONE 06/01 pertencente ao grupo V está distante dos grupos I e II. Observa-se que a variedade CLONE 06/01 é uma variedade de mesa, enquanto que as quatro variedades são industriais. A variedade industrial IAC 90 (grupo IV), também apresentou menos de 20% de similaridade com a variedade industrial IAC 12 (9,5 %) e as de mesa 1418 (15,8 %) e TRÊS (16,7 %), grupos I e V no dendrograma. A variedade de mesa 1418 (grupo V) apresentou também 20% apenas de similaridade com a variedade industrial IAC 13 (grupo II). O gráfico de componentes principais também reforça essas constatações. Assim, observa-se a tendência geral de variedades de mesa serem mais dissimilares que as variedades industriais, refletindo os processos de melhoramento

que as consideram como grupos diferentes. Normalmente, não são feitos cruzamentos entre os dois grupos pelo receio de introdução de genes indesejáveis do grupo estranho, portanto conduzindo à separação entre os grupos. Esse receio é mais marcante quando envolve o cruzamento que introduzam genes de mandiocas industriais em mandiocas mansas porque podem ser introduzidos genes de difícil eliminação, ou seja, ligados a características de avaliação subjetiva como as qualidades sensoriais. A situação não é recíproca, isto é, quando se pretende utilizar variedades de mesa como parentais em programas de melhoramento de variedades industriais, pois nestas as qualidades sensoriais não são importantes. Portanto, pode ser promissora a utilização da variedade de mesa IAC 14-18 como parental na obtenção de variedades industriais, pois ela tem várias características interessantes para indústria (raízes brancas, alto teor de matéria seca, resistência a bacteriose, etc.) e tem alta divergência genética o que é um pressuposto para heterose.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir das hipóteses levantadas e dos objetivos deste trabalho geraram as seguintes conclusões:

Existe grande diversidade genética entre as etnovariedades de mandioca na região de cerrado do Estado de Mato Grosso do Sul.

A maior parte da diversidade genética observada encontra-se dentro de roças e municípios do que entre roças e municípios.

As etnovariedades de regiões próximas e limítrofes comportam um patrimônio genético semelhante. Em contrapartida, verificou-se maior divergência entre as variedades de municípios mais distantes, o que pode ser explicado em função de diferentes rotas migratórias a que esses municípios foram submetidos, o que teria levado a um isolamento tanto geográfico como cultural.

A variabilidade genética de variedades de mandioca para mesa e industriais cultivadas em grande escala na região centro-sul do Brasil, quantificada por marcadores microsatélites, é bastante ampla, permitindo a escolha de genótipos parentais contrastantes para a realização de cruzamentos visando a obtenção de novos genótipos recombinantes.

A ampla variabilidade observada no material comercial avaliado sugere, também, que haja pouca vulnerabilidade genética no cultivo de mandioca nesta região.

Comparando-se os dois grupos, as variedades de mesa são mais divergentes entre si do que as variedades industriais, o que pode ser explicado pelas diferentes pressões de seleção a que foram submetidas durante o seu processo de melhoramento.

A tendência à formação de dois agrupamentos, variedades de mesa e de indústria, com alto grau de dissimilaridade entre vários genótipos, indica que cruzamentos entre os dois grupos são promissores, pois podem apresentar algum grau de heterose.

REFERÊNCIAS

ALBERT, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. **Molecular biology of the cell**. New York: Garland Publishing , 1994. 1408p.

ALLEN, A. C. *Manihot esculenta* as a native of the neotropics. **Plant Genetic Resources Newsletter**, FAO/IBPGR, Roma, v. 71, p. 22-24, 1987.

ALLEN, A. C. The origins of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.41, n.3, p. 133-150, Jan., 1994.

ALLEN, A.C. A reappraisal on the geographical origin of cassava (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae). In: VERIGA, R.F. DE A.; BOVI, M.L.A.; BETTI, J.A. ; VOLTAN, R.B.Q. (Ed.). **SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1.** Campinas: 1997. **Anais...** Campinas: IAC/EMBRAPA-CENARGEN, 1997. p. 86-87.

ALLEN, A. C. The closest wild relatives of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Euphytica**, Wageningen, v.107, p.123-133, Jun., 1999.

ALLEN, A. C. Cassava: biology, production and utilization. In: HILLOCKS, R.J.; THRESH, J.M.; BELLOTII, A.C. (Ed.). **The origins and taxonomy of cassava**. University of Greenwich, UK: Natural Resources Institute, 2002. p.1-16.

ALTIERI, M.A.; MERRICK, L.C. In situ conservation of crop genetic resources through maintenance of traditional farming systems. **Economic Botany**, New York, v. 4, n. 1, p. 86-96, 1987.

ALVES, R.F. **Caracterização genética de populações de cupuaçuero *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex. Spreng.) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. 2002. 146p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

AMOROZO, M.C.M. **Um sistema de agricultura camponesa em Santo Antonio do Leverger, Mato Grosso, Brasil**. 1996. 269p. Tese (Doutoramento 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. germplasm by traditional farmers in Santo Antonio do Leverger, Mato Grosso State, Brazil. **Etnoecologica**, México, v. 4, n.6, p. 69-83, Jul. 2000.

ANDERSON, J.V., DELSENY, M., FREGENE, M.A., JORGE, V., MBA, C., LOPEZ, C., RESTREPO, S., SOTO, M., PIEGU, B., VERDIER, V., COOKE, R., TOHME J., HORVATH, D. An EST resource for cassava and other species of Euphorbiaceae. **Plant Molecular Biology**, Holanda, v.56, p. 527–539, Nov. 2004.

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, Fev. 2003.

AYRES, M.; AYRES J.R.; AYRES, M.; D.L., SANTOS, A.S. **BioEstat 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. 4. ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Imprensa Oficial do Estado do Pará; Brasília: CT Brasil, 2005.

BANCO DO NORDESTE DO BRASIL. **Aspectos da cultura e da indústria da mandioca**. Fortaleza, Ceará: BNB, 1967. 288p.

BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLES, G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, Holanda, v. 196, n.1, p. 80-83, Out. 1991.

BEECHING, J.R., MARMEY, P., GAVALDA, M.C., NOIROT, M., HAYSON, 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**, Oxford, v. 72, n. 6, p. 515-520, Mai. 1993.

BEGOSSI, A.; HANAZAKI, N.; TAMASHIRO, J.Y. Medicinal plants in the Atlantic Forest (Brazil): knowledge, use, and conservation. **Human Ecology**, Holanda, v.30, n. 3, p.281–299, Set. 2002.

BELLON, M.R. The ethnoecology of maize variety management: A case study from Mexico. **Human Ecology**, Holanda, v.19, n. 3, p. 389-418, Set. 1991.

BELLON, M.R. The dynamics of crop infraspecific diversity: a conceptual framework at the farmer level. **Economic Botany**, New York, v.50, n.1, p.26-39, 1996.

BERTRAM, R.B.; SCHAAL, B.A. Phylogeny of *Manihot* and evolution of cassava. **Cassava Biotechnology Network Newsletter**, Colombia, v. 1, p. 4-6, 1993.

BEZERRA, V.S. Coleta, caracterização botânica e avaliação agronômica de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) obtido em área indígena de Oiapoque no Estado do Amapá. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v.16, n. 2, p.125-132, Dez. 1997.

BONIERBALE, M.W., MAYA, M.M., CLAROS, J.L.; IGLESIAS, C. Application of molecular markers to describing the genetic structure of cassava gene pools. In: The Cassava Biotechnology Network: **Proceedings... INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING**. Bogor, 2., Indonesia, 22-26 August 1994. Cali: Centro International de Agricultura Tropical, 1995. v.2.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 1999. 817p.

BOSTER, J.S. Selection for perceptual distinctiveness: evidence from Aguaruna cultivars of *Manihot esculenta*. **Economic Botany**, New York, v.39, n.3, p.310-325, 1985.

- BRESSAN, E.A. **Diversidade isoenzimática e morfológica de inhame (*Dioscorea spp.*) coletados em roças de agricultura tradicional do Vale do Ribeira – SP.** 2005. 172p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2005.
- BRESSAN, E.A.; STRAUSS, F.; VEASEY, E.A.; SILVA, R.M.; FARALDO, M.I.F. Breeding system of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) ethnovarieties from different regions of Brazil. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING OF THE CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 2004, 6., Cali. **Proceedings..** Cali.. 2004. p. 25.
- BRESSAN, E.A.; VEASEY, E.A.; PERONI, N.; FELIPIM, A.P.; SANTOS, M.P. Collecting yam (*Dioscorea spp.*) and sweet potato (*Ipomoea batatas*) germplasm in traditional agriculture small-holdings in the Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Rome, v.144, p.8-13, 2005.
- BROWN, A.H.D. Isozyme, plant population genetic structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.52, p.145-157, Jul. 1978.
- BRUSH, S.B. “In situ” conservation of landraces in centers of crop diversity. **Crop Science**, Madison, v.35, n.2, p. 346-354, 1995.
- BRUSH, S.B. The issues of in situ conservation of crop genetic resources. In: BRUSH, S.B. (Ed.) **Genes in the field: on-farm conservation of crop diversity.** Ottawa: Lewis Publishers, Boca Raton/International Development Research Center / Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2000. p. 3–26.
- BRUSH, S.B. Farmers’ Rights and Protection of Traditional Agricultural Knowledge. **World Development**, Quebec, v.35, p.1499-1514, Sep. 2005.
- BRUSH, S.B.; CARNEY, H.J.; HUÁMAN, Z. Dynamics of Andean potato agriculture. **Economic Botany**, New York, v.35, p.70-88, 1981.
- 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, n.30, p.46-50, Jan. Jun. 2003.
- CABRAL, B. L. R.; SOUZA, J. A.; ANDO, A.; VEASEY, E.A.; CARDOSO, E.M.R. Isoenzymatic variability of cassava accessions from different regions in Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.3, p.521-527, Jul. Set. 2002.
- CACH, N.T.; LENIS, J.I.; PEREZ, J.C.; MORANTE, N.; CALLE, F.; CEBALLOS, H. Inheritance of useful traits in cassava grown in subhumid conditions. **Plant Breeding**, Berlin, v.125, n.2, p.177-182, Abr. 2006.
- CÂMARA, G.M.S.; GODOY, O.P. Influência do diâmetro da maniva e da sua posição na planta sobre o desempenho de três cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v.9, n.1/2, p.21-28, 1990.

CÂMARA, G.M.S.; GODOY, O.P.; FILHO, J.M.; LIMA, U.A. **Mandioca – produção, pré-processamento e transformação agroindustrial.** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luíz de Queiroz, 1985. 192p. (Série Extensão AgroIndustrial 4)

CAMARGO, C.E.D. **Mandioca – “o pão caboclo”: de alimento a combustível.** São Paulo: Editora Icone, 1985. 64p.

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, n. 1, p. 133-142, Jun. 2001.

CATTAN-TOUPANCE, L.; MICHALAKIS, Y.; NEEMA, C. Genetic structure of wild bean populations in their South-Andean center of origin. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.96, p.844-851, Mai. 1998.

CBDC. A study on the plant genetic resources diversity and seed supply system of Bohol Island, Philippines. In: Community Biodiversity Development and Conservation Programme - Bohol Project, Quezon City, Philippines: Southeast Asia Regional Institute for Community Education, 2001. 26p.

CEREDA, M. P. Importância, modo de consumo e perspectivas para raízes e tubérculos de hortícolas no Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO CARÁ, 1., 2001. Venda Nova do Imigrante, ES: INCAPER, 2001. 5 p.

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

CEBALLOS, H.; CRUZ, G.A. Taxonomia y morfología de la yuca. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. **La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización.** Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2002. p.16-32,

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, Ago. 1998.

CLEVELAND, D.A.; SOLERI, D.; SMITH, S.E. Do folk crop varieties have a role in sustainable agriculture? **BioScience**, Washington, v. 44, n. 11, p.740-751, Dez. 1994.

COLOMBO C; SECOND G; ANDRÉ C. Diversity within American cassava germplasm based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 1, p. 189-199, 2000.

CONCEIÇÃO, A.J. **A Mandioca.** 3. ed., São Paulo: Livraria Nobel, 1987. 382p.

CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* MART. Submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microsátélites.** 2004. 124p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

COSTA, I.R.S.; MORALES, E.A.V. Cassava genetic resources in South America. In: CIAT, IITA, IBPRG. International network for cassava genetic resources: report of the first meeting held at CIAT, Cali, Colombia, 18-23, August, 1992. Rome, Italy: IPRGRI, 1994. (International Crop Network Series ,10).

COSTA, M.R., CARDOSO, E.R., OHAZE M.M.M. Similaridade genética de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta*) por meio de marcadores RAPD. **Ciência agrotecnica**, Lavras, v. 27, p. 158-164, Jan. Fev. 2003.

CURY, R.. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone.** 1993. 103p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

CURY, R.. **Distribuição da diversidade genética e correlações de caracteres em etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) provenientes da agricultura tradicional do Brasil.** 1998. 163 p. Tese (Doutorado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

DIEGUES, A. C. **O mito moderno da natureza intocada.** São Paulo: Hucitec, 1996. 169p.

DIEGUES, A.C.S.; ARRUDA, R.S. **Saberes tradicionais e biodiversidade no Brasil.** Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2001. 176 p.

DOMINGUÉZ, C.E. **Yuca: investigación, producción y utilización.** Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1984. 656 p.

DREISIGACKER, S.; ZHANG, P.; WARBURTON, M.L.; SKOVMAND, B.; HOISINGTON, D.; MELCHINGER, A.E. Genetic diversity among and within CIMMYT wheat landrace accessions investigated with SSRs and implications for plant genetic resources management. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 653–661, Fev. 2005.

ÉDEN, M.J. Crop diversity in tropical swiddens cultivation: comparative data from Colombia and Papua New Guinea. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.20, p.127-136, 1988.

ÉDEN, M.J. Swidden cultivation in forest and savanna in lowland southwest Papua New Guinea. **Human Ecology**, New York, v.21, n.2, p.127-136, 1993.

EITEN, G. The cerrado vegetation of Brazil. **The Botanical Review**, New York, v.38, n.2, p.201-341, 1972.

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

ELIAS, M.; MCKEY, D.; PANAUD, O.; ANSTETT, M.C.; ROBERT, T. Traditional management of cassava morphological and genetic diversity by the Makushi Amerindians (Guyana, South America): Perspectives for on-farm conservation of crop genetic resources. **Euphytica**, Wageningen, v. 120, p. 143–157, Jun. 2001.

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, Abr. 2004.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2004. Disponível em: <<http://www.cnpmf.embrapa.br/mandioca.htm>>. Acesso em: 2 Ago. 2004.

EMBRAPA. **Cultivo da Mandioca para a Região do Cerrado**. 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_cerrados/index.htm>. Acesso em: 28 Jan. 2006.

EMPERAIRE, L.; PINTON, F.; SECOND, G. Gestion dynamique de la diversité variétale du manioc en Amazonie du Nord-Ouest. **Natures Sciences Sociétés**, Paris, v.6, n.2, p.27-42, 1998.

FAO. 2007. **Food And Agriculture Organization Of The United Nations**. Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 28 Fev. 2007.

FARALDO, M. I. F. **Caracterização isoenzimática e diversidade de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculentas* Crantz)**. 1994. 91p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

FARALDO, M. I. F. **Distribuição da variabilidade genética e caracterização isoenzimática de etnovariedades em roças de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do Brasil**. 1999. 117p. Tese (Doutorado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

FARALDO, M.I.F.; SILVA, R.M.; ANDO, A.; MARTINS, P.S. Variabilidade genética de etnovariedades de mandioca em regiões geográficas do Brasil. **Scientia Agricola**, Piracicaba v.57, n.3, p. 499-505, Jul. Set. 2000.

FARALDO, M.I.F.; SILVA, R.M.; ANDO, A.; VEASEY, E.A. Marcadores moleculares em mandioca. In: CEREDA, M.P. (Coordenadora). **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v.2, 2002. p.100-117.

FERREIRA, M.E.; GATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2 Ed., Brasília: EMBRAPA/CERNAGEM, 1998. 220p.

- FIGUEIRA, A.V.O.; CASCARDO, J.C.M. Marcadores moleculares no melhoramento. In: DIAS, L.A.S. (Ed.). **Melhoramento genético do cacueiro**. Viçosa: FUNAPE, UFG, 2001. p.385-438.
- FREGENE, M.; ANGEL, F.; GOMEZ, R; RODRIGUEZ, F.; CHAVARRIAGA, P.; ROCA, W; THOME, J.; BONIERBALE, M.. A molecular genetic map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.95, n.3, p.431-441, Ago. 1997.
- FREGENE, M. A.; SUAREZ, M.; MKUMBIRA, J.; KULEMBEKA, H. NDEDYA, E.; KULAYA, A.; MITCHEL, S.; GULLBERG, U.; ROSLING, H.; A. G. O. DIXON, DEAN, R.; KRESOVICH, S. Simple sequence repeat marker diversity in cassava landraces: genetic diversity and differentiation in an asexually propagated crop. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.107, p.1083-1093, Out. 2003.
- FUKUDA, W.M.G. Melhoramento de mandioca. In: BÓREM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 409-428.
- FUKUDA, W.M.G., FIALHO, J.; CAVALCANTI, J.; CARDOSO, E.M.R.; BARRETO, J.F.; MARSHALEK, R.; COSTA, I.R.S. Germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no Brasil. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1., 18-22 de Agosto de 1997. Campinas, SP. **Resumos**. p.88
- FUKUDA W.M.V.; GUEVARA, C.L. **Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização da Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Cruz das Almas: CNPMF – EMBRAPA, 1998, 39p.
- GEIER, B. A agricultura orgânica no mundo. **Revista Agricultura Biodinâmica**, Botucatu, n. 80, p. 89, Out. 1998.
- GOUDET, J. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F statistics. 1995. Disponível em: <<http://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm>>. Acesso em: 16 Nov. 2006.
- GUILLEN, I.C.M. Ausência e produção do conhecimento: história indígena em Mato Grosso do Sul. **Fronteiras**. Campo Grande: UFMS, v. 2, n. 4, p. 103-122, jul/dez. 1998.
- GUIMARÃES, A.V. **Mato Grosso do Sul: sua evolução histórica**. Campo Grande: Editora UCBD, 1999. 283p
- HAMON, P.; TOURE, B. Characterization of traditional yam varieties belonging to the *Dioscorea cayenensis-rotundata* complex by their isozymic patterns. **Euphytica**, Wageningen, v.46, n.2, p.101-107, Mar. 1990.
- HARRIS, D.R. New light on plant domestication and the origins of agriculture: a review. **The Geographical Review**, Louisiana, v. 57, p. 90-107, 1967.

- HARROP, S.R. The role and protection of traditional practices in conservation under the Convention on Biological Diversity—an enquiry into the UK's implementation of Article 8(j) Convention on Biological Diversity. **Environmental Law and Management**, Oxon, v.16, n.5, p.244–251, 2005.
- HARROP, S.R. Traditional agricultural landscapes as protected areas in international law and policy. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.121, p.296–307, Jul. 2007.
- HERSHEY, C.H. *Manihot* genetic diversity. In: International network for cassava genetic resources. International Crop Network Series (IPGRI), Rome, v.10, p.111-134, 1994.
- HERSHEY, C. H., JENNINGS, D. L. Progress in breeding cassava for adaptation to stress. **Plant Breeding Abstracts**, Cambridge, v. 62, p. 823-831, 1992.
- HERSHEY, C. H.; AMAYA, A. Genética, citogenética, estrutura floral e técnicas de hibridação de la yuca. In. DOMINGUES, C. E. (Ed.) **Yuca: Investigación, producción y utilización**. Cali: PNUD/CIAT, 1984. p.113-126.
- HOUGHTON R.A.; LEFKOWITZ D.S.; SKOLE D.L. Changes in the landscape of Latin-America between 1850 and 1985: 1. progressive loss of forests. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.38, p.143–172, 1991.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2007 Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>>. Acesso em: 23 Jan. 2007.
- IPA. **Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária**. 2004. Disponível em: <<http://www.ipa.br>>. Acesso em: 20 Ago. 2004.
- JARVIS, D.I.; MYER, L.; KLEMICK, H.; GUARINO, L.; SMALE, M.; BROWN, A.H.D.; SADIKI, M.; STHAPIT, B.; HODGKIN, T. **A training guide for In Situ conservation on-farm**. Version 1. Rome: IPGRI. 2000.161p.
- JENNINGS, D.L. Cassava. In: SIMONDS, N.W. (Ed.) **Evolution of Crop Plants**. London: Longman, 1979. p.81-84.
- JORGE, V; FREGENE, M.; DUQUE., BONIERBALE, M.; TOHME, J.; VERDIER, V. Genetic mapping of resistance to bacterial blight disease in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 101, n.5-6, p.865-872, Out. 2000.
- KAWANO, K. Thirty Years of Cassava Breeding for Productivity — Biological and Social Factors for Success. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 1325–1335, Jul. Ago. 2003.
- KERR, W.E.; CLEMENT, C.R. Práticas agrícolas de conseqüências 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.

- KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v.1, n.1, p.147-155, Jun. 2005.
- LADEIRA, M.I. “O caminhar da luz” – o território Mbyá à beira do Oceano. 1992. 199p. Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, 1992.
- LADEIRA, M.I. **Espaço geográfico Guarani-Mbyá: significado, constituição e uso**. 2001. 236p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- LEFÉVRE, F. **Resources génétiques et amelioration du manioc, *Manihot esculenta* Crantz en Afrique**. 1989. 175 p. (Thèse d'Etat) - Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, 1989.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data (software). version 1.0 (d2). Disponível em: <http://lewis.eeb.uconn.edu> Acesso em: 2 jan. 2001.
- LITT, M.; LUTY, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by in-vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, Baltimore, v.44, n.3, p.397-401, Mar. 1989.
- LORENZI, J.O. **Mandioca**. Campinas: CATI, 2003. 116p. (Boletim técnico, 245)
- MANSHOLT, U.J. **Van Pesch Plantenteelt, beknopte handleiding tot de kennis van den Nederlandschen landbouw**. 3 Ed., pt 2. Plantenteelt: Zwolle, 1909. 228p.
- MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Chicago, v.27, p. 209-220, Feb 1967.
- MANU-ADUENING, J.A.; LAMBOL, R.I.; AMPONG-MENSAH, G.; LAMPTEY, J.N.; MOSES, E.; DANKYI, A.A.; GIBSON, R.W. Development of superior cassava cultivars in Ghana by farmers and scientists: The process adopted, outcomes and contributions and changed roles of different stakeholders. **Euphytica**, Wageningen, v. 150, p. 47-61, Mai. 2006.
- MARTINS, P.S. Biodiversity and agriculture: patterns of domestication of Brazilian native plants species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.66, suplemento 1, p.219-224, 1994.
- MARTINS, P. S. Dinâmica evolutiva em roças de caboclos amazônicos. In: VIEIRA, I.C.G.; SILVA, J.M.C.; OREN, D.C.; D'INCAO, M.A. (Ed.) **Diversidade biológica e cultural da Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2001. p.369-384.
- MARTINS, S.R.; VENCES, F.J.; SÁENZ DE MIERA, L.E.; BARROSO, M.R.; V. CARNIDE. RAPD analysis of genetic diversity among and within Portuguese landraces of common white bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.108, n.2, p.133-142, Abr 2006.

- MARTINEZ-CASTILLO, J.; ZIZUMBO-VILLARREAL, D; GEPTS, P.; DELGADO-VALERIO, P.; COLUNGA-GARCIA, P. Structure and genetic diversity of wild populations of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Yucatan Península. **Crop Science**, México, v. 46, p. 1071-1080, Mar. 2006.
- 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**, New York, v.102, n.1, p.21-31, Jan. 2001.
- MENEZES, M.P.C., MARTINEZ, A.M., RIBEIRO, M.N.; PIMENTA FILHO, E.C.; DELGADO, J.V. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1336-1341, Jul. Ago 2006.
- MEZETTE, T.F. **Seleção de clones de mandioca com alto teor de carotenoides e vitamina A**. 2007. 59p. Dissertação (Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2007.
- MILACH, S.C.K. **Marcadores de DNA em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. 141p.
- MIKLÓS, A. W. Agroecologia: base para o desenvolvimento da biotecnologia agrícola e da agricultura In: CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE AGRICULTURA BIODINÂMICA,3., 1999, São Paulo. **Anais...** Governo do Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, CETESB, Documentos Ambientais, 1998. 249p.
- 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, Jun. 2003.
- MONTALDO, H.H.; MEZA-HERRERA, C.A. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. **Journal of Biotechnology**, Holanda, v.1 n.2, p.83-84, Ago. 1998.
- MONTARROYOS, A.V.V.; LIMA, M.A.G.; SANTOS, E.O.; FRANÇA, J.G.E. Isozyme analysis of an active cassava germplasm bank collection. **Euphytica**, Wageningen, v.130, p.101–106, Mar. 2003.
- MÜHLEN, G.S. **Avaliação da diversidade genética de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com marcadores de DNA: RAPD, AFLP e Microssatélites**. 1999. 176p. Tese (Doutorado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

- MÜHLEN, G.S.; MARTINS, P.S.; ANDO, A. Variabilidade genética de etnovarietades 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., ZATARIN, M. Estruturação do 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, SP. **Anais...** São Paulo: SBG, 2005.
- NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001, cap.2, p.29-56.
- NASSAR, N.M.A. Cytogenetics and evolution of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.4, p.1003-1014, Dez. 2000.
- NASSAR, N.M.A.; COLLEVATTI, R.G. Microsatellite markers confirm high apomixis level in cassava bred clones. **Hereditas**, Lund, v.142, p.33-37, Fev. 2005.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, Chicago, v. 106, p.283-292, 1972.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973.
- NETO, C.F.; NASCIMENTO, E. M.; FIGUEIRÊDO R. M.; QUEIROZ, A. J. M. Microbiologia de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante o Armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.551-555, Mar. Abr. 2004.
- NOELLI, F.S. El Guarani agricultor. **ACCION – Revista Paraguaya de reflexi3ns y di3logo**, Asunci3n, n.4, p.40, mes 1994.
- NOELLI, F.A. Cuer Nimuendajú e Alfred Métraux: a invenç3o da busca da “terra sem mal”. **Suplemento Antropol3gico**. Asunci3n, v.34, p.123-166, 1999.
- OKA, H.I. Genetic diversity of wild and cultivated rice. In: KHUSH GS; TOENNIESSEN GH (Ed.) **Rice Biotechnology**. Los Baños: IRRI, 1991. p.55-81.
- OLSEN, K.M. SNPs, SSRs and inferences on cassava’s origin. **Plant Molecular Biology**, Holanda, v.56, n.4, p.517-526, Nov. 2004.
- OLSEN, K.M.; SCHAAL, B.A. Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. **Evolution**, Lancaster, v. 96, n. 10, p. 5586-5591, Mai. 1999.

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

OKOGBENIN, E.; FREGENE, M. Genetic analysis and QTL mapping of early bulking in an F₁ segregating population from non-inbred parents in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.106, n.1, p.58-66, Dec. 2002.

PASA, M.C.; SOARES, J.J.; NETO, G.G. Estudo etnobotânico na comunidade de Conceição-Açu (alto da bacia do rio Aricá Açu, MT, Brasil). **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v.19 n.2, p.195-207, Abr./Jun. 2005.

PECCHIONI, N.; FACCIOLI, P.; MONETTI, A.; STANCA, A.M., TERZI, V. Molecular markers for genotype identification in small grain cereals. **Journal of Genetics and Breeding**, Roma, v.50, n. 3, p.203-219, 1996.

PERONI, N. **Taxonomia folk e diversidade intraespecífica de mandioca (*Manihot esculentas* Crantz) em roças de agricultura tradicional em áreas de Mata Atlântica do Sul do Estado de São Paulo**. 1998. 196p. Tese (Mestrado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

PERONI, N. Manejo e domesticação de mandioca por caiçaras da Mata Atlântica e ribeirinhos da Amazônia. In: BOEF, W.S.; THIJSSSEN, M.H.; OGLIARI, J.B.; STHAPIT, B.R. (Ed.). **Biodiversidade e agricultores: fortalecendo o manejo comunitário**. v.1. Porto Alegre: L&PM, 2007. p.234-242.

PERONI, N.; MARTINS, P. S.; ANDO, A. Diversidade inter- e intra-específica e uso de análise multivariada para morfologia da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): um estudo de caso. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n.3, p. 587-595, Jun. 1999.

PERONI, N.; MARTINS, P.S. Influência da dinâmica agrícola itinerante na geração de diversidade de etnovarietades cultivadas vegetativamente. **Interciência**, Caracas, v.25, p.22-29, jan./fev. 2000.

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, n.2/3, p.171-183, Nov. 2002.

PINTO, L.R.; VIEIRA, M.L.C.; SOUZA, A.P.; JUNIOR, C.L.S. Isoenzimas e microssatélites em plantas. **Revista Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.20, p.16-19, Mai./Jun. 2001.

PITA, J.S., FONDONG, V.N., SANGAR E, A., KOKORA, R.N.N., FAUQUET, C.M. Genomic and biological diversity of the African cassava geminiviruses. **Euphytica**, Wageningen, v. 120, 115–125, Jun. 2001.

POHL, J.E. *Plantarum Brasiliae Icones et Descriptiones.*, v.1, Vindobonae: Viena, 1827. 136p.

PUJOL, B ; GIGOT, G ; LAURENT, G ; KLUPPEL, M.P. ; ELIAS, M. ; HOSSAERT-MCKEY, M. ; MCKEY, D. Germination ecology of cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) in traditional agroecosystems: seed and seedling biology of a vegetatively propagated domesticated plant. **Economic Botany**, New York, v.56, n.4, p.366–379, Oct. 2002.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na Agropecuária**. 3 Ed., Lavras: Editora da Universidade Federal de Lavras, 2004. 472p.

REICHEL-DOLMATOFF, G. **Colombia** (Ancient Peoples and Places. 44). London: Thames and Rudson, 1965. 231p.

RESENDE, A.G.; VIDIGAL, F.P.S.; MACHADO, M.F. Isozyme diversity in cassava cultivars (*Manihot esculenta* Crantz). **Biochemical Genetics**, New York, v.38, n.7/8, p.203-216, Ago. 2000.

ROGERS, D. J. Studies of *Manihot esculenta* Crantz and related species. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v.90, n.1, p. 43–54, mês 1963.

ROGERS, D. J. Some botanical and ethnological considerations of *Manihot esculenta*. **Economic Botany**, New York, v.19, n.4, p.369–377, 1965.

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

ROHLF, J. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system**, version 1.70 (software). New York: Stony Brook, 1992.

ROUSE, I.; CRUXENT, J. M. **Arqueología Venezolana**. New Haven, United Kingdom: Yale University Press, 1963. 212p.

SAMBATTI, J.B.M.; ANDO, A.; MARTINS, P.S. Distribuição das diversidades isoenzimática e morfológica da mandioca na agricultura autóctone de Ubatuba. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n.1, p.75-80, jan./mar. 2000.

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, n. 1, p. 93-105, Jan./Mar. 2001.

SALICK, J.; MERRICK, L.C. Use and maintenance of genetic resources: crops and their wild relatives. In: VANDERMEER, J.H.; ROSSET, P.; CARROLL, C.R. (Ed.). **Agroecology**. McGraw Hill, 1989. p.517-548.

SALICK, J; CELLINESE, N.; KNAPP, S. Indigenous diversity of cassava: generation, maintenance, use and loss among Amuesha, peruvian upper Amazon. **Economic Botany**, New York, v.51, n.1, p. 6-19, Jan./Mar. 1997.

SAS. Software: versão 8.0. Cary, NC: SAS Institute , 1999.

- SCHMITZ, P.I.; GAZZANEO, M. O que comia o Guarani pré-colonial. **Revista de Arqueologia**, São Paulo, v.6, p.89-105, 1991.
- SCOTT, K. D.; EGGLE, P.; SEATON, G.; ROSSETTO, E. M.; LEE, L. S.; HENRY, R. J. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 5, p. 723-726, Mar. 2000.
- SILVA, R.M. **Sistema reprodutivo, fluxo gênico e paternidade em roça de etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 2000. 131p. Tese (Doutorado em Genética) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
- SILVA, M.J.; ROEL, A. R.; MENEZES, G. P. **Apontamento dos cursos de cultivo da mandioca e derivados e engorda de frango caipira**. Campo Grande – MS, 2001. 100 p.
- SILVA, R.M.; FARALDO, M.I.F.; AKIHIKO, A.; VEASEY, E.A. Variabilidade genética em etnovarietades de mandioca. In: CEREDA, M.P. (Ed.) **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. p.207-241.
- SIQUEIRA, M.V.B.M.; SILVA, J. R.Q.; BRESSAN, E.A.; VEASEY, E.A. Diversidade genética de etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com marcadores microsatélites (SSR). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51., 2005. Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: SBG, 2005. p.533.
- SMITH, J.S.C.; SMITH, O.S. Fingerprinting crop varieties. **Advances in Agronomy**, New York, v.47, p.85-140, 1992.
- STRUSS, D.; PLIESKE, J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.97, p.308-315, Jul. 1998.
- VIANA, J.M.S.; CRUZ, C.D.; BARROS, E.G. **Genética**. Viçosa: Editora UFV, 2003. p.247-270. v.1 - fundamentos.
- 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, Mai. 2004.
- VALLE, T.L.; ZATARIN, M.; MUHLEN, G.S.; GALERA, J.M.S.V.; FELTRAN, J.C. Variedades e diversidade genética de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no Estado de Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 1, 2005, Mato Grosso do Sul. **Anais...** Mato Grosso do Sul, 2005. 4p.
- VALOIS, A.C.C.; SALOMÃO, N.; ALLEN, A.C. Glossário de recursos genéticos vegetais. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996.62p.
- WEISING, K. **DNA fingerprint in plants and fungi**. New York: CRC Press, 1995. 322p.

WEBER, Z.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. **The American Journal Human Genetic**, Boston, v. 44, n.3, p.388-396, Mar. 1989.

WONG, H.L.; YEOH, H.H.; LIM, S.H. Customization of AFLP analysis for cassava varietal identification. **Phytochemistry**, New York, v. 50, n.6, p. 919-24, Mar. 1999.

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

ZALDIVAR, M.E., ROCHA, O.J., AGUILAR, G., CASTRO, L., CASTRO, E., BARRANTES, R. Genetic variation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivated by Chibchan Amerindians of Costa Rica. **Economic Botany**, New York, v. 52, p. 204-213, Abr. 2004.

ZATARIN, M.; VALLE, T. L. Uma visão etnobotânica sobre os recursos genéticos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no Estado de Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2001, Goiânia. **Anais...**Goiânia, 2001, 4p.

ZEVEN, A.C. Landraces: A review of definitions and classifications. **Euphytica**, Wageningen, v. 104, p. 127–139, Dez. 1998.