

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO**

TIAGO MARETTI GONÇALVES

**Caracterização, divergência genética e estrutura populacional de
cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa coletadas na Região Sul de
Minas Gerais**

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
AGOSTO – 2014

TIAGO MARETTI GONÇALVES

**Caracterização, divergência genética e estrutura populacional de
cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa coletadas na Região Sul de
Minas Gerais**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Soares Vidigal Filho.

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
AGOSTO – 2014

A minha tia, Milca Gonçalves, e à minha, avó Ana Carvalho Gonçalves.

Aos meus familiares.

Aos meus amigos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e proteger nesta caminhada.

Aos meus pais, Adriane Pelegrino Maretti e Clodoaldo Gonçalves; à minha tia, Milca, e à minha avó, Ana, pelo amor, carinho e intenso cuidado.

À cidade de Maringá, que me encantou pela qualidade de vida e pela hospitalidade.

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PGM), por disponibilizar a estrutura necessária para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão dos recursos financeiros e Bolsa de Estudos.

Ao professor doutor Pedro Soares Vidigal Filho, pela orientação, apoio e amizade.

Às Coorientadoras, professora doutora Maria Celeste Gonçalves Vidigal e doutora Giselly Figueiredo Lacanallo, pelos ensinamentos, dedicação e amizade.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pelos importantes ensinamentos durante o Curso de Mestrado.

Aos amigos e colegas de Curso, Rebecca Caroline Ulbricht Ferreira, Vanesca Priscila Camargo Rocha, Alex Tiene Ortiz, Maria da Conceição Martiniano de Souza e Marilda Pereira Caixeta, pela prestatividade no desenvolvimento de todas as atividades ligadas a este trabalho.

Ao senhor Delelmo Durante, pelo auxílio em campo e pelos momentos de descontração e alegria.

A todos aos demais amigos do Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (Nupagri), pela amizade e ajuda na condução deste trabalho.

Aos agricultores e às pessoas que abriram as portas das suas casas e me disponibilizaram as ramas de mandioca utilizadas nesta pesquisa.

À minha saudosa terra de Minas Gerais, lugar abençoado em todos os aspectos, e à Universidade Federal de Alfenas, local onde me graduei e pude aprender os primeiros passos na área da Genética e da Biologia Molecular.

BIOGRAFIA

TIAGO MARETTI GONÇALVES, filho de Adriane Pelegrino Maretti e de Clodoaldo Gonçalves, nasceu em 23 de fevereiro de 1988, na cidade de Poços de Caldas, estado de Minas Gerais, Brasil.

Iniciou sua vida escolar na mesma cidade em que nasceu, em 1994, na Escola Municipal Dr. José Vargas de Souza, concluindo esta primeira etapa em 2002. Concluiu o Ensino Médio, no ano de 2005, no Colégio Anglo Pelicano, ainda em Poços de Caldas, estado de Minas Gerais.

No ano de 2007, ingressou no Curso de Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura, na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), recebendo o título de Biólogo no ano de 2011.

Em março de 2012, ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós – Graduação em Genética e Melhoramento (PGM) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), em Maringá, estado do Paraná, Brasil.

SUMÁRIO

ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Origem da mandioca.....	3
2.2. Características gerais da espécie <i>Manihot esculenta</i> Crantz.....	4
2.3. Importância, utilização e produção da cultura.....	9
2.4. Variabilidade genética e conservação de germoplasma	13
2.5. Melhoramento genético.....	16
2.6. Caracterização morfoagronômica de mandioca.....	20
2.7. Divergência genética.....	23
2.7.1. Medidas de dissimilaridade	23
2.7.2. Métodos de agrupamento.....	25
2.8. Marcadores moleculares	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1. Coleta e plantio dos acessos de mandioca-de-mesa.....	32
3.2. Caracterização morfoagronômica	34
3.3. Avaliação da divergência genética por caracteres morfoagronômicos.....	35
3.4. Extração e quantificação de DNA	36
3.4.1. Extração do DNA.....	36
3.4.2. Quantificação e amplificação do DNA	36
3.5. Marcadores moleculares SSR.....	37
3.6. Análises estatísticas a partir dos resultados obtidos por meio dos marcadores microssatélites.....	39
4. RESULTADO E DISCUSSÃO	40
4.1. Caracterização morfoagronômica para caracteres qualitativos.....	40
4.2. Caracterização morfoagronômica para características quantitativas	49
4.3. Divergência genética por meio de características qualitativas	54
4.4. Divergência genética por meio de características quantitativas.....	58
4.5. Caracterização molecular por marcadores SSR	64
4.6. Divergência genética mediante o uso de marcadores SSR	68
4.7. Estrutura da população	70
5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

RESUMO

GONÇALVES, Tiago Maretti, M. Sc. Universidade Estadual de Maringá, junho de 2014. **Caracterização, divergência genética e estrutura populacional de cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa coletadas na Região Sul de Minas Gerais.** Professor Orientador: Pedro Soares Vidigal Filho. Professores Conselheiros: Maria Celeste Gonçalves-Vidigal e Gisely Figueiredo Lacanallo.

A primeira etapa do presente trabalho teve como objetivo a caracterização da divergência genética a partir de 51 cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa, coletadas em quatro localidades da região Sul de Minas Gerais. Foram utilizados 15 caracteres morfológicos, analisados a partir de variáveis multicategóricas, e sete caracteres quantitativos, analisados pelo método da distância euclidiana média, com os quais foram geradas matrizes de dissimilaridade e de similaridade genética entre os acessos avaliados. Na análise de agrupamento, foi utilizado o Método do Vizinho Mais Próximo (UPGMA). Pela análise dos descritores morfológicos qualitativos, houve a formação de 6 grupos distintos, sendo os acessos BGM 674, BGM 686 e BGM 690 os mais divergentes e as combinações entre BGM 640 x BGM 690, BGM 647 x BGM 690, BGM 675 x BGM 690, BGM 678 x BGM 690 e BGM 680 x BGM 690 consideradas as mais promissoras para um futuro programa de melhoramento genético. Para os descritores quantitativos, houve a formação de 7 grupos distintos e os acessos BGM 655, BGM 640, BGM 660 e BGM 690 foram os mais divergentes. As combinações mais promissoras indicadas em um futuro programa de melhoramento genético estão entre os parentais BGM 675 x BGM 690 e BGM 690 x BGM 660. Na segunda etapa deste trabalho, houve a aplicação de 20 marcadores microssatélites e todos os *loci* analisados foram considerados polimórficos, com uma média de 3,4 alelos por *locus*. O valor médio de PIC indicou que os marcadores foram, em sua maioria, medianamente informativos, sendo os *loci* GA 127, SSRY 21, SSRY 28 e GA 57 os de maiores valores de PIC, com 0,6763; 0,6273; 0,5456 e 0,5236, respectivamente. No que se refere à heterozigosidade, o valor médio de 0,6487 foi considerado alto e os *loci* SSRY 51, SSRY 19, GA 140 e GA 131 foram os que apresentaram maior valor: 1,0. Com relação à diversidade genética, a média obtida foi de 0,4810, variando de 0,0968 para GA 136 a 0,7270 para GA 127. Entre os acessos mais divergentes, destacaram-se: BGM 684, BGM 655, BGM 647, BGM 660, considerados acessos viáveis para um futuro programa de melhoramento

genético. A estrutura populacional revelou-se bastante heterogênea, com quatro grupos baseados nas metodologias da distância genética de C.S. Chord e pelo método probabilístico. Os 20 *primers* avaliados apresentaram resultados satisfatórios, considerando a diversidade genética e a estrutura populacional presentes em cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa coletadas da Região Sul de Minas Gerais.

Palavras-chave: *Manihot esculenta*, marcadores moleculares SSR, diversidade genética, marcadores morfoagronômicos.

ABSTRACT

Gonçalves, Tiago Maretti, M.Sc. Universidade Estadual de Maringá, June, 2014. **Characterization, genetic divergence and population structure of traditional cultivars of sweet cassava collected in the southern region of Minas Gerais State.** Adviser: Pedro Soares Vidigal Filho. Committee Members: Maria Celeste Gonçalves Vidigal and Gisely Figueiredo Lacanallo.

The first step of this work aimed to characterize the genetic divergence between 51 traditional cassava cultivars collected from four locations in the Southern region of Minas Gerais. Fifteen morphological characters analyzed from multicategoric variables and seven quantitative characters analyzed by the method of Average Euclidean distance which dissimilarity matrices and genetic similarity among accessions were generated was used. The Nearest Neighbor-UPGMA method was used as cluster analysis. For the analysis of qualitative morphological descriptors was the formation of six distinct groups, with the BGM 674, BGM 686 and BGM 690 hits were the most divergent and combinations between BGM 640 x BGM 690, BGM 647 x BGM 690, BGM 675 x BGM BGM 690, BGM 678 x BGM 690 and BGM 680 x BGM 690 are considered as the most promising for a future breeding program. For quantitative descriptors was the formation of seven distinct groups, and the BGM 655, BGM 640, BGM 660 and BGM 690 hits were the most divergent, with the most promising combinations indicated in a future breeding program are between parental BGM 675 x BGM 690 and BGM 690 x BGM BGM 660. In the second step of this work was the application of 20 microsatellite markers. All were considered polymorphic loci analyzed with an average of 3,4 alleles per locus. The average value of PIC indicated that the markers were mostly mildly informative, and the loci with higher PIC were 127 GA, 21 SSRY, SSRY 28 and GA 57 with values of 0,6763; 0,6273; 0,5456 and 0,5236 respectively. As it relates to heterozygosity, the mean value of 0,6487 was considered high and SSRY 51, SSRY 19, GA 140 and GA 131 loci were those with the highest value, equal to 1.0. With respect to genetic diversity, the average was 0,4810 ranging from 0,0968 to 0,7270 for GA 136 and GA 127. Among the most divergent accessions, stood 684 BGM, BGM 655, 647 BGM, BGM 660, which accesses considered viable for a future breeding program. Population structure proved to be quite heterogeneous with four groups based on the methodologies of CS Chord genetic distance and the probabilistic method. Thus, the

20 primers evaluated showed satisfactory results considering the genetic diversity and population structure present in traditional cassava cultivars collected from the Southern Region of Minas Gerais State.

Keywords: *Manihot esculenta*, SSR molecular markers, genetic diversity, morphological and agronomic markers.

1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* subsp. *esculenta* Crantz) é uma planta pertencente à família *Euphorbiaceae*. É a principal cultura cultivada nos trópicos, uma vez que está adaptada a uma ampla gama de condições climáticas (Olsen e Schaal, 2001; Akinbo et al., 2012). Fonte de calorias para mais de 500 milhões de pessoas distribuídas ao longo de 30° N a 30° S de latitude, a mandioca é considerada uma importante cultura alimentar em todo o mundo (El-Sharkawy, 2004; Nassar e Ortiz 2007; Kunkeaw et al., 2010; Li et al., 2010).

Em relação à origem e à domesticação da espécie *M. esculenta*, supõe-se que o norte da Amazônia seja o local de sua domesticação e que o estado de Goiás seja o principal centro de diversidade de espécies do gênero *Manihot* (Nassar 1978).

O Brasil destaca-se no cenário mundial como o quarto maior produtor, atrás apenas da Nigéria, Tailândia e Indonésia (FAO, 2014). No ano de 2013, a produção brasileira desta cultura ultrapassou a cifra de 24 milhões de toneladas, com o estado de Minas Gerais produzindo cerca de 806 mil toneladas em uma área de 57 mil ha cultivados (Groxko, 2013).

A mandioca-de-mesa é amplamente cultivada por pequenos agricultores para o próprio consumo, em um sistema de cultivo denominado “fundo de quintal”, onde se encontra uma ampla diversidade genética (Zuin et al., 2009). Nesse sistema de exploração agrícola, as cultivares tradicionais utilizadas apresentam, em sua maioria, concentrações aceitáveis (abaixo de 100 mg.kg⁻¹ de polpa crua) de HCN e são, portanto, consideradas mandiocas “mansas” ou, ainda, “mandiocas de mesa” (Mkumbira et al., 2003; Valle et al., 2004; Kizito et al., 2007).

O cultivo de mandioca-de-mesa em área de “fundo de quintal” vem sendo reduzido, devido à migração do homem que habitava na zona rural para as cidades e também com a expansão das grandes culturas, reduzindo as áreas da agricultura familiar e diminuindo, assim, a diversidade genética presente neste germoplasma (Cleveland et al., 1994).

O germoplasma da mandioca disponível tem sido pouco explorado em relação ao seu potencial genético e, portanto, precisa ser melhor avaliado. Dessa forma, por meio de novos trabalhos sobre diversidade genética, os melhores acessos ou que tenham características desejáveis poderão ser utilizados

futuramente em programas de melhoramento genético de mandioca (Rimoldi et al., 2010).

Em um programa de melhoramento genético vegetal, a etapa inicial constitui-se da fase de coleta e caracterização do germoplasma de que se dispõe, caso o melhorista ainda não possua recurso genético com ampla variabilidade. Tal fato é especialmente importante para a cultura da mandioca, em função da sua elevada diversidade genotípica natural existente (Farias et al., 1997; Elias et al., 2000; Faraldo et al., 2000; Ribeiro et al., 2011).

A caracterização de germoplasma disponível, a elucidação da estrutura populacional, bem como da divergência genética entre as cultivares tradicionais de mandioca são muito importantes (Costa et al., 2013). A caracterização molecular, por meio de marcadores baseados na amplificação do DNA, é muito recomendada, pois o DNA não sofre influência ambiental em curto prazo, o que proporciona mais confiabilidade nos resultados. Além dos marcadores moleculares, é importante proceder à caracterização morfológica, ampliando-se o entendimento da variabilidade genética existente e a escolha de acessos promissores (Saavedra et al., 2001).

O objetivo deste trabalho é estimar a diversidade genética e a estrutura populacional em cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa do Sul do de Minas Gerais, utilizando descritores morfoagronômicos e marcadores moleculares microsatélites.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Origem da mandioca

Antes mesmo da chegada dos portugueses, em 1500, tribos indígenas, como Tupi e Guarani, já plantavam e consumiam a mandioca, produto de grande importância cultural para essas tribos (Viégas, 1976).

Em relação à origem da mandioca, Allem (2002) descreve três formas: a origem geográfica, a espécie ancestral (botânica) e onde ela foi primariamente domesticada (agricultura). O geneticista russo Nicolai Ivanovich Vavilov foi quem primeiro estabeleceu a origem geográfica para diversas espécies, quando, em suas expedições, classificou os centros de origem em primários e secundários, indicando a mandioca como pertencente ao centro de origem brasileiro paraguaio (Vavilov, 1951).

Em estudos relacionados à diversidade da mandioca, Nassar (1978) concluiu que, quanto à distribuição geográfica, é possível determinar quatro centros de diversidade: o Sudoeste do México, o Nordeste, o Centro (Sul de Goiás e Oeste de Minas Gerais) e o Oeste do Brasil (Sul do Mato Grosso e Parte da Bolívia).

A origem botânica foi baseada em ancestralidade e, segundo estudos propostos por Allem (1994), a origem de cultivares landraces e comerciais ocorreu a partir de populações silvestres da espécie *Manihot flabellifolia*.

Estudos pioneiros aplicando técnicas moleculares na elucidação da filogenia da mandioca foram desenvolvidos por Bertram e Schaal (1993), mediante o uso de marcadores moleculares RFLP e DNA de cloroplasto. Os autores avaliaram 12 espécies de *Manihot* oriundas das Américas, demonstrando que a variabilidade genética presente entre elas é moderadamente elevada e que *M. pruinosa* não é considerada um parental da mandioca cultivada.

Olsen (2004), por meio de estudos, descobriu que a mandioca teve origem no Sul da Bacia Amazônica e a espécie *M. esculenta* spp. *flabellifolia* é a ancestral da espécie cultivada atualmente. Utilizando marcadores moleculares SNPs e SSRs como meio de rastreamento de origens evolutivas e geográficas da mandioca, após pesquisas, concluiu que sua domesticação se deu a partir de uma espécie única, selvagem, denominada *M. esculenta* spp. *flabellifolia*.

Quanto à origem agrícola, evidências arqueológicas indicam que e a

mandioca é cultivada na região da Colômbia e Venezuela há cerca de 3.000 a 7.000 anos (Rouse; Cruxent, 1963; Reichel-Dolmatoff, 1965).

Hershey e Jennings (1992) relataram que a domesticação ocorreu em várias áreas de modo simultâneo e, após o descobrimento da América, houve uma rápida dispersão dessa espécie para outras regiões do globo.

Segundo Allem (1997), o local de domesticação da mandioca se deu nos estados de Mato Grosso, Goiás e Rondônia, ressaltando que a ação das tribos indígenas Arawak desempenhou um papel importante no processo de domesticação da mandioca nos estados do Pará, Amapá e região norte amazônica (Schimidt, 1951).

2.2. Características gerais da espécie *Manihot esculenta* Crantz

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), também conhecida como mandioca mansa, mandioca doce, aipim ou macaxeira, é uma planta pertence à classe das dicotiledôneas e à família *Euphorbiaceae* (Nassar et al., 1986; Müllen et al., 2000; Siqueira et al., 2009). É um arbusto perene do Novo Mundo, atualmente considerada a sexta maior cultura alimentar em todo o globo terrestre (El-Sharkawy, 2004). Trata-se de uma planta de extrema importância, pois apresenta um elevado teor de amido nas raízes tuberosas, servindo de dieta para 500 milhões de pessoas em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América Latina (El-Sharkawy, 2004; Chen et al., 2012).

Dentro da sistemática botânica de classificação, a mandioca é uma planta pertencente ao filo *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida*, ordem *Malpighiales*, família *Euphorbiaceae*, gênero *Manihot* e a espécie mais cultivada no Brasil é a *Manihot esculenta* Crantz (Judd et al., 1999).

A mandioca é uma espécie que apresenta uma ampla variabilidade genética entre acessos, principalmente por ser monóica, protogínica e por apresentar fácil polinização, fato que resulta em elevada heterozigosidade (Raghu et al., 2007; Raji et al., 2009; Siqueira et al., 2009).

As espécies de mandioca, do ponto de vista da citogenética, apresentam um número diplóide com $2n = 36$ cromossomos (Rogers e Apan, 1973; Nassar 2000; Carvalho e Guerra 2002). Nassar (2004) encontrou uma forte similaridade cariotípica entre as espécies, o que pode justificar um elevado pareamento meiótico e a

viabilidade do pólen em híbridos interespecíficos. Desta maneira, a mandioca é considerada uma planta diplóide, embora alguns autores a caracterizem como um alotetraplóide (Rogers e Apan, 1973; Nassar, 2004).

A mandioca é um arbusto perene, lenhoso e com altura variando entre 1,5 a 2m, geralmente não ultrapassando os 3m (Ceballos e Cruz, 2002; Nassar 2002a). Ela pode exibir um desenvolvimento normal, mesmo em condições de déficit hídrico e em solos marginais, onde outras culturas, tais como beterraba e cana de açúcar, podem fracassar (Sriroth et al, 2010; Zhang et al., 2007).

Segundo El-Sharkawy (2004), a mandioca apresenta alta tolerância a ambientes estressantes, exigindo poucos cuidados, mas, sob boas condições ambientais, a mandioca exibe um alto potencial de rendimento. Quando cultivadas em condições desfavoráveis, como solo pobre de nutrientes e seca prolongada por períodos que se estendem por mais de 6 meses, a produtividade tende a ser baixa (El-Sharkawy, 2004). Isso ocorre porque há diminuição da copa foliar, reduzindo a transpiração estomática. Entretanto, suas folhas restantes permanecem fotossinteticamente ativas, embora apresentando taxas fisiológicas muito reduzidas (El-Sharkawy, 2004).

A mandioca é considerada uma planta que realiza fotossíntese intermediária (C3-C4), possuindo anatomia foliar diferenciada e baixa fotorrespiração (El-Sharkawy, 2009). Sua tolerância à seca pode ser comparada à de gramíneas C4, como o sorgo, mas a mandioca apresenta maior eficiência, uma vez que o seu índice de colheita e de unidades de matéria seca produzido por unidade de água transpirada é bem maior (El-Sharkawy, 2004).

Em relação à floração, a mandioca apresenta flores masculinas e femininas separadas na mesma planta, tornando-a monóica e sujeita à polonização cruzada e à autopolinização (Nassar e O'Hair 1985; Silva et al., 2001).

As flores masculinas são estaminadas, encontradas na parte superior da inflorescência. Sua coloração é geralmente uniforme, predominando a verde ou levemente amarela, embora sua coloração dependa do genótipo em questão e possa variar na própria flor. As anteras são birrimosas, voltadas ou inclinadas para o eixo da flor, com a presença em abundância de pólen de cor amarelada (Viégas 1976; Fukuda e Iglesias, 2006).

As flores femininas são encontradas na posição basal da inflorescência, inicialmente voltadas para cima e, pós fecundação, pêndulas, apresentando um

cálice de 10 a 12 mm. Sua coloração predominante é a verde-amarelada, apresentando-se lisas ou com franjas curtas, bem definidas, em tom purpúreo nos bordos das sépalas (Fukuda e Iglesias, 2006).

O intervalo de tempo do plantio ao florescimento depende do genótipo e das condições ambientais e pode variar de 1 a mais de 24 meses e as flores podem aparecer nos meses de dezembro-janeiro (Viégas, 1976; Byrne, 1984). As flores geralmente começam a se abrir em torno do meio-dia, permanecendo abertas por cerca de um dia (Ceballos et al., 2002). Em um determinado ramo, as flores femininas podem abrir em primeiro lugar e as flores masculinas surgem 1 ou 2 semanas depois, característica denominada protoginia. Segundo Jos et al. (1990), três horas após a polinização, ocorre a emissão dos tubos polínicos; seis horas depois, os tubos polínicos atravessam a base do estilete e, entre 24 a 48 horas, atingem os sacos embrionários.

A fecundação pode ser realizada por insetos – moscas, vespas e até mesmo tripses, sendo que a fecundação por pássaros parece não ocorrer (Fukuda e Iglesias, 2006).

Um fato marcante na cultura da mandioca é o advento da apomixia, definida como a geração de sementes na ausência de fertilização. Este processo é controlado por poucos genes e pode trazer resultados positivos para a planta, fixando genótipos superiores por várias gerações (Nassar, 1998).

A apomixia no gênero *Manihot* foi descrita pela primeira vez por Nassar (1980), enquanto trabalhava com hibridizações interespecíficas. O Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA) mencionou a ocorrência do fenômeno em espécies silvestres de mandioca em 1988. Pela observação de características morfológicas uniformes na progênie de cruzamentos interespecíficos e uso de genes marcadores, foram isoladas linhas apomíticas facultativas e proposto o uso de espécies silvestres como fontes de genes responsáveis pelo fenômeno (Nassar, 1994).

Os frutos de *Manihot* são esquizocarpáceos, com a formação de cocas a presença do carpóforo (coluna central), que persiste na planta após deiscência do fruto. Os frutos apresentam comprimento de 1,5 cm, com cocas não equinadas, apresentando dorso alado, coluna central robusta, não partida (Barroso, 1991).

As sementes de mandioca são menores que as de *Ricinus communis* L. e são alocadas em lojas das cápsulas. Pela visão da face dorsal, são ovóide-elípticas,

abauladas e medem 10 mm de comprimento por 6 mm de largura em média (Viégas, 1976; Fukuda e Iglesias, 2006). Fisiologicamente as sementes de mandioca são classificadas como ortodoxas, sendo que, anteriormente foram erroneamente classificadas como sementes recalcitrantes e podem ser armazenadas em temperaturas que variam de 15 a 20°C (Ellis et al., 1981).

Em relação ao método de propagação, a mandioca é popularmente plantada por estacas, lenhosas e maduras (manivas), de 15-20 cm de comprimento, na posição horizontal, vertical ou inclinada, em densidades populacionais variando de 5.000 a 20.000 plantas por hectare (El-Sharkawy, 2004).

No que tange à distribuição geográfica da cultura, a espécie *M. esculenta* Crantz encontra-se distribuída entre os paralelos 30° de latitude Norte e 30° Sul e a maior concentração desta cultura está entre as latitudes 20° Norte e 20° Sul (Cock 1982; El-Sharkawy, 2004). Embora a mandioca requeira um clima quente (> 20 °C em média) (El-Sharkawy, 1992), muitas vezes, é cultivada nos trópicos de alta altitude (variando de 1.800 a 2.300 m acima do nível do mar) e nos subtrópicos, com menor temperatura média anual, onde o crescimento da cultura é mais lento (Irikura et al., 1979; Cock, 1982; El-Sharkawy, 2004).

Segundo Ceballos et al. (2004), a mandioca é uma cultura muito rústica e que cresce bem em condições marginais, onde poucas outras culturas poderiam sobreviver. É tolerante a solos ácidos, embora isso possa contribuir para a ocorrência de menores índices de produtividade.

Um fator importante que influencia o uso da mandioca como alimento é a sua toxicidade. A presença de glicosídeos cianogênicos em mandioca representa uma grande desvantagem nutritiva em áreas rurais, onde a mandioca constitui o único alimento básico disponível (Jørgensen et al., 2011). A mandioca contém dois glicosídeos cianogênicos, a linamarina e a lotaustralina, estando presentes em média com concentrações iguais a 93% e 7% respectivamente (Nartey, 1968; Nartey, 1978; Lykkesfeldt e Moller, 1994).

Os glicosídeos cianogênicos são primeiramente sintetizados a partir dos aminoácidos valina e isoleucina (Lykkesfeldt e Moller, 1994, Jørgensen et al., 2011) compondo um “*metabolon*” bioquímico através de reações específicas na planta (Zagrobelny et al., 2008).

Segundo estudos de Jørgensen et al. (2011), no primeiro passo do anabolismo metabólico na planta de mandioca, os aminoácidos valina e isoleucina

são transformados em compostos intermediários, denominados oximas, por uma grande família de enzimas do citocromo P450, denominadas CYP79D1 e CYP79D2. Na próxima etapa da via metabólica, os produtos originários desta catálise enzimática são convertidos em acetona cianoidrina e 2-hidroxi-2-metilbutironitrila por uma enzima denominada CYP71E7, sendo, portanto, os precursores dos glicosídeos cianogênicos linamarina e lotaustralina respectivamente (Jørgensen et al., 2011).

Os glicosídeos cianogênicos ficam armazenados nos vacúolos que, por alguma injúria ou movimento brusco, são liberados no meio citoplasmático, sofrendo a hidrólise pela presença da enzima endógena β -glicosidase originando Cianoidrina. No próximo passo da via catabólica, ocorre a ação da enzima hidroxinitrila liase que transforma o substrato cianoidrina em cetona e ácido cianídrico (HCN) (Jørgensen et al., 2011).

Após a ingestão de plantas cianogênicas, como a mandioca, os glicosídeos cianogênicos liberam HCN, o qual é rapidamente absorvido no tubo digestivo e distribuído para os tecidos através da corrente sanguínea. A ingestão de 2 a 4 mg de HCN já é considerada tóxica (Tokarnia et al., 2000).

Na célula, o HCN inibe diversos complexos enzimáticos. O mecanismo primário está relacionado com a inibição da enzima citocromo-oxidase e seu local de ação é o ferro da metalo-porfirina (Burrows, 1981). O HCN possui grande afinidade pela forma heme-férrico da citocromo-oxidase, formando nas mitocôndrias um complexo relativamente estável, denominado ciano-citocromo-oxidase, deixando o ferro em estado trivalente, interrompendo o transporte de elétrons ao longo da cadeia respiratória (Egezeke e Oehme 1980).

Felizmente, o homem e os animais possuem um mecanismo eficiente de detoxificação por cianeto. A detoxificação do HCN é desempenhada pela enzima acetilsulfotransferase, também conhecida pelo nome de rodanase (Zagrobelny et al., 2008). A rodanase é altamente difundida nos tecidos, sendo encontrada em altas concentrações no fígado, rins e pâncreas. O mecanismo de ação desta enzima está relacionado com a transferência do átomo de enxofre para o cianeto, formando um composto não reativo, denominado Tiocianato, que é subsequentemente excretado pela urina (Zagrobelny et al., 2008).

Nas plantas, o mecanismo básico de detoxificação por cianeto se dá através da formação do aminoácido β -Cianoalanina de Cisteína ou serina, a qual é catalisada por uma enzima denominada β -cianoalanina-sintase (Miller e Conn, 1980;

Zagrobelny et al., 2008). Este processo ocorre nas mitocôndrias pela ação da enzima β -Cianoalanina sintase, sendo, portanto, uma organela extremamente vulnerável à toxicidade cianogênica (Meyers e Ahmad, 1991; Watanabe et al., 2008).

Em função do conteúdo de HCN presente na polpa crua das suas raízes tuberosas, as cultivares de mandioca podem ser classificadas como mansas, intermediárias ou bravas. As cultivares mansas apresentam teor de HCN na polpa crua das raízes tuberosas inferior a 100 mg kg^{-1} ; as cultivares intermediárias apresentam teor de HCN entre 100 e 200 mg kg^{-1} ; as cultivares bravas apresentam teor de HCN superior a 200 mg kg^{-1} na polpa crua das suas raízes tuberosas (Lorenzi e Dias, 1993).

As cultivares bravas são também denominadas de “cultivares para indústria” e, portanto, tóxicas ao ser humano quando utilizadas para consumo *in natura* (raízes tuberosas frescas). Assim, segundo Lorenzi et al. (1993), cultivares que apresentam concentrações inferiores a este limite de segurança (100 mg kg^{-1}) são próprias para consumo *in natura* e são denominadas cultivares de mesa.

Kvitschal (2008) avaliou o conteúdo de HCN de raízes tuberosas coletadas em Maringá-PR, utilizando a metodologia descrita por Teles (1972). O autor encontrou, entre os acessos avaliados, a amplitude de 40,87 e $78,94 \text{ mg.kg}^{-1}$ e valor médio de $61,37 \text{ mg.kg}^{-1}$, sendo classificados como mandiocas mansas ou mandiocas de mesa (Mkumbira et al., 2003; Valle et al., 2004; Kizito et al., 2007).

A colheita das raízes tuberosas é efetuada geralmente entre 6 e 9 meses, considerando mandiocas-de mesa, e entre 12 e 18 meses para cultivares bravas, embora apresentem grande tolerância a longos períodos no solo se não colhidas, possibilitando um maior período para acúmulo de massa seca (Nassar e Ortiz, 2007).

Devido à perecibilidade das raízes tuberosas e à rápida deterioração após a colheita, as raízes frescas devem ser processadas imediatamente após a colheita, seja para consumo humano ou animal (El-Sharkawy, 2004). Alguns dos alimentos processados são comumente conhecidos como farinha da mandioca, no Brasil; gablek, na Indonésia; e *gari* e *foufou*, no Oeste da África (El-Sharkawy, 2004).

2.3. Importância, utilização e produção da cultura

A mandioca tem representado um importante papel na fonte alimentícia em

vários países em desenvolvimento, principalmente da África Subsaariana, Ásia e de algumas regiões da América Latina (El-Sharkawy, 2004; Nassar, 2004; Siritunga e Sayre, 2004; Nassar e Hashimoto, 2006).

É considerada uma das maiores fontes de amido, em pureza, qualidade e quantidade, se comparadas a outras culturas tuberosas e aos cereais. Essa concentração de amido pode variar de 20% a 45% nas raízes tuberosas (Zeoula et al., 1999; Nuwamanya et al., 2010).

Segundo Albuquerque et al. (1993), a mandioca apresenta em sua composição química, em média, 68,2% de umidade, 30% de amido, 2% de cinzas, 1,3% de proteínas, 0,2% de lipídeos e 0,3% de fibras. A parte aérea é rica em proteínas, vitamina C, β -caroteno e sais minerais, como Ferro, Zinco e Manganês sendo que estas composições podem sofrer grandes variações no que diz respeito ao tipo de variedade, mas também das condições agronômicas e ecológicas e/ou dos métodos de análises empregados (Wobeto et al., 2006). No entanto, além dos componentes nutritivos, a folha da mandioca possui diversos compostos químicos prejudiciais à saúde, como polifenóis, nitrato, ácido oxálico, hemaglutinina, saponinas e inibidores de tripsina e o cianeto, composto que pode estar presente em concentrações até seis vezes mais altas nas folhas em relação às raízes tuberosas, o que torna as folhas pouco aproveitadas na nutrição humana (Yeoh e Chaw, 1976; Nassar e Marques, 2006; Pereira et al., 2008).

Em avaliações do teor de proteína bruta de folhas de mandioca, Sagrilo et al. (2003) observaram valores que variaram entre 24 e 36%; Modesto et al. (2004) encontraram valores entre 20,7 e 38,4%; enquanto Nassar e Marques (2006) encontraram valores entre 22,73 e 32,58%.

Em relação à nutrição humana, a mandioca tem sido um dos sustentáculos energéticos na nutrição das populações de baixos recursos socioeconômicos dos países tropicais e subtropicais. O consumo no Brasil per capita de raízes tuberosas foi estimado em 70 kg.habitante⁻¹ano⁻¹, fornecendo cerca de 70% das calorias diárias para 200 milhões de pessoas (Nassar e Ortiz, 2007). São variadas as formas de consumo de raízes de mandioca *in natura* (raízes frescas), sejam raízes cozidas, fritas ou até mesmo assadas. O cozimento é feito em água e sal, depois de as raízes tuberosas serem descascadas e logo consumidas. Estas raízes tuberosas previamente cozidas podem também ser posteriormente fritas, embora haja cultivares que não exigem este cozimento prévio. Além disso, em algumas regiões

do Brasil costuma-se consumir as raízes tuberosas assadas sendo destacadas como iguarias e pratos típicos de algumas regiões brasileiras (Lancaster et al., 1982). Sua capacidade para se adaptar a solos pobres, seu alto potencial energético e sua resistência contra pragas fazem de sua cultura uma grande aliada contra a fome.

A mandioca é uma planta de extrema versatilidade, não servindo apenas para alimentação humana, mas também para a nutrição animal e para fins industriais (El-Sharkawy, 2004). A maior parte da produção de mandioca no mundo é obtida em pequenas propriedades ou hortas de “fundo de quintal”, sendo, na maioria dos casos, uma cultura de subsistência das famílias do campo (El-Sharkawy, 2004).

A produção comercial também possui seu destaque, principalmente na produção de amido para a indústria alimentícia, alimentação animal, indústria química e produção de etanol (El-Sharkawy, 2004; Taylor et al., 2004; Sardos et al., 2008; Kawuki et al., 2009; Lin et al., 2011).

Pesquisas recentes desenvolvidas por Lin et al. (2011) mostraram a eficiência da produção de etanol a partir de mandioca. Os pesquisadores descobriram uma cepa do fungo *Penicillium spp.*, denominada GXU20, capaz de degradar o amido da mandioca *in natura*, sem necessidade de cozimento. Neste processo, as raízes tuberosas passam por um beneficiamento até tornar-se farelo. É então administrada a cepa de *Penicillium* que hidrolisa o amido em açúcares que irão servir como matéria prima para a formação do etanol (Lin et al., 2011).

No que se refere à produção mundial de raízes tuberosas, em 2013, foi de aproximadamente 255,7 milhões de toneladas (FAO, 2014). A Nigéria é o país que lidera a produção, com aproximadamente 55 milhões de toneladas, seguida pela Tailândia, com 28,2 milhões; Indonésia, com 24,6 milhões de toneladas; e pelo Brasil, com 24,1 milhões de toneladas (FAO, 2014). Em um panorama geral, aproximadamente, 57% da produção de raízes tuberosas hoje produzidas no mundo é utilizada para o consumo humano, 32% para fins industriais e para a alimentação animal e a parcela restante, ou seja 11%, é desperdiçada (Bellotti et al. 1999).

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2008-2009) mostrou que o consumo *per capita* de raízes tuberosas de mandioca *in natura* no Brasil é em média de 6,1 g.dia⁻¹. No Centro-Oeste do país, é onde se consome mais mandioca *in natura*, cerca de 11,5 g.dia⁻¹; no Sul 7,9 g.dia⁻¹; no Norte 7,7 g.dia⁻¹; no Nordeste 7,0 g.dia⁻¹; e no Sudeste 3,8 g.dia⁻¹. O consumo da farinha de mandioca, no Brasil, é em média de 7,1 g.dia⁻¹: no Norte é de 46,2 g.dia⁻¹, no Nordeste 11,5 g.dia⁻¹; no

Sudeste 0,8 g.dia⁻¹; no Sul 0,2 g.dia⁻¹; e no Centro-Oeste 0,5 g.dia⁻¹ (IBGE, 2008-2009).

No Brasil, os maiores produtores de raízes tuberosas de mandioca são os estados do Pará, com produção de 4,681 milhões de toneladas, o Paraná e a Bahia, com produção de 3,618 e 1,328 milhões de toneladas, respectivamente (Groxko, 2013).

No ano de 2013, o Norte do Brasil ocupou uma área produtiva de mandioca-de-mesa de 485 mil ha, sendo considerada a região que mais produziu raízes tuberosas, com 7,437 milhões de toneladas e produtividade média de 15,3 t/ha⁻¹ (Groxko, 2013). A região Sul do Brasil ocupou uma área de 262 mil ha, sendo considerada a segunda região que mais produziu raízes tuberosas, com 5,293 milhões de toneladas e produtividade de 20,2 t/ha⁻¹ (Groxko, 2013). A região Nordeste ocupou uma área de 556 mil ha, classificada como a terceira região mais produtora, com aproximadamente 4,850 milhões de toneladas e produtividade de 8,9 t/ha⁻¹. A região Centro-Oeste ocupou uma área de 69 mil ha, produzindo cerca de 1,258 milhões de toneladas e registrando produtividade de 18,2 t/ha⁻¹ (Groxko, 2013).

A região Sudeste ocupou uma área de 146 mil ha, produzindo cerca de 2,274 milhões de toneladas e uma produtividade de 15,575 Kg ha⁻¹. O estado de Minas Gerais produziu cerca de 824 mil toneladas e ocupou 59 mil hectares, com produtividade de 13,966 kg ha⁻¹ (Groxko, 2013).

Vale destacar a importância da cultura da mandioca na região Sul Mineira, principalmente no município de Conceição dos Ouros, cidade que, segundo informações técnicas da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), é responsável pela maior parte da produção de polvilho azedo do estado de Minas Gerais (Lima et al., 2012). Neste município, existem 150 produtores de pequeno, médio e grande porte, cultivando uma área de 350 ha de mandioca. No ano de 2009 foram processadas 35.970 toneladas de raízes tuberosas de mandioca, sendo 7.154 toneladas produzidas no município e 28.816 toneladas vindas de municípios vizinhos (Lima et al., 2012). No ano de 2008, a cidade produziu 13.000 toneladas de polvilho, havendo uma queda, em 2008, de 30% da produção, tendo produzido 8.942,5 toneladas de polvilho (Lima et al., 2012).

2.4. Variabilidade genética e conservação de germoplasma

Segundo Spooner et al. (2005), a variabilidade genética pode ser definida como a variação de genes dentro das espécies, ou seja, a variação hereditária dentro e entre populações.

Na cultura da mandioca, a variabilidade genética é o resultado da seleção natural ocorrida durante a evolução dessa espécie, na pré e pós-domesticação (Fukuda et al., 1999).

Segundo Nassar (2000), as cultivares silvestres de mandioca constituem-se de um amplo reservatório de genes que normalmente não ocorrem em cultivares locais mais evoluídas. Portanto, é nos sistemas de exploração de “fundo de quintal” em que se encontra ampla variabilidade genética da espécie e de onde são selecionadas, ao longo do tempo, inúmeras cultivares que atendem aos hábitos e às preferências locais (Peroni e Hanazaki, 2002).

A manutenção do germoplasma tradicional é de grande importância, pois eles são utilizados por agricultores no cultivo das roças como um componente-chave do seu sistema agrícola. Estas variedades são a matéria-prima para o desenvolvimento de praticamente todas as variedades modernas (Cleveland et al., 1994; Wood e Lenné, 1997; Peroni e Hanazaki, 2002) e representam grande importância estratégica para todos os países do mundo (Martins, 1994).

A substituição das cultivares tradicionais por cultivares melhoradas pode acarretar o estreitamento da base genética, provocando a perda de sua variabilidade e comprometendo seu patrimônio genético (Wow et al., 2009). É importante enfatizar que o crescente processo de urbanização de muitos municípios tradicionalmente agrícolas, acarreta a eliminação de muitas áreas de “fundo de quintal”, ocasionando a perda de polimorfismo pela eliminação de alelos, principalmente de baixa frequência na população, afetando drasticamente a manutenção da variabilidade genética da mandioca (Treuren et al., 1991; Ortiz, 2013).

Um fato alarmante que ocorre com frequência no Sul de Minas Gerais é o desmatamento nas regiões de Mata Atlântica (Inpe, 2012). Somente 7,9% da cobertura original do ecossistema encontram-se preservados (Inpe, 2012). Tal fato pode interferir na diversidade genética de espécies de mandiocas tidas como selvagens, reduzindo o fluxo gênico, acarretando a redução da população e até mesmo contribuindo para o seu desaparecimento. Não obstante, cidades como

Alfenas e Poços de Caldas e outras tradicionalmente agrícolas, como Campestre e Caldas, apresentam um índice cada vez maior de desenvolvimento urbano e populacional, o que poderá comprometer a variabilidade genética de variedades de mandiocas ali encontradas, diminuindo o fluxo gênico e comprometendo sua diversidade (Lima et al., 2012). Este fato resulta em erosão genética no germoplasma tradicional de mandioca-de-mesa (Zuin et al., 2009), cujo potencial genético ainda foi pouco estudado. Portanto, esses materiais precisam ser coletados, armazenados e devidamente avaliados para fins de conservação e assim tornar acessível a diversidade genética para os trabalhos de melhoramento com a cultura (Zuin et al., 2009).

Com a possibilidade de ocorrer a prevenção da erosão genética da espécie de *M. esculenta*, bem como oferecer suporte aos programas de melhoramento da cultura, os bancos de germoplasma são locais de extrema importância, podendo armazenar grande diversidade genética dos acessos mantidos em sua coleção (Fukuda e Iglesias, 2006).

Segundo Fukuda (1992), a representatividade da diversidade genética da mandioca nos bancos ativos de germoplasma e nas coleções de trabalho constituiu uma das principais necessidades do melhorista, de forma que possa atender as demandas de programas de melhoramento no âmbito nacional e regional.

A necessidade de conservação dos recursos genéticos tem estimulado o estabelecimento de Bancos de Germoplasma de mandioca no Brasil e em outros países tropicais, com enfoque para a Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira (Embrapa), localizada em Cruz das Almas-BA, com cerca de 3.000 acessos, e o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), com 865 acessos de mandioca (Mezette et al., 2013). O Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado na Colômbia, mantém 6.592 acessos conservados *in vitro*, oriundos de 28 países, sendo 24,1% de origem brasileira (CIAT, 2013), além do IITA (International Institute of Tropical Agriculture), na Nigéria, que possui um acervo de 3368 acessos (IITA, 2013).

No âmbito regional, no estado do Paraná, o Banco de Germoplasma da Universidade Estadual de Maringá (UEM) é composto por variedades comerciais e acessos cedidos por agricultores que cultivam mandioca-de-mesa em “fundos de quintal”.

O uso efetivo dos recursos genéticos que estão armazenados em Bancos de Germoplasma, tanto para introduzir características de interesse como para ampliar a base genética (Gepts, 2006; Vieira et al., 2013), depende de vários fatores como a caracterização e avaliação desses recursos, a fim de se determinar a diversidade genética existente no conjunto de acessos e auxiliar os melhoristas na escolha dos melhores genótipos como genitores nos programas de pré-melhoramento e melhoramento (Bosetti et al., 2011; Turyagyenda et al., 2012).

Segundo Costa et al. (2003) existem poucos trabalhos relacionados à documentação, caracterização e diversidade genética das espécies com potencial econômico, sendo que a caracterização e conservação de germoplasma são pesquisas fundamentais para assegurar o uso de genes de interesse, além de prevenir a perda desses recursos.

Carvalho e Schaal (2001) estudaram a diversidade genética de cultivares de mandiocas do Brasil mantidas pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) e relataram que ainda existem muitos materiais genéticos para serem avaliados no país. Elias et al. (2004) identificaram 15 novos alelos em variedades de mandioca sul-americanas que estavam ausentes na coleção mundial de referência e sugeriram que estas evidências apontaram para a alta diversidade genética em *landraces*.

Kvitschal (2008) avaliou, utilizando descritores morfoagronômicos, 75 acessos de mandioca-de-mesa coletados no município de Maringá, PR. Os resultados obtidos neste estudo indicaram que a variabilidade genética de mandioca-de-mesa existente foi suficientemente representativa, pois foi observada elevada magnitude nos valores de dissimilaridade para ambas as cultivares tradicionais estudadas. Em um experimento realizado na cidade de Lavras, Minas Gerais, Nick et al. (2010) estudaram a divergência genética por meio das características morfológicas em *landraces*, clones F_1 e cultivares comerciais. Estes autores concluíram que houve variabilidade genética entre as subamostras estudadas, as quais se mostraram úteis a participarem de fases seguintes em um programa de melhoramento.

Desta maneira, é fundamental que se conheça o quanto de variabilidade ocorre dentro do genoma de uma espécie para que se conheça quais medidas de conservação de seu germoplasma são necessárias (Petit et al., 1998; Reed e Frankham, 2003), assim como qual o potencial de uso de sua base genética em um

programa de melhoramento.

Segundo Cruz e Regazzi (2001), a quantificação da diversidade genética em um grupo de indivíduos pode ser realizada de duas formas. A primeira, denominada Análise de Divergência por métodos Biométricos, realiza-se analisando características específicas dos genitores por meio do híbrido obtido entre eles. A segunda forma é denominada Métodos Preditivos, os quais consideram apenas as variações morfológicas, fisiológicas e moleculares que ocorrem nos próprios indivíduos de interesse, dispensando inicialmente a realização de qualquer cruzamento e estudos das progênies (Cruz e Regazzi, 2001; Carvalho et al., 2003).

Várias são as metodologias utilizadas para a determinação da distância genética entre indivíduos. Existe, por exemplo, a metodologia denominada Distância Generalizada de Mahalanobis (1936), utilizada em estudos baseados em marcadores morfoagronômicos quantitativos (Sarawat et al., 1994; Chen e Nelson, 2004; Elias et al., 2007). Existe também a Distância Euclidiana, de ampla aplicabilidade em estudos, tanto com marcadores morfoagronômicos como moleculares (Genet et al., 2005; Nagella et al., 2008; Zuin et al., 2009; Rimoldi et al., 2010; Asare et al., 2011).

No estudo da estrutura populacional pode ser utilizada modelos probabilísticos que visam a agrupar os indivíduos em um número K de grupos, usualmente com alta precisão (Pritchard et al., 2000). Têm sido utilizados métodos principalmente baseados na Máxima Verossimilhança (Evanno et al., 2005; Ronfort et al., 2006; Efombagn et al., 2009; Kwak e Gepts, 2009; Costa et al., 2013).

2.5. Melhoramento genético

O melhoramento de mandioca iniciou-se no Brasil, utilizando métodos científicos, no início do século 20, com os trabalhos de Zehntner, em 1919, no Estado de São Paulo. Em 1935, o Instituto Agrônomo iniciou a exploração da variabilidade entre cultivares nativas e, em 1940, iniciou-se a recombinação entre genótipos por meio de cruzamentos controlados, seguidos de seleção para produtividade, bom padrão culinário, baixo teor de ácido cianídrico e alto teor de matéria seca, além de resistência às doenças (Normanha, 1971).

Na década de 70, o Instituto Agrônomo de Campinas desenvolveu, a partir do cruzamento entre SRT 797 Ouro do Vale e IAC 14-18, a cultivar IAC 576-70, cujo

plântio passou, a partir de 1990, a ser recomendado, disseminando-se rapidamente quando se mostrou superior às variedades existentes no mercado (Villela, 1985). Considerada uma cultivar com alta produtividade, maior nível de resistência genética a doenças e alto teor de carotenóides, responde por quase todo o consumo de mandioca de São Paulo e está se expandindo no Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Distrito Federal (Valle, 2012).

O Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Cali, Colômbia), nos anos 70, começou o melhoramento de mandioca com o objetivo de estender os benefícios da Revolução Verde para os produtores menos privilegiados na América Latina e na Ásia (Nassar e Ortiz, 2007). A década inicial foi dedicada principalmente à coleta de germoplasma, avaliação e reprodução dos materiais. As décadas posteriores foram dedicadas a programas de melhoramento genético com a colaboração de programas internacionais e nacionais na América Latina, Ásia e África (Kawano, 2003).

No programa de melhoramento da cultura da mandioca, os métodos mais utilizados são: introdução e avaliação de variedades e hibridação intraespecífica e interespecífica (Nassar et al., 1986, Kawano, 2003; Fukuda e Iglesias, 2006).

Segundo Fukuda et al. (2002), a introdução de variedades e avaliação é o método mais comum sendo simples, rápido e menos oneroso, resultando em maior êxito de sucesso por causa da grande diversidade genética disponível, o que tem sido pouco explorado. Quando a variabilidade deve ser gerada ou características de interesse econômico precisam ser transferidas, a hibridação intraespecífica seguida de seleção clonal é o método mais comum usado em mandioca (Fukuda et al., 2002). A hibridação interespecífica é um método utilizado para criar variabilidade ou transferir genes com características de interesse econômico, na qual o híbrido gerado sobrevive bem e em muitos casos mostra maior vigor, vigor este observado por Nassar (1986, 1989) em vários casos de hibridação entre mandioca e espécies silvestres como *Manihot neusana* e *M. pohlii*. A divisão meiótica em vários casos é regular e a fertilidade do pólen é viável e razoável (Nassar et al., 1986). Em diversas culturas, as espécies silvestres vêm sendo utilizadas pelos melhoristas como fonte de características úteis e não encontradas em variedades de espécies cultivadas. Estas espécies têm sido, freqüentemente, utilizadas para resolver problemas pela transferência de alelos incorporados às cultivares comerciais (Nassar, 2002b).

Um trabalho pioneiro abordando a hibridização interespecífica entre duas

espécies de Mandioca foi realizada por Storey e Nichols (1938) na Tanzânia. Os autores hibridizaram as espécies selvagens *M. glaziovii* com *M. esculenta*, produzindo clones resistentes à doença do mosaico da mandioca (CMD) (Nassar e Ortiz, 2007).

Nassar (1986) efetuou diversos cruzamentos entre espécies silvestres de *M. glaziovii* Muell-Arg., *M. pseudoglaziovii* Pax e Hoff, *M. caerulescens* Pohl, *M. pohlii* Warwa e os clones catelo, vassourinha e branca-de-santacaterina de *M. esculenta*. Como resultados, houve a incompatibilidade das três primeiras espécies e houve uma limitada compatibilidade com *M. pohlii*. Este resultado pode indicar uma forte barreira sexual, sendo espécies de origens mais que a *M. esculenta* (Nassar, 1986). Neste mesmo trabalho, foram testadas outras espécies silvestres quanto à compatibilidade com *M. esculenta*. Foram realizadas hibridações, com sucesso, de *M. tripartita*, *M. reptans*, *M. procumbens* e *M. oligantha* com clones de *M. esculenta*. Os híbridos oriundos desses cruzamentos indicaram como sendo de origem recente, fato que explica a falta de estabelecimento de fortes barreiras contra os cruzamentos entre as espécies silvestres e *M. esculenta*, permitindo fácil cruzamento por intermédio da polinização artificial (Nassar, 1986).

Estudos envolvendo hibridação interespecífica entre espécies de mandioca também foram desenvolvidos por Hahn (1990) que realizou cinco cruzamentos interespecíficos entre duas espécies de mandioca relacionadas, *M. epruinosa* ($2n=36$) e *M. glaziovii* ($2n=36$). A partir desse cruzamento interespecífico foi originado quatro tetraploides espontâneos ($2n=4x=72$) e dois triploides ($2n=3x=54$). Observou-se ainda que os indivíduos triploides e tetraploides foram vigorosos e apresentaram boa produtividade no campo.

Outra aplicação do melhoramento genético refere-se ao tempo de cocção das raízes tuberosas da mandioca quando destinada para a alimentação humana. Borges et al. (1992) relataram que os materiais promissores para o consumo humano que devem apresentar tempo de cozimento inferior a 30 minutos, a polpa cozida das raízes tuberosas deve ser facilmente esmagadas e desfeitas, formando uma pasta de textura farinácea com consistência plástica e moldável.

Rimoldi et al. (2006) avaliaram 14 cultivares de mandioca coletadas nas regiões Norte, Noroeste e Oeste do Paraná e concluíram que as cultivares Caipira, Branca 1, Amarela 1, Amarela 2 e Fécula Branca apresentaram tempo de cocção de bom a regular.

Pesquisas desenvolvidas por Guimarães et al. (2009) avaliaram o tempo de cozimento de raízes tuberosas de mandioca das principais variedades cultivadas nos municípios de Belo Campo, Cândido Sales e Vitória da Conquista no Sudoeste da Bahia. Estes autores concluíram que todas as variedades coletadas apresentaram cozimento de raízes em menos de 30 minutos e que houve tendência de redução do tempo de cozimento das raízes entre os meses de maio a julho, período em que as plantas de mandioca se encontram em repouso fisiológico (Montaldo, 1979).

Dada a prevalência de deficiência de micronutrientes entre crianças e mulheres jovens, o desenvolvimento de alimentos com nutrientes melhorados é fundamental em países pobres, como o continente Africano (Adenle et al., 2012). Raízes tuberosas com teor de proteína de até 0,04 foram obtidas em clones após a abordagem do melhoramento genético convencional por hibridação de *M. esculenta* com a espécie selvagem *M. oligantha* (Nassar & Dorea 1982). O híbrido originado foi denominado ICB 300, apresentando uma concentração de mais de 9000 mg/kg de proteína luteína por folha, em comparação com 700 mg/kg em variedades comum de mandioca (Nassar et al. 2004).

Muitos programas de melhoramento dão prioridade para o aumento da produção na cultura da mandioca. Entretanto, as finalidades do melhoramento genético na cultura da mandioca é aumentar a produtividade de raízes tuberosas destinadas à indústria, para o consumo *in natura* ou para nutrição animal (Fukuda et al., 2002). Os principais objetivos quanto ao consumo para a dieta humana é reduzir o teor de ácido cianídrico nas raízes, diminuir o tempo de cozimento e melhorar qualidade da mandioca cozida (Borges et al., 2002; Ceni et al., 2009). Já os objetivos do melhoramento destinados para a nutrição animal incluem o rendimento da parte aérea, com boa retenção foliar, alto teor de proteína e produção de matéria seca (Fukuda et al., 2002).

Visando a uma maior produtividade na cultura da mandioca, pesquisadores do Instituto Central de Pesquisa em Cultura de Tubérculos (CTCRI, Kerala, Índia) produziram variedades com alto potencial de rendimento, com produtividade que passou de 7,2 t/ha em 1961 para 26,9 t/ha no ano de 2000 (Nassar e Ortiz, 2007).

Outro objetivo de grande importância em programas de melhoramento genético da mandioca para consumo *in natura* é a obtenção de cultivares com teores reduzidos de HCN (Peroni et al., 2007), seja por melhoramento convencional ou pela

abordagem da transgenia (Siritunga e Sayre, 2003; Siritunga e Sayre, 2004; Taylor et al., 2004).

Siritunga e Sayre (2003) observaram que as plantas transgênicas de mandioca contêm os genes do citocromo P450 (CYP79D1 e CYP79D2), responsável pela catalização da síntese de linamarina. Desta forma, nestas plantas, os teores de linamarina foram reduzidos em 99% nas raízes.

Em relação à adaptação aos estresses abióticos, os principais objetivos do melhoramento genético da mandioca estão voltados para a resistência à seca, à tolerância a solos com elevado teor de alumínio (Cerrados) e a condições de frio (Subtrópico) (Fukuda et al., 2002).

Na cultura da mandioca, muitos patógenos e pragas podem reduzir sua produção, especialmente no continente africano e em muitos países da América do Sul (Dixon et al 2003; Oerke 2006). Diante dessa problemática, busca-se outros objetivos do melhoramento, como a resistência a doenças, especialmente à podridão radicular, causada por *Fusarium* spp. e *Phytophthora* sp., bacteriose (*Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*) e resistência a insetos, como os ácaros, muito comuns no Nordeste e Cerrados do Brasil (Fukuda et al., 2002). Segundo Scott et al. (2000), por volta de 2020, as raízes e tubérculos integrarão o mercado emergente, devido à sua eficiência em produção, adaptação e pela grande diversidade de produtos altamente competitivos, de alta qualidade para a alimentação humana e animal e para a indústria. Esses produtos com adaptação a zonas marginais contribuirão para a segurança alimentar, por sua grande flexibilidade em adaptar-se a sistemas de cultivos mistos, tornando-se componentes importantes das estratégias direcionadas à melhora da vida do pequeno agricultor, vinculando-o a esse mercado emergente e em crescimento. Em perspectivas futuras, o melhoramento genético convencional da mandioca tem ainda muito a oferecer, no que diz respeito à elevação de seu potencial de adaptação, produção e qualidade.

2.6. Caracterização morfoagronômica de mandioca

A caracterização e avaliação do germoplasma de mandioca são tarefas fundamentais para a eficiência da sua utilização nos trabalhos de melhoramento (Almeida et al., 1993).

A caracterização morfoagronômica dos acessos de mandioca visa, basicamente, à diferenciação fenotípica entre os acessos, contribuindo para reduzir as duplicações e selecionar aqueles que atendam às necessidades dos programas de melhoramento da cultura (Almeida et al., 1993).

Uma das formas de caracterização da variabilidade genética da mandioca disponível para os pesquisadores e melhoristas é a utilização de descritores ou marcadores morfoagronômicos, termos frequentemente utilizados em estudos que se relacionam a essa cultura. Tais marcadores ou descritores possuem grande relevância na seleção de genótipos promissores, seja para indicação de cultivo, seja para a utilização do germoplasma em programas de hibridações (Fukuda e Guevara, 1998).

Os descritores morfológicos são caracteres que contribuem para identificar e diferenciar plantas fenotipicamente e normalmente são determinados por um único alelo, possuindo alta herdabilidade (Fukuda e Guevara, 1998). Em contrapartida, os marcadores agronômicos são aqueles que colocam em evidência os genótipos mais produtivos e promissores, geralmente apresentando baixa herdabilidade (Fukuda e Guevara, 1998).

As cultivares de mandioca se distinguem de acordo com a morfologia como, por exemplo, em relação ao formato e tamanho da folha, cor do caule, comprimento e cor do pecíolo, altura da planta, inflorescência, precocidade (Nassar e Ortiz, 2007).

Rimoldi (2004), avaliando onze características morfoagronômicas de catorze cultivares de mandioca-de-mesa tradicionais coletadas nas regiões norte, noroeste e oeste do Paraná, encontrou uma ampla variabilidade genética dentro do conjunto genotípico avaliado, sendo de grande valia em programas de melhoramento locais. Elevados valores de dissimilaridade foram encontrados entre as cultivares Pão e Guaíra, Fécula Branca e Pão, bem como entre as cultivares Pão e Caipira (Rimoldi, 2004). Além da elevada distância genética entre estas cultivares, as cultivares Caipira, Branca 1, Amarela 1, Amarela 2 e Fécula Branca destacaram-se em função da elevada produção de raízes tuberosas, do elevado teor de amido e do baixo teor de ácido cianídrico nas suas raízes tuberosas, além de um tempo de cozimento de bom a regular e da relativa tolerância à bacteriose (Rimoldi et al., 2006).

Um estudo desenvolvido por Araújo et al (2005), envolvendo cinco acessos do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte, oriundos de Teresina – PI,

permitiu observar que os acessos diferiram em praticamente todos os vinte e oito descritores morfoagronômicos avaliados, com exceção para a pubescência do broto apical aos oito meses e para o hábito de crescimento no período de doze meses. A diversidade morfológica estudada permitiu inferir que os acessos se constituem de genótipos distintos.

Kvitschal (2008), utilizando 20 descritores morfoagronômicos qualitativos e 12 descritores morfoagronômicos quantitativos envolvendo acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados na região urbana de Maringá, reportou uma ampla variabilidade genética entre o germoplasma estudado, sendo que os acessos BGM 13, BGM 25, BGM 56 e BGM 223 podem ser considerados como genitores potenciais a serem utilizados em programas de melhoramento genético da mandioca.

Em acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados no município de Cianorte, região noroeste do Paraná, Zuin (2009) utilizou doze características morfoagronômicas quantitativas e dezessete características qualitativas. Ampla variabilidade genética entre estes genótipos também foi reportada e as combinações mais divergentes foram aquelas envolvendo os acessos UEM-38 e UEM-130, UEM-38 e UEM-54, UEM-126 e UEM-127, bem como entre os acessos UEM-85 e UEM-127.

Albuquerque et al. (2009) estudaram os componentes de produção e caracterizaram morfológicamente dez materiais de mandioca coletados em áreas indígenas e também nos assentamentos no estado de Roraima e concluíram que, em todos os materiais, houve diferenças morfológicas entre si e o diâmetro de raiz diferenciou melhor os materiais em relação ao comprimento das raízes. Não obstante, Elias et al. (2001) e Benesi et al. (2010) revelaram que a utilização de caracterização morfológica não foi bem sucedida em diferenciar alguns acessos devido às suas similaridades.

Nick (2010) desenvolveu um experimento realizado em Lavras, Minas Gerais que avaliou 75 clones F_1 , 19 variedades locais ou "landraces" e seis cultivares comerciais de mandioca-de-mesa a partir de sete caracteres quantitativos relacionadas à parte aérea e à produção de raízes tuberosas. O pesquisador concluiu que o rendimento de biomassa da parte aérea e o número de raízes tuberosas por planta foram mais importantes na discriminação das subamostras.

2.7. Divergência genética

A divergência genética tem sido estudada em várias culturas, visando à seleção de genitores para formação de híbridos ou mesmo para a formação de novas populações segregantes oriundas do inter cruzamento de genótipos divergentes com características agrônômicas complementares (Machado et al., 2002; Barbieri et al., 2005; Bonett et al., 2006; Viana et al., 2006; Amorim et al., 2007; Arriel et al., 2007).

O estudo da divergência genética permite conhecer o grau da variabilidade genética das populações vegetais e também subsidia a seleção de genitores geneticamente mais divergentes, que poderão ser utilizados em inter cruzamentos para se obter efeito heterótico na geração híbrida e aumentar a probabilidade de recuperação de segregantes superiores (Cruz e Regazzi, 2001).

Segundo Cruz e Regazzi (2001), a avaliação da divergência genética entre indivíduos pode ser efetuada tanto por meio de técnicas biométricas de natureza quantitativa, quanto por meio de métodos preditivos. Entre os métodos baseados em modelos biométricos, pode-se citar a análise dialélica, fundamentada na avaliação da capacidade combinação, bem como da heterose entre os genitores, manifestada nos híbridos resultantes do cruzamento, sendo um método mais trabalhoso, e que requer um maior tempo de pesquisa. Em contrapartida, os métodos preditivos não necessitam a geração prévia de combinações híbridas e, por isso, tem recebido ênfase considerável. Os métodos preditivos consideram as variações morfológicas, fisiológicas e moleculares entre os genitores na determinação da divergência entre eles, a qual é normalmente estimada por uma medida de dissimilaridade entre os indivíduos da população em estudo (Cruz e Regazzi, 2001).

2.7.1. Medidas de dissimilaridade

Para características qualitativas, o cálculo do índice de similaridade (s_{it}) toma por base as concordâncias e discordâncias de informações fenotípicas entre os acessos para as diversas características qualitativas analisadas (Cruz e Carneiro, 2006) cujo índice pode ser expresso por:

$$s_{it} = \frac{C}{C + D}$$

Onde: s_{ij} expressa o grau de similaridade entre os acessos i e i' ;

C : expressa a concordância de categoria;

D : expressa a discordância de categoria.

Na avaliação da divergência genética, a medida requerida é a dissimilaridade, a qual pode ser facilmente estimada pelo complemento do Índice de Dissimilaridade (d_{ij}), expresso pelo complemento da dissimilaridade:

$$d_{ij} = 1 - s_{ij}$$

Onde: d_{ij} : expressa o grau de dissimilaridade entre os genótipos i e i' ;

s_{ij} : expressa o grau de similaridade entre os genótipos i e i' .

No que se refere às variáveis quantitativas, as medidas de dissimilaridade mais comumente utilizadas são a Distância Euclidiana Média e a Distância Generalizada de Mahalanobis (d^2_{ij}). Entretanto, a Distância Generalizada de Mahalanobis é utilizada somente quando há ensaios experimentais com repetições (Cruz e Carneiro, 2006). Como o objeto de análise tem como base um Banco de Germoplasma e, portanto, é desprovida de ensaios experimentais com repetições, fica inviável a utilização da Distância Generalizada de Mahalanobis. Para contornar esse fato uma opção viável é a utilização da estimação pela Distância Euclidiana, sendo dada pela seguinte expressão:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum (x_{ij} - x_{i'j})^2}$$

Onde d_{ij} : distância euclidiana entre os genótipos i e i' ;

x_{ij} : média do i -ésimo genótipo, em relação ao j -ésimo caráter.

Segundo Cruz e Regazzi (2001), a Distância Euclidiana apresenta alguns problemas, entre eles o fato de a variação das medidas de dissimilaridade ocorrer de acordo com a escala métrica das diversas características avaliadas. Outro problema decorrente da estimação da divergência por meio da Distância Euclidiana é que o número de características e a correlação entre elas influenciam na estimação da dissimilaridade genética. Uma padronização dos dados pode corrigir o problema causado pela diferença nas escalas métricas das características analisadas, utilizando a fórmula:

$$x_{ij} = \frac{x_{ij}}{s(x_j)}$$

Onde: x_{ij} : medida padronizada dos dados;

X_{ij} : média do i -ésimo genótipo, em relação ao j -ésimo caráter;

$S(X_j)$: desvio-padrão dos dados do j -ésimo caráter.

Esta padronização dos dados elimina o problema causado pela diferença de escala das características, mas não elimina o problema inerente das variações causadas pelo número de características. Pode-se considerar a dissimilaridade média entre os pares de genótipos, de forma que a expressão que permite estimar a Distância Euclidiana Média é dada por:

$$d_{ii'} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_j (x_{ij} - x_{i'j})^2}$$

Onde: $d_{ii'}$: distância euclidiana média entre os acessos i e i' ;

x_{ij} : média do i -ésimo acesso, em relação ao j -ésimo caráter;

$x_{i'j}$: média do i' -ésimo acesso, em relação ao j -ésimo caráter;

n : número de características estudadas.

2.7.2. Métodos de agrupamento

A principal função da análise de agrupamento se baseia no fato de reunir genitores em vários grupos (Cruz e Regazzi, 2001), de maneira que ocorra homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os grupos, tornando mínima a variação dentro dos grupos e maximizando a variância entre eles ou, ainda, dividir um grupo original de observações em vários grupos. O sistema de agrupamento envolve basicamente duas etapas. A primeira relaciona-se com estimação de uma medida de similaridade (ou dissimilaridade) entre os genitores e a segunda com a adoção de uma técnica de agrupamento para a formação dos grupos (Cruz e Regazzi, 2001). Os métodos de agrupamento facilitam a avaliação da diversidade genética, quando o número de indivíduos envolvidos no estudo é relativamente grande, o que torna extremamente difícil o reconhecimento de grupos homogêneos por meio do exame visual das estimativas. Para facilitar este estudo, utilizam-se os métodos de aglomeração, que podem ser hierárquicos ou de

otimização (Cruz e Regazzi, 2001).

O método de agrupamento envolve basicamente duas etapas. A primeira relaciona-se com estimação de uma medida de similaridade (ou dissimilaridade) entre os progenitores; a segunda refere-se à adoção de uma técnica de agrupamento para a formação dos grupos (Cruz e Regazzi, 2001).

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir grupos homogêneos e separar grupos heterogêneos (Cruz et al., 2004) e os métodos de agrupamento mais utilizados no melhoramento genético de plantas são os hierárquicos e os de otimização (Cruz et al., 2004).

Segundo Cruz et al. (2004), pelos métodos hierárquicos, os grupos são formados por um processo que se repete em vários níveis até que seja formado o dendrograma ou o diagrama de árvore (Cruz et al., 2004). Como exemplo de método hierárquico, tem-se o método do 'Vizinho Mais Próximo' (Cruz e Regazzi, 2001; Cruz e Carneiro, 2003), embora o método UPGMA (*Unweighted pair-group method with arithmetic average*) também tenha sido sendo amplamente utilizado mais recentemente. O método do Vizinho mais Próximo identifica a matriz de dissimilaridade, com progenitores mais similares reunidos para formar o grupo inicial. Posteriormente, são calculadas as distâncias daquele grupo em relação aos demais acessos e, nos estágios mais avançados, em relação a outros grupos já formados (Cruz e Regazzi, 2001).

A distância entre uma progênie k e um grupo formado pelas progênies i e j é calculada por:

$$d_{(ij)k} = \min\{d_{ik}, d_{jk}\}$$

$d_{(ij)k}$ é dado pelo menor elemento do conjunto das distâncias dos pares de progênies (i e k) e (j e k).

A distância entre dois grupos é dada por:

$$d_{(ij)(kl)} = \min\{d_{ik}, d_{il}, d_{jk}, d_{jl}\}$$

A distância entre dois grupos formados, respectivamente, pelas progênies (i e j) e (k e l) é dada pelo menor elemento do conjunto, cujos elementos são as distâncias entre os pares de progênies (i e k), (i e l), (j e k) e (j e l). No agrupamento estabelecido pelo método de otimização de Tocher é adotado um critério do maior entre os mínimos, ou seja, o acréscimo médio na distância intragrupo, pela inclusão

de um novo cruzamento a um dado grupo, deve ser menor ou igual ao limite adotado (Cruz e Regazzi, 2001).

2.8. Marcadores moleculares

Os marcadores moleculares, como os polimorfismos de DNA amplificado ao acaso (RAPD) e fragmentos de DNA de comprimento polimórfico (RFLPs), foram utilizados pela primeira vez em mandioca para o estudo da diversidade genética dentro do gênero *Manihot* (Marmey et al., 1993). Mais tarde, foram utilizados os polimorfismos no comprimento de fragmentos amplificados (AFLPs) utilizados para compreender a diferenciação genética em mandioca (Roa et al., 1997; Elias et al., 2000; Fregene et al., 2000). No primeiro mapa genético da mandioca foi utilizado as metodologias baseadas nos marcadores AFLP, RAPD e isoenzimas (Fregene et al., 1997). Na última década, no entanto, estes tipos de marcadores têm sido em grande parte substituído pelos marcadores microssatélites (SSR) (Ferguson et al., 2012). Marcadores microssatélites ou SSR (Sequências Simples Repetitivas) são sequências de um a seis nucleotídeos de comprimento, repetidas em *tandem* e distribuídas ao acaso no genoma, as quais constituem um *locus* genético altamente variável, multialélico e de expressão codominante (Li et al., 2010).

Os marcadores SSR (Simple Sequence Repeats) são mais informativos e são frequentemente utilizados em pesquisas para estimar a diversidade genética e a estrutura populacional de várias espécies de cultivares distribuídas no mundo (Collard et al., 2005; Raghu et al., 2007; Agarwal et al., 2008; Raji et al., 2009, Sree Lehka et al., 2010; Kalia et al., 2011; Turyagyenda et al., 2012). O uso desta técnica revela o polimorfismo devido à diferença no tamanho das seqüências repetitivas do alelo encontradas no locus. Vários *loci* podem ser analisados simultaneamente quando os alelos apresentam tamanhos diferentes (Ortiz, 2013).

Inicialmente, os marcadores microssatélites foram utilizados em estudos de genética humana por Litt e Luty (1989) e Weber e May (1989), sendo o polimorfismo em um *locus* caracterizado pelas diferenças no tamanho dos alelos identificados, o que ocorre basicamente pelo número de repetições que determinada sequência possui. Pesquisas realizadas por Buso et al. (2003) descreveram que as variações no número de repetições constituem uma variação no comprimento do segmento detectado, utilizando a técnica de PCR e posterior separação dos fragmentos

amplificados em gel não desnaturante por eletroforese.

Powell et al. (1996) reportaram que, em vegetais, o uso de marcadores microssatélites têm sido satisfatório mesmo que sua ocorrência, se comparado aos seres humanos, seja cinco a dez vezes menor. Em 34 espécies, a presença dos sítios de microssatélites foi constatada (entre elas a mandioca *M. esculenta* Crantz), sendo amplamente distribuídos com frequência de um sítio a cada 21 Kb e o dinucleotídeo AT foi o mais comum (Pinto et al., 2001).

Na avaliação da divergência genética, especificamente na mandioca, os marcadores microssatélites têm sido amplamente utilizados entre os germoplasmas disponíveis (Mühlen et al., 2000; Fregene et al., 2003; Mkumbira et al., 2003; Elias et al., 2004; Lokko et al., 2006; Raghu et al., 2007; Moyib et al., 2007; Siqueira et al., 2009; Monteiro-Rojas et al., 2011; Asare et al., 2011; Turyiagienda et al., 2012; Costa et al., 2013; Ortiz, 2013; Mezette et al., 2013, Kawuki et al., 2013; Ferreira, 2014).

Mühlen et al. (2000) analisaram a diversidade genética de etnovarietades de mandioca de diferentes locais de origem e diferentes tipos de uso e concluíram que a variabilidade dos *loci* de microssatélites é bastante superior à detectada por RAPD ou AFLP e foi possível observar a diferenciação do germoplasma de mandioca em dois grupos: variedades bravas e variedades mansas.

Fregene et al. (2003) avaliaram a diversidade de 283 cultivares *landraces* de mandioca de países da África (Tanzânia e Nigéria) e de países do neotrópico (Brasil, Colômbia, Peru, Venezuela, Guatemala, México e Argentina) pelo uso de marcadores SSR. Os marcadores revelaram alto grau de polimorfismo, em média $94 \pm 1,06\%$, e as cultivares oriundas da Colômbia e do Brasil propiciaram o polimorfismo mais elevado, 98,5% e 100%, respectivamente.

Mkumbira et al. (2003), usando sete *loci* de microssatélites para avaliar 277 genótipos cultivados por agricultores da região de Malawi na África, encontraram altos níveis de polimorfismo e a pressão de seleção existente preservou a forte diversidade encontrada nos *loci*.

Elias et al. (2004), por meio dos marcadores microssatélites, analisaram a estrutura genética de mandioca-de-mesa e de mandioca brava coletadas em cinco localidades da América do Sul. Foi evidenciada uma diferenciação genética entre variedades bravas e mansas, sugerindo que cada forma tenha evoluído separadamente após a domesticação.

Lokko et al. (2006), utilizando 18 *primers* microssatélites em cultivares

tradicionais e comerciais resistentes e susceptíveis ao CMD (*Cassava mosaic disease*), pelo método UPGMA, relataram cinco grupos. Os três primeiros apresentaram um maior número de cultivares melhoradas (resistentes ao Vírus do Mosaico da Mandioca – CMD); os outros apresentaram um maior número de cultivares tradicionais susceptíveis, as quais apresentaram maior variabilidade entre si quando comparadas as cultivares comerciais.

Moyib et al. (2007) analisaram a divergência genética de 36 acessos de mandioca cultivados na Nigéria, sendo seis cultivares tradicionais e 31 cultivares melhoradas. Com os resultados das análises do coeficiente de similaridade de Jaccard e da Análise de Componentes Principais, os autores concluíram que a divergência genética dentro do grupo das cultivares melhoradas foi maior que a registrada para o grupo das cultivares tradicionais, devido ao fato de que para a composição destas cultivares melhoradas foram utilizados acessos de outras regiões do continente e de outras regiões do mundo. A pequena divergência entre as cultivares tradicionais era esperada devido às trocas entre os produtores, além do fluxo gênico entre as cultivares trocadas.

Raghu et al. (2007) utilizaram 15 *primers* SSR para acessar a diversidade genética de cultivares de mandioca da região Sul da Índia, encontrando um total de 71 alelos, com 86,56% de polimorfismo.

Em trabalhos desenvolvidos por Siqueira et al. (2009) foram analisadas a diversidade de 42 cultivares *landraces* de mandioca oriundas de cinco regiões do Brasil, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Amazonas e São Paulo pelo uso de marcadores SSR. Os marcadores revelaram alto grau de polimorfismo, em média 88,8% a 100%, com uma média de 0,265 para heterozigosidade observada. Os autores reportaram um valor elevado de 0,570 para a diversidade genética em todas as regiões estudadas. Além disso, os acessos de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Amazonas foram agrupados em um mesmo subgrupo, devido à grande similaridade dos acessos coletados nestas localidades. Os acessos de Minas Gerais e Mato Grosso foram agrupados em subgrupos diferentes, sendo os acessos de Mato Grosso os mais divergentes. Evidências sobre movimentos migratórios e trocas de acessos entre produtores das diferentes regiões reforçam a similaridade existente entre os acessos do primeiro subgrupo. Portanto, Siqueira et al. (2009) demonstraram a utilidade dos marcadores microssatélites na avaliação da diversidade genética e também da estrutura populacional dos acessos de mandioca-

de-mesa.

Monteiro-Rojas et al. (2011) analisaram a diversidade genética e a estrutura populacional de 183 acessos oriundos da ilha de Porto Rico com um total de 33 pares de primers microssatélites. O resultado obtido foi a formação de três grupos distintos, exibindo alta diversidade genética e heterozigosidade.

Asare et al. (2011) avaliaram a diversidade genética de mandioca mediante o uso de 14 descritores morfológicos e 22 marcadores moleculares microssatélites provenientes de Ghana. A diversidade genética média encontrada, considerada elevada, foi de 0,58 e heterozigosidade média de 0,77. Os descritores moleculares e morfológicos agruparam os acessos em *clusters* diferentes, com divisão em nove e quatro grupos, respectivamente.

Em um trabalho envolvendo 51 *landraces* e 15 acessos elite de mandioca de Uganda, Turyiagienda et al. (2012) analisaram a diversidade genética entre os indivíduos utilizando 26 marcadores microssatélites e detectaram um total de 154 alelos e 24% deles estavam contidos apenas nas *landraces*. Neste estudo, 100% dos marcadores estudados foram polimórficos, tanto para as cultivares comerciais como para as cultivares tradicionais.

Analizando a diversidade genética e a estrutura populacional mediante o uso de 13 marcadores microssatélites em 122 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa oriundos de Cianorte, Toledo e Maringá, Ortiz (2013) obteve uma alta variabilidade genética e a formação de 4 grupos distintos. Os grupos que mais se distanciaram apresentavam em sua maioria acessos de Toledo e de Maringá. O estudo de Ortiz (2013) ainda pode recomendar as combinações mais divergentes entre os acessos envolvendo o acesso BGM 20, que apresenta floração e características agrônômicas favoráveis.

Um estudo desenvolvido por Costa et al. (2013) analisou a divergência genética de 66 amostras de mandioca coletadas na região urbana do município de Maringá, PR utilizando 13 pares de primers microssatélites. Pelo estudo, foi comprovado ampla variabilidade genética entre os acessos coletados e sua estrutura populacional foi distribuída em dois grupos distintos, apresentando poucos ancestrais.

Mezette et al. (2013) utilizou 13 marcadores moleculares SSR e 12 descritores morfológicos afim de caracterizar a diversidade genética e a estrutura populacional de acessos de mandioca de diferentes regiões do Brasil. Os resultados

moleculares corroboraram os morfológicos e mostraram a mesma distribuição aleatória dos genótipos, com ausência de agrupamento quanto ao local de origem, o que indica que a diversidade não está estruturada no espaço. A maior parte da variação ocorreu dentro das populações (95,6%). Os índices de diversidade encontrados foram elevados para cada região e a maior parte da diversidade foi observada dentro de regiões com valor médio encontrado de 0,678 e heterozigosidade média observada de 0,499. Pela ausência de estrutura espacial entre os genótipos de mandioca, de acordo com suas origens, o trabalho mostrou grande influência antrópica e ampla troca de acessos de germoplasma tanto entre como dentro de regiões.

Kawuki et al. (2013), utilizando 26 pares de primers e 1443 cultivares e acessos tradicionais de mandioca, provenientes de vários países africanos, obtiveram como resultado 192 alelos, com uma média de 7,38 alelos por *locus*. O índice de diversidade genética médio encontrado foi de 0,57, considerado elevado. A população foi dividida em 3 grupos, aos quais as Cultivares do Quênia, Uganda, República Democrática do Congo e Ruanda pareceram relativamente semelhante, enquanto os de Madagascar, Tanzânia e Moçambique foram mais distintos.

Ferreira (2014), utilizando 19 pares de *primers* da série GA e SSRYY, avaliou a diversidade genética e estrutura populacional de 60 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa, coletados na região urbana e periurbana de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Os resultados mostraram uma média de 4,6 alelos por *locus*, heterozigosidade média observada de 0,8625 e diversidade genética média de 0,6009. A estrutura da população dos acessos coletados na zona urbana e periurbana de Campo Grande ficou dividida em 2 grupos distintos.

Fu et al. (2014) estudaram a diversidade genética e a estrutura populacional de 266 acessos de mandioca coletados em 80 fazendas e 16 cultivares tailandesas lançadas na década de 70. Os 35 pares de *primers* SSRY utilizados revelaram grande heterogeneidade regional na diversidade de mandioca, com forte diferenciação genética dos clones testados entre os locais coletados. O número de alelos detectado por *locus* variou de 2 a 21, com uma média de 10,4. Pelo método probabilístico proposto por Pritchard et al. (2000), a estrutura populacional dos acessos tailandeses ficou dividida em onze grupos distintos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta e plantio dos acessos de **mandioca-de-mesa**

A coleta dos 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa utilizados neste estudo foi efetuada nos municípios de Poços de Caldas, Botelhos, Caldas e Alfenas, situados na região Sul de Minas Gerais (Quadro 1 e Figura 1).

O município de Poços de Caldas está localizado a 21°47' de latitude Sul e 46°33' de latitude Oeste, a uma altitude média de 1235 m. O clima de Poços de Caldas é o tropical de altitude, com elevado índice de umidade e temperatura média anual de 18 °C (Köppen e Geiger, 1928; Wikimedia, 2008).

Caldas está situado a 21°55' de latitude Sul e 46°23' de latitude Oeste a uma altitude de 1133 m. O clima predominante é o tropical de altitude, apresentando temperatura média anual de 18 °C (Köppen e Geiger, 1928; Wikimedia, 2008).

O município de Botelhos situa-se a 21°39' de latitude Sul e 46°23' de latitude Oeste e está a uma altitude de 1003 m. O clima predominante é o tropical de altitude, com temperatura média anual de 18 °C (Köppen e Geiger, 1928; Wikimedia, 2008).

Alfenas situa-se a 21°25' de latitude Sul e 45°56' de latitude Oeste, com altura média de 817 m. O clima de Alfenas é o tropical de altitude, com temperatura média anual de 18 °C (Köppen e Geiger, 1928; Wikimedia, 2008).

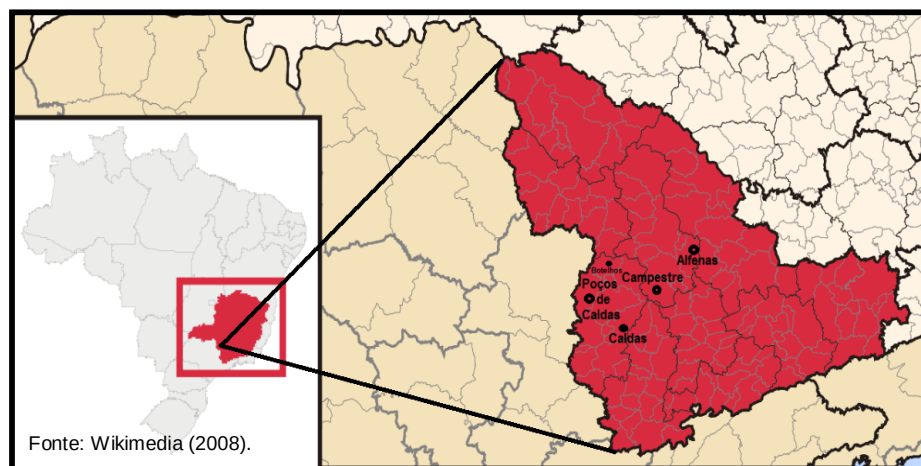


Figura 1 – Localização geográfica dos municípios do Sul de Minas Gerais escolhidos para a coleta dos acessos de mandioca.

Os acessos de mandioca-de-mesa foram coletados em pequenas áreas de cultivo, nos diferentes bairros dos municípios amostrados, sendo coletadas de cinco a dez ramas adultas, com ciclo entre 8 a 10 meses, seguindo orientações de Lorenzi e Dias (1993). Na coleta das plantas adultas, foi observada a variabilidade fenotípica entre plantas, ou seja, presença de diferenças morfológicas entre elas. Posteriormente, as ramas de cada acesso foram catalogadas, de acordo com a sua origem e características e, na sequência, as mesmas foram plantadas na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), passando a fazer parte do Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca (BGM-FEI-UEM).

Quadro 1 – Local de coleta dos acessos tradicionais de mandiocas de mesa em Poços de Caldas, Caldas, Alfenas e Botelhos, já catalogados no Banco Ativo de Germoplasma da FEI – UEM

Acesso	Local da Coleta	Acesso	Local da Coleta
BGM 634	Village, Poços de Caldas	BGM 660	Estrada BR 459, Caldas
BGM 635	Sta Rosália, Poços de Caldas	BGM 661	Santana, Poços de Caldas
BGM 636	Sta Rosália, Poços de Caldas	BGM 662	Santa Cruz, Botelhos
BGM 637	Santana, Poços de Caldas	BGM 663	Rua Tiradentes, Botelhos
BGM 638	Santana, Poços de Caldas	BGM 664	CREBOJA, Botelhos
BGM 639	Village, Poços de Caldas	BGM 665	CREBOJA, Botelhos
BGM 640	Campo das Antas, Poços de Caldas	BGM 666	CREBOJA, Botelhos
BGM 641	Campo das Antas, Poços de Caldas	BGM 667	Santana, Poços de Caldas
BGM 642	Alfenas	BGM 668	Santa Cruz, Botelhos
BGM 643	Alfenas	BGM 669	Santa Cruz, Botelhos
BGM 644	Vila Togni, Poços de Caldas	BGM 670	Pica Pau Amarelo, Botelhos
BGM 645	Jd. Kenedy, Poços de Caldas	BGM 671	Pica Pau Amarelo, Botelhos
BGM 646	Jd. Kenedy, Poços de Caldas	BGM 662	Pica Pau Amarelo, Botelhos
BGM 647	Jd. Kenedy II, Poços de Caldas	BGM 673	Santana, Poços de Caldas
BGM 648	Jd. Kenedy II, Poços de Caldas	BGM 674	Santana, Poços de Caldas
BGM 649	Jd. Kenedy II, Poços de Caldas	BGM 675	Sta. Rosália, Poços de Caldas
BGM 650	Alfenas	BGM 676	Herculano do Lago, Botelhos
BGM 651	Jd. Kenedy II, Poços de Caldas	BGM 677	Sta. Cruz Botelhos
BGM 652	Jd. Kenedy II, Poços de Caldas	BGM 678	Sta. Cruz, Botelhos
BGM 653	Campo das Antas, Poços de Caldas	BGM 680	Casa dona Benedita, Botelhos
BGM 654	São José II, Poços de Caldas	BGM 681	Sta. Rosália, Poços de Caldas
BGM 655	Cond. das Antas, Poços de Caldas	BGM 682	Sta. Rosália, Poços de Caldas
BGM 656	Cond. das Antas, Poços de Caldas	BGM 683	Sta. Rosália, Poços de Caldas
BGM 657	Santana, Poços de Caldas	BGM 690	Santana, Poços de Caldas
BGM 658	Estrada BR 459, Caldas	BGM 686	IAC 576-70*
BGM 659	Estrada BR 459, Caldas		

*A variedade IAC 576-70 (BGM 686) foi utilizada como testemunha.

3.2. Caracterização morfoagronômica

A caracterização morfoagronômica dos acessos foi realizada de acordo com descritores morfoagronômicos propostos por Fukuda et al. (2010). Foram analisadas 15 características qualitativas da parte aéreas das plantas, ilustradas no Apêndice A (Figuras 1A a 13A), e sete características quantitativas, dispostas no Apêndice B (Figuras 1B a 7B).

As características qualitativas avaliadas foram:

a) Coloração da brotação nova: 1 - verde claro; 2 - verde escuro; 3 - verde arroxeadado; 4 - roxo.

b) Formato do lóbulo foliar: 1- ovóide; 2 - elíptico-lanceolada; 3 – obovado lanceolado; 4 – oblongo lanceolado; 5 – lanceolado; 6 – linear; 7 – pandurado; 8 – linear piramidal; 9 – linear pandurado.

c) Coloração do pecíolo: 1 - verde-amarelado; 2 – verde; 3 – verde-avermelhado; 4 – vermelho-esverdeado; 5 – vermelho; 6 – roxo.

d) Coloração da folha: 1 - verde claro; 2 - verde escuro; 3 - verde arroxeadado; 4 - roxo.

e) Posição do pecíolo: 1 - inclinados para cima; 2 – horizontal; 3 - inclinados para baixo; 4 – irregular.

f) Ocorrência de florescimento: 1 - ausência; 2 - presença.

g) Tamanho da cicatriz foliar: 1 - semiproeminente; 2 - proeminente.

h) Coloração da rama imatura: 1 – laranja; 2 - verde-amarelado; 3 – dourado; 4 - marrom claro; 5 - verde-prateado; 6 - marrom escuro.

i) Coloração da epiderme do caule: 1 – laranja, 2 – verde claro, 3 – verde escuro.

j) Tamanho da estípula: 1 - curta; 2 - longa.

k) Frutificação: 1 - ausência; 2 - presença.

l) Hábito de Ramificação: 1 - ereto; 2 - dicotômico; 3 - tricotômico; 4 - tetracotômico.

m) Sinuosidade do pecíolo: 1 - muito sinuoso, 2 – pouco sinuoso, 3 – ausência de sinuosidade.

n) Incidência de bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*), realizada conforme metodologia sugerida por Ramos e Takatsu (1987): 1 - ausência

de sintomas; 2 - poucas manchas nas folhas; 3 - 50% das folhas com manchas; 4 - queda de folhas; 5 - plantas com total desfolha.

o) Incidência de superalongamento (*Sphaceloma manihoticola*) realizada conforme metodologia sugerida por Fukuda et al. (1986): 1) baixa ou nenhuma incidência; 2) média incidência; 3) elevada incidência.

As características quantitativas avaliadas foram:

a) Número de lóbulos foliares, obtido pela contagem do número de lóbulos por folha dispostas no terço médio de dez plantas de cada acesso: 1 - três lóbulos; 2 - cinco lóbulos; 3 - sete lóbulos; 4 - nove lóbulos.

b) Comprimento médio do lóbulo foliar, expresso em cm, obtido pela medição da distância do ponto de inserção dos lóbulos ao pecíolo até a extremidade longitudinal do lóbulo central das folhas de dez plantas de cada acesso.

c) Largura média do lóbulo foliar, expressa em cm, obtida pela medição da largura do lóbulo foliar, na sua porção mediana, em dez plantas de cada acesso.

d) Comprimento médio do pecíolo, expresso em cm, obtido pela medição do comprimento de pecíolos em folhas dispostas no terço médio de dez plantas de cada acesso.

e) Distância de entrenós, expressa em cm, obtido pela medição da distância entre as cicatrizes foliares dispostas no mesmo plano vertical da rama de dez plantas de cada acesso.

f) Altura média de plantas expressa em metros, obtida pela medição da distância entre o solo e a extremidade da brotação nova, em dez plantas de cada acesso.

g) Altura média da primeira ramificação expressa em metros, obtida pela medição da distância entre o solo e a primeira ramificação da parte aérea de dez plantas de cada acesso.

3.3. Avaliação da divergência genética por caracteres morfoagronômicos

A avaliação das características morfoagronômicas qualitativas foi realizada por meio de variáveis multicategóricas, seguindo recomendação de Cruz e Carneiro (2006). O cálculo do índice de similaridade ($s_{ii'}$) tomou como premissa as concordâncias e discordâncias de informações fenotípicas entre os acessos para as diversas características qualitativas avaliadas. Entretanto, uma vez que as técnicas

de agrupamento são embasadas em medidas de dissimilaridade, foi necessário estimar o complemento aritmético do índice de similaridade ($d_{ij'} = 1 - s_{ij'}$), que representa a dissimilaridade entre os acessos tradicionais. Quanto às características morfoagronômicas quantitativas, as médias fenotípicas foram utilizadas para estimar a Distância Euclidiana Média ($d_{ij'}$) entre os acessos de mandioca-de-mesa. Duas matrizes de dissimilaridade foram geradas, sendo uma referente às características morfoagronômicas qualitativas ($s_{ij'}$) e outra referente às características morfoagronômicas quantitativas ($d_{ij'}$).

Ambas as matrizes de dissimilaridade foram utilizadas para a aplicação do método hierárquico do Vizinho Mais Próximo (UPGMA).

3.4. Extração e quantificação de DNA

3.4.1. Extração do DNA

As ramas de cada uma das 51 cultivares tradicionais quando maduras foram coletadas, identificadas, seccionadas em manivas de aproximadamente 0,20 m de comprimento, plantadas em sacos com areia lavada e mantidas em casa de vegetação do Núcleo de Pesquisa Aplicada a Agricultura (Nupagri-UEM). Posteriormente, por ocasião da brotação das manivas, efetuou-se a coleta das folhas jovens de cada acesso tradicional, as quais foram acondicionadas em pacotes de papel alumínio previamente identificados. Os pacotes contendo as folhas coletadas foram imediatamente mergulhados em nitrogênio líquido. Na sequência, estas amostras foram transportadas ao Laboratório de Melhoramento de Feijão Comum e de Biologia Molecular do Nupagri, onde procedeu-se à extração de DNA utilizando-se o protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983).

3.4.2. Quantificação e amplificação do DNA

O DNA obtido das 51 cultivares tradicionais após a extração foi quantificado via Fluorímetro Qubit® (Qubit Fluorometer Invitrogen). Baseando-se nas leituras obtidas, o DNA foi diluído com o objetivo de padronizar todas as amostras a uma concentração final de 50 ng μL^{-1} de DNA. As amostras de DNA diluído foram amplificadas, via PCR, em tiras de oito tubos específicos, com parede translúcida e

capacidade para 500 µL. Em cada tubo, foi aplicada uma alíquota homogeneizada da solução de trabalho (DNA) da ordem de 5,0 µL, adicionando-se, posteriormente, os outros componentes para a reação, em forma de um *mix*, com volume final de 25 µL (Chavarriaga-Aguirre et al., 1998; Mba et al., 2001).

Dessa maneira, cada reação (25 µL) foi composta por: 50 ng de DNA; 0,25 mM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP); 1,5 mM de MgCl₂; 10mM de tampão PCR *Buffer* 10x - MgCl₂ (Invitrogen); 0,08 µM de cada *primer* (senso e antisenso), uma unidade de Taq polimerase (Perkin Elmer-Cetus Corp.) e água ultrapura (q.s.p.). As reações de PCR foram conduzidas mediante programas específicos, em termociclador (Techne Endurance TC-512, Analítica). Os ciclos de amplificação para os *primers* — SSRY foram realizados nas seguintes etapas: uma etapa de desnaturação a 95 °C, por um minuto, uma etapa de anelamento do primer ao DNA (Quadro 2), com temperatura variável, de acordo com o primer e duração de dois minutos, e uma etapa de elongação da fita a 72 °C, por dois minutos. Foram realizados 30 ciclos, posteriores à etapa inicial de desnaturação, a 94 °C, por 5 minutos. Ao final dos 30 ciclos, uma última etapa de elongação foi realizada, a 72 °C, por 5 minutos (Mba et al., 2001). Por sua vez, os programas de amplificação para os *primers* - GA foram constituídos das seguintes etapas: uma etapa de desnaturação, a 94 °C, por dois minutos; 30 ciclos, de 94 °C, por 1 minuto, 1 minuto para anelamento do *primer* ao DNA, variando entre 45 e 59 °C e extensão a 72 °C, por 2 minutos; e uma terceira etapa, de 72 °C, por 5 minutos (Chavarriaga-Aguirre et al., 1998).

3.5. Marcadores moleculares SSR

Neste estudo, foram utilizados 20 pares de *primers* microsatélites (Quadro 2) das séries: SSRY e GA desenvolvidos por Chavarriaga-Aguirre et al. (1998) e Mba et al. (2001). Os fragmentos foram amplificados e posteriormente separados via eletroforese, utilizando como base o gel de poliacrilamida não desnaturante, sob concentração de 10%. Após polimerização do gel, as amostras foram aplicadas, uma amostra por poço, sendo estas previamente preparadas, misturando-se 8,0 µL do tampão de carregamento *Loading Buffer* 6x. Uma alíquota de 10 µL do DNA juntamente com o buffer foi aplicada em cada poço.

Quadro 2 – Informações sobre as especificidades dos *loci* microssatélites analisados nos 51 acessos de mandioca-de-mesa coletados na região Sul de Minas Gerais

<i>Loci</i>	Primer (5' – 3') ¹	RA ² (pb)	TA ³ (°C)	Ref ⁴
GA57	F': AGCAGAGCATTTACAGCAAGG R': TGTGGAGTTAAAGGTGTGAATG	153-183	59	A
GA134	F': ACAATGTCCCAATTGGAGGA R': ACCATGGATAGAGCTCACCG	309-337	59	A
GA136	F': CGTTGATAAAGTGGAAAGAGCA R': ACTCCACTCCCGATGCTCGC	145-165	55	A
GA 21	F': GGCTTCATCATGGAAAAACC R': CAATGCTTTACGGAAGAGCC	104-126	58	A
GA131	F': TTCCAGAAAGACTTCCGTTCA R': CTCAACTACTGCACTGCACTC	75-19	54	A
GA12	F': GATTCTCTAGCAGTTAAGC R': CGATGATGCTCTTCGGAGGG	131-157	57	A
GA126	F': AGTGGAAATAAGCCATGTGATG R': CCCATAATTGATGCCAGGTT	176-214	58	A
GA127	F': CTCTAGCTATGGATTAGATCT R': GTAGCTTCGAGTCGTGGGAGA	203-239	57	A
GA140	F': TTCAAAGGAAGCCTTCAGCTC R': GAGCCACATCTACTGCACACC	154-164	55	A
SSRY13	F': GCAAGAATTCCACCAGGAAG R': CAATGATGGTAAGATGGTGCG	234	55	B
SSRY19	F': TGTAAGGCATTCCAAGAATTAA R': TCTCCTGTGAAAAGTGCATGA	214	55	B
SSRY21	F': CCTGCCACAATATTGAAATGG R': CAACAATTGGACTAAGCAGCA	192	55	B
SSRY45	F': TGAAACTGTTTGCAAATTACGA R': TCCAGTTCACATGTAGTTGGCT	228	55	B
SSRY101	F': GGAGAATACCACCGACAGGA R': ACAGCAGCAATCACCATTTC	213	55	B
SSRY135	F': CCAGAAACTGAAATGCATCG R': AACATGTGCGACAGTGATTG	253	45	B
SSRY35	F': GCAGTAAAACCATTCCTCCAA R': CTGATCAGCAGGATGCATGT	277-285	55	B
SSRY100	F': ATCCTTGCCTGACATTTTGC R': GGAGAATACCACCGACAGGA	209-273	55	B
SSRY51	F': AGGTTGGATGCTTGAAGGAA R': GGATGCAGGAGTGCTCAACT	298	55	B
SSRY28	F': TTCCAGACCTGTTCCACCAT R': ATTGCAGGGATTATTGCTCG	100-120	55	B
SSRY27	F': ACAATTCATCATGAGTCATCAACT R': CCGTTATTGTTCTGGTCCT	265-280	55	B

¹ Primer: Forward (F') e Reverse (R'); ² RA - Região de amplificação, em pares de bases (pb); ³ TA - Temperatura de anelamento utilizada; ⁴ Ref - Referência: A - Chavarriaga-Aguirre et al. (1998); B - Mba et al. (2001).

Os produtos da PCR e o marcador molecular padrão de 100 pb (*Ladder* – Invitrogen) passaram pelo processo de eletroforese em cuba vertical, por aproximadamente 3 h e 30 minutos, a uma voltagem de 100 V. O tampão utilizado, condutor da corrente elétrica na cuba, foi o TBE 1X (Trisborato EDTA). Os géis obtidos foram submetidos ao processo de coloração por SYBR® Safe DNA gel stain

(Life Technologies™) e digitalizados (arquivados em formato JPEG) por meio do Sistema de Fotodocumentação L-Pix EX (Loccus Biotecnologia). As imagens obtidas foram identificadas de acordo com o *primer* e armazenadas para posterior análise de polimorfismo.

3.6. Análises estatísticas a partir dos resultados obtidos por meio dos marcadores microssatélites

As imagens obtidas a partir dos géis com os fragmentos de DNA, amplificados e separados, foram submetidas à estimativa do tamanho dos fragmentos amplificados para obtenção de dados sobre os alelos, por meio da comparação realizada entre as bandas e o padrão (*Ladder*) de 100 pares de bases (pb). Esta avaliação foi realizada por meio do programa de fotodocumentação LABIMAGE 1D Revisão 1.10 (Loccus Biotecnologia). Na análise de estrutura populacional das 50 etnovariiedades de mandioca demesa em estudo, foi utilizado o Programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Esta análise foi realizada com 10.000 repetições em *burn-in* e 100.000 repetições na Cadeia de Markov-Monte Carlo – MCMV (Pritchard et al., 2000; Evanno et al., 2005). Na análise de estrutura das populações, foi realizada a Análise de Componentes Principais (PCoA), empregando-se o Programa GenAlEx 6.5 (Peakall e Smouse, 2006, 2012), o qual também foi utilizado para determinar as frequências alélicas por *locus* avaliado (Peakall e Smouse, 2006, 2012). Os demais parâmetros de diversidade genética foram calculados com o emprego do Programa Powermarker 3.25 (Liu e Muse, 2005).

A diversidade genética entre os acessos também foi analisada com a construção de uma matriz de distância baseado no método da distância C.S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967), realizada pelo programa PowerMarker 3.25 (Liu e Muse, 2005). Esta matriz de distâncias foi utilizada como base para a avaliação estrutural da população, via construção do dendrograma do Vizinheiro mais Próximo (*Neighbor-joining*).

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização morfoagronômica para caracteres qualitativos

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de distribuição de frequências das respectivas classes fenotípicas observadas para cada característica qualitativa. A caracterização qualitativa completa da parte aérea está apresentada no Quadro 1C, apêndice C.

Com relação à característica coloração da brotação nova, as classes fenotípicas mais frequentes foram o verde arroxeadado e o verde escuro, correspondendo respectivamente a 41,17 e 39,21% dos acessos avaliados. Em terceira posição, foi encontrada a proporção de 19,6% (11 acessos) para a coloração verde clara. A classe fenotípica roxa não foi encontrada em nenhum dos 51 acessos avaliados (Quadro 3).

Quadro 3 - Distribuição de frequências da coloração da brotação nova para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Coloração da brotação nova	Verde claro	11	19,6
	Verde escuro	19	39,21
	Verde arroxeadado	21	41,17
	Roxo	0,0	0,0

Vieira et al. (2008) avaliaram, a partir de 27 descritores morfológicos, 365 acessos de mandioca da Embrapa Cerrados. Os autores encontraram um valor próximo ao relatado neste trabalho para a coloração da brotação nova, variando próximo de 40% para a cor verde arroxeadado.

Para o caráter coloração da folha, a classe fenotípica que apresentou maior número foi a verde escura, com 84,31% dos acessos, sendo esta coloração frequentemente observada em diversas cultivares regionais destinadas à utilização industrial. A segunda maior proporção foi a coloração verde claro, com 15,68%. No entanto, as classes fenotípicas verde arroxeadado e roxo não estiveram presentes em nenhum dos 51 acessos avaliados (Quadro 4).

Em pesquisas desenvolvidas por Vieira et al. (2008) em acessos de mandioca coletados na Embrapa Cerrados e por Kvitschal (2008) em acessos de mandioca coletados na zona urbana da cidade de Maringá-PR, também foi encontrada uma maior amplitude para a classe fenotípica verde escuro, corroborando os valores aqui relatados.

Quadro 4 - Distribuição de frequências da coloração da folha para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Coloração da folha	Verde claro	8	15,68
	Verde escuro	43	84,31
	Verde arroxeadado	0,0	0,0
	Roxo	0,0	0,0

Em relação ao formato do lóbulo foliar (Quadro 5), o formato Ovóide e o Elíptico lanceolado foram as classes que apresentaram maior frequência, seguidos do formato Lanceolado e Oblongo lanceolado. Os formatos menos frequentes foram: Obovado lanceolado, Linear piramidal, Linear pandurado.

Quadro 5 - Distribuição de frequências do formato do lóbulo foliar para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Formato do lóbulo foliar	Ovóide	13	25,4
	Elíptico lanceolado	13	25,4
	Obovado lanceolado	2	3,92
	Oblongo lanceolado	9	15,68
	Lanceolado	11	23,56
	Linear	0	0
	Pandurado	0	0
	Linear piramidal	2	3,92
	Linear pandurado	1	2,12

Resultado semelhante também foi encontrado por Kvitschal (2008) em que a classe Elíptico lanceolado também foi uma das mais frequentes, enquanto os lóbulos lineares foram os menos frequentes. O formato do lóbulo exerce influência na produtividade de raízes tuberosas, de maneira que cultivares de mandioca com

folhas largas (lóbulo Ovóides, Elípticos ou Obovados), geralmente, são menos produtivas em relação às folhas estreitas (Kvitschal, 2008). Plantas de mandioca com folhas mais estreitas apresentam a vantagem de aumentar a interceptação dos raios solares, enquanto as plantas de folhas mais largas apresentam um sombreamento mútuo, o que reduz o acúmulo de massa seca, pelo fato do índice de área foliar se apresentar muito acima do ponto ótimo (Ramanujam e Indira, 1983; Ramanujam, 1985). Neste sentido, todos os acessos enquadrados nas classes 8 e 9 (8 – Linear piramidal BGM 649, BGM 675 e 9 – Linear pandurado BGM 641) para o formato do lóbulo foliar são os mais desejáveis.

Em relação à coloração do pecíolo (Quadro 6), a cor vermelho-esverdeado foi a que apresentou maior frequência, 64,70%, seguida pela coloração vermelha, 17,64%. A coloração menos frequente foi a verde-amarelada e a verde, com 1,96% e 5,88%, respectivamente (Quadro 6). Segundo Kvitschal (2008), a coloração verde-avermelhada foi a classe mais frequente encontrada para a coloração do pecíolo em acessos oriundos da cidade de Maringá-PR e a classe vinho escuro amarelado e vermelho foram as menos frequentes.

Quadro 6 - Distribuição de frequências da coloração do pecíolo para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Coloração do pecíolo	Verde-amarelada	1	1,96
	Verde	3	5,88
	Verde-avermelhada	5	9,8
	Vermelho-esverdeada	33	64,70
	Vermelho	9	17,64
	Roxo	0,0	0,0

É importante enfatizar que a coloração vermelha, presente em 17,64% dos acessos, é também uma característica importante da cultivar Mico (Lorenzi et al., 1996; Vidigal Filho et al., 2000), muito cultivada para atender, principalmente, às indústrias de fécula de mandioca no Noroeste do Paraná.

No que se refere à posição do pecíolo (Quadro 7), a classe fenotípica mais frequente foi a horizontal, presente em 26 acessos, o equivalente a 50,98% dos acessos, seguida da posição inclinado para baixo, com 25,46% dos acessos. As classes fenotípicas da posição do pecíolo irregular e inclinado para cima foram menos frequentes, observadas em 19,6% e 3,92% dos acessos, respectivamente.

Quadro 7 - Distribuição de frequências da posição do pecíolo para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Posição do pecíolo	Inclinado para cima	2	3,92
	Horizontal	26	50,98
	Inclinado para baixo	13	25,46
	Irregular	10	19,60

A posição dos pecíolos pode exercer grande influência na capacidade da planta de mandioca em realizar a fotossíntese. Pecíolos eretos ou dispostos na posição horizontal permitem que o limbo foliar se mantenha a um ângulo mais apropriado à incidência de radiação luminosa, ao contrário do que aconteceria caso as folhas estivessem voltadas para baixo (Kvitschal, 2008). Vieira et al. (2008) e Kvitschal (2008) também encontram resultados predominantes da posição do pecíolo horizontal, com uma frequência maior que a relatada neste trabalho. No entanto, os acessos que apresentaram pecíolos eretos (BGM 644 e BGM 648) não floresceram, além de apresentarem alta incidência de bacteriose e, por isso, não são indicados para uso como parentais em cruzamentos.

Em relação à sinuosidade do pecíolo (Quadro 8), 43,13% dos acessos foram consideradas pouco sinuosos contra 45% e 11,87% que foram considerados, respectivamente, muito sinuosos e com ausência de sinuosidade.

Quadro 8 - Distribuição de frequências de sinuosidade do pecíolo para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência %
Sinuosidade	Pouco Sinuoso	22	43,13
	Muito Sinuoso	23	45
	Ausência de Sinuosidade	6	11,87

Quanto à característica coloração da epiderme do caule (Quadro 9), foi encontrado uma grande variação em todas as classes fenotípicas. A coloração verde escuro foi predominante e apresentou frequência de 80,39% em 41 acessos avaliados. Em segundo lugar ficou a coloração laranja, com 11,76% (6 acessos). A coloração verde foi a que apresentou a frequência menor (7,84%) com 4 acessos avaliados. Em estudos desenvolvidos por Kvitschal (2008), a coloração verde escura

também foi a classe fenotípica mais predominante para a cor da epiderme do caule, corroborando os resultados relatados neste estudo.

Quadro 9 - Distribuição de frequências da coloração da epiderme do caule observadas para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Coloração da epiderme do caule	Laranja	6	11,76
	Verde claro	4	7,84
	Verde escuro	41	80,39

Ampla variabilidade na expressão fenotípica foi observada para esse caráter, destacando a frequência de 90,18% para a coloração marrom claro, prateada, laranja e verde-amarelada. A menor proporção foi para a coloração cinza (5,88%) e dourada (3,92%), respectivamente (Quadro 10).

Quadro 10 - Distribuição de frequências da coloração da rama imatura para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Coloração da rama imatura	Laranja	9	17,64
	Verde-amarelado	7	13,75
	Dourado	2	3,92
	Marrom claro	14	27,45
	Prateado	11	21,54
	Cinza	3	5,88
	Marrom escuro	5	9,80

Em relação à cicatriz foliar, a classe predominante foi a proeminente, com uma porcentagem de 92,15%. A característica fenotípica semiproeminente foi de 7,84% (Quadro 11). Os acessos: BGM 649, BGM 657, BGM 661 e o acesso comparativo IAC 576-70 foram os que apresentaram cicatrizes foliares menos proeminentes, sendo, portanto, os mais desejáveis no que se refere ao manejo do material de propagação.

O caráter tamanho da cicatriz foliar desempenha uma característica importante no que se refere ao manejo da cultura da mandioca. Ramas com cicatriz foliar proeminente podem sofrer e provocar injúrias quando submetidas a atritos durante o manejo, facilitando, assim, a entrada de patógenos (Kvitschal, 2008).

Portanto, é interessante que a cultivar possua ramas com cicatrizes foliares pouco proeminentes, reduzindo, assim, o risco de injúrias causadas pelo atrito, bem como a proliferação de doenças (Amorim, 1995).

Em relação à característica tamanho da estípula (Quadro 12), a classe fenotípica observada com maior frequência nos 51 acessos avaliados foi a estípula de tamanho curto, com 31 acessos. As estípulas de tamanho longo foram observadas em menor frequência, com 20 acessos respectivamente.

Quadro 11 - Distribuição de frequências do tamanho da cicatriz foliar para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Tamanho da cicatriz foliar	Semiproeminente	4	7,84
	Proeminente	47	92,15

Quanto ao caráter tipo de ramificação (Quadro 13), a característica fenotípica dicotômica foi a que apresentou maior frequência, seguida da tricotômica e ereta, com 58,82%, 25,49% e 15,68%, respectivamente.

A característica de ramificação tetracotômica não foi evidenciada em nenhum dos 51 acessos avaliados. Vale a pena destacar que o tipo de ramificação também pode influenciar no manejo da cultura da mandioca, bem como no material de propagação. Ramas eretas, com ausência de ramificações, facilitam o manejo de alguns tratos culturais na lavoura, tais como capinas, e da colheita da parte aérea das plantas (Kvitschal, 2008). Considerando essa característica, os acessos que apresentaram ramas eretas foram: BGM 635, BGM 641, BGM 646, BGM 657, BGM 660, BGM 667, BGM 673, BGM 675, BGM 683.

Quadro 12 - Distribuição de frequências do tamanho da estípula para os 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Tamanho da estípula	Curta	31	60,78
	Longa	20	39,21

Em pesquisa desenvolvida por Kvitschal (2008), foi encontrada para o tipo de ramificação uma maior amplitude para os acessos com ramificações mistas entre dico e tricotômicas, seguido de acessos apresentando ramificações unicamente tricotômicas. O tipo de ramificação dicotômica foi a que apresentou menor amplitude, sendo observada em apenas dois acessos.

Quadro 13 - Distribuição de frequências do tipo de ramificação para cada característica qualitativa dos 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Tipo de ramificação	Ereto	8	15,68
	Dicotômica	30	58,82
	Tricotômica	13	25,49
	Tetracotômica	0	0

Também foi avaliado o caráter de florescimento (Quadro 14), sendo esta característica imprescindível para a realização de hibridações. A maioria dos acessos (mais de 70%) não floresceu. Isso está relacionado às condições climáticas da região noroeste do Paraná, mais especificamente da Fazenda de Iguatemi, onde está localizado o Banco de Germoplasma de Mandioca da Universidade Estadual de Maringá, não havendo, portanto, a indução do florescimento para mais de 70% dos acessos avaliados neste local. De acordo com Fukuda e Iglesias (2006) e Ceballos et al. (2012) o genótipo, a umidade, a fertilidade do solo, o fotoperíodo e a temperatura são fatores que podem influenciar na indução do florescimento.

Em relação ao caráter frutificação, apenas a cultivar IAC 576-70 e o acesso BGM 684 apresentaram efetiva frutificação.

Quadro 14 - Distribuição de frequências do caráter florescimento para cada característica qualitativa dos 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe Fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Ocorrência de florescimento	Ausência	39	76,47
	Presença	12	23,48

A incidência de bacteriose também foi avaliada (Quadro 15 e Figura 1), uma vez que essa doença é um dos principais problemas da cultura da mandioca nos

dias de hoje, podendo ocasionar perdas significativas nas lavouras (Jorge et al., 2000). Causada pela bactéria gram negativa *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* é uma doença que pode causar manchas angulares, de aparência aquosa, nos folíolos, murcha das folhas e pecíolos, morte descendente e exsudação de goma nas hastes, além de necrose dos feixes vasculares e morte da planta (Fukuda et al., 1984).



Figura 1 - Incidência de bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*): (1) Ausência de sintomas; (2) Poucas manchas nas folhas; (3) 50% das folhas com manchas; (4) Queda de folhas; (5) Plantas com total desfolha.

No presente trabalho, a proporção de 37,21% dos acessos se mostraram tolerantes à doença pela ausência de sintomas. Dos acessos avaliados, 43,13% possuíam poucas manchas nas folhas e quase 6% dos acessos apresentaram queda das folhas em decorrência da presença de bacteriose (Quadro 15). Embora nenhum acesso tenha sido encontrado com total desfolha, três deles apresentaram alguma desfolha, como o BGM 643, BGM 649 e BGM 672. Os acessos que não apresentaram sintomas de bacteriose foram BGM 634, BGM 635, BGM 636, BGM 640, BGM 646, BGM 647, BGM 658, BGM 659, BGM 660, BGM 661, BGM 667, BGM 673, BGM 674, BGM 675, BGM 677, BGM 678, BGM 680 e BGM 681 sendo, portanto, importantes como parentais para futuros programas de melhoramento da mandioca.

Além da incidência de bacteriose, avaliou-se também a incidência do superalongamento, doença causada pelo fungo *Sphaceloma manihoticola* (Alvarez et al., 2003). Esta também é uma das principais doenças que afetam a mandioca, causando perdas de mais de 80% em cultivares susceptíveis na Colômbia, Brasil, Venezuela e América Central (Lee e Taylor, 1990). A doença do superalongamento foi observada e documentada pela primeira vez, no Brasil, em 1950, por Bitancourt e Jenkins na espécie *M. glaziovii* (Bitancourt e Jenkins, 1950). Os sintomas típicos (Figura 2) podem incluir hastes fracas; perecimento; desfolha; manchas necróticas

nas folhas; cancos em nervuras, pecíolos e hastes; folha e caule em distorção; e um alongamento exagerado dos entrenós (Zeigler e Lozano, 1983; Alvarez et al., 2003).

Quadro 15 - Distribuição de frequências da incidência de bacteriose para cada característica qualitativa dos 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Incidência de bacteriose	Ausência de sintomas	19	37,21
	Poucas manchas nas folhas	22	43,13
	Mais de 50% das folhas com manchas	7	13,72
	Queda de folhas	3	5,82
	Plantas com total desfolha	0	0

No presente estudo, a maior proporção encontrada foi para a classe fenotípica, tida como baixa ou nenhuma incidência da doença com 90,19%, seguida pela média incidência e elevada incidência, com 7,84% e 1,96%, respectivamente (Quadro 16). O acesso BGM 683 apresentou alta incidência de superalongamento, o que o descaracteriza como possível parental em programas de hibridação, dada a grande importância de se buscar resistência a essa doença.



Figura 2 – Crescimento exagerado do caule provocado pelo superalongamento da mandioca.

Quadro 16 - Distribuição de frequências de superalongamento para cada característica qualitativa dos 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Caráter	Classe fenotípica	Quantidade de acessos	Frequência (%)
Superalongamento	Baixa ou nenhuma incidência	46	90,19
	Média incidência	4	7,84
	Elevada incidência	1	1,96

4.2. Caracterização morfoagronômica para características quantitativas

Em relação à caracterização morfoagronômica por características quantitativas, no Quadro 17, foram apresentadas: a amplitude da variação (máximo e mínimo), a média geral e os seus desvios-padrão dos 51 acessos de mandioca-de-mesa avaliados. A caracterização completa dos 51 acessos para as sete características quantitativas pode ser visualizada no Quadro 2 C, Apêndice C.

Quanto ao número de lóbulos foliares, o mais frequente entre os 51 acessos analisados foi o de sete lóbulos, o que equivaleu a mais de 60% (Quadro 17).

Em relação ao comprimento médio do lóbulo foliar, o menor valor encontrado foi de 12,20 cm e o maior de 23,8 cm, com um valor médio observado de 16,71 cm (Quadro 17). Os valores maiores para a distribuição de frequência da classe fenotípica para essa característica variaram de 15,17 cm a 17,5 cm e 17,15 a 19,4 (Figura 3).

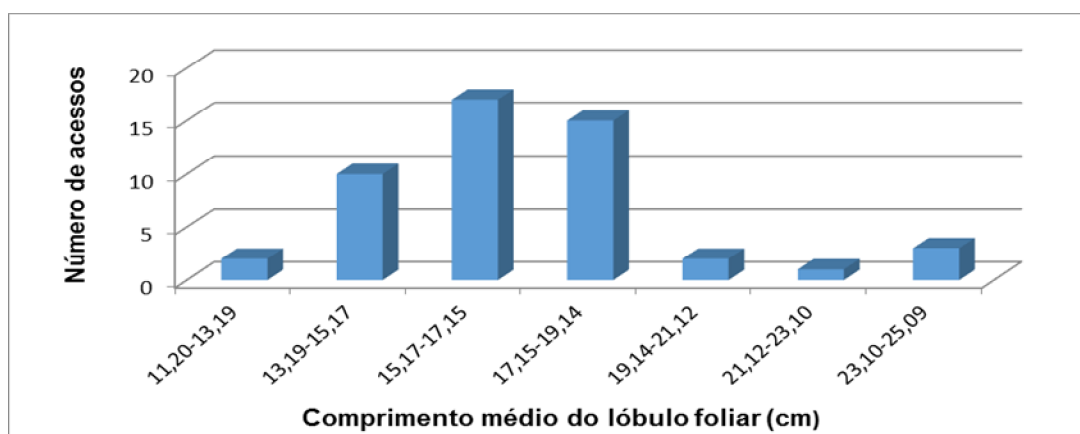


Figura 3 – Distribuição de frequência dos acessos de mandioca-de-mesa da Região Sul de Minas Gerais, pelo valor médio dos intervalos do comprimento médio do lóbulo foliar.

Quadro 17 – Resumo da caracterização morfoagronômica para as características quantitativas dos 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

Característica quantitativa	Menor valor	Maior valor	Valor médio	Desvio padrão
Número de lóbulos foliares	3,00	9,00	-	-
Comprimento médio do lóbulo foliar (cm)	12,20	23,8	16,71	2,68
Largura média do lóbulo foliar (cm)	1,95	5,95	3,91	0,74
Comprimento médio do pecíolo (cm)	16,20	39,8	26,50	4,87
Distância de entrenós (cm)	5,29	12,48	8,02	1,39
Altura da planta (m)	1,60	3,60	2,77	0,58
Altura da primeira ramificação (m)	0,0	1,45	0,78	0,50

A amplitude para a largura de lóbulos foliares variou de 1,95 a 5,95 cm, embora o valor médio observado para esta característica tenha sido de 3,91 cm (Quadro 17). Os valores maiores para a distribuição de frequência da classe fenotípica para essa característica variaram de 3,61 cm a 4,28 cm e 4,28 cm a 4,95 cm (Figura 4). A largura do lóbulo central da folha está intimamente relacionada ao formato dos lóbulos foliares (Quadro 17), ou seja, os lóbulos que apresentaram largura entre 3,6 a 4,2 cm corresponderam aos formatos foliares do tipo Ovóide, Elíptico lanceolado, Obovado lanceolado, Oblongo-lanceolado e Lanceolado. Entretanto, os lóbulos foliares mais delgados correspondem ao formato Linear e Linear piramidal (Kvitschal, 2008). Essa relação entre largura do lóbulo central com o formato do lóbulo pode ser constatada no lóbulo linear piramidal e linear pendurado. Os acessos com essa característica apresentaram largura do lóbulo entre 1,61 a 2,28 cm.

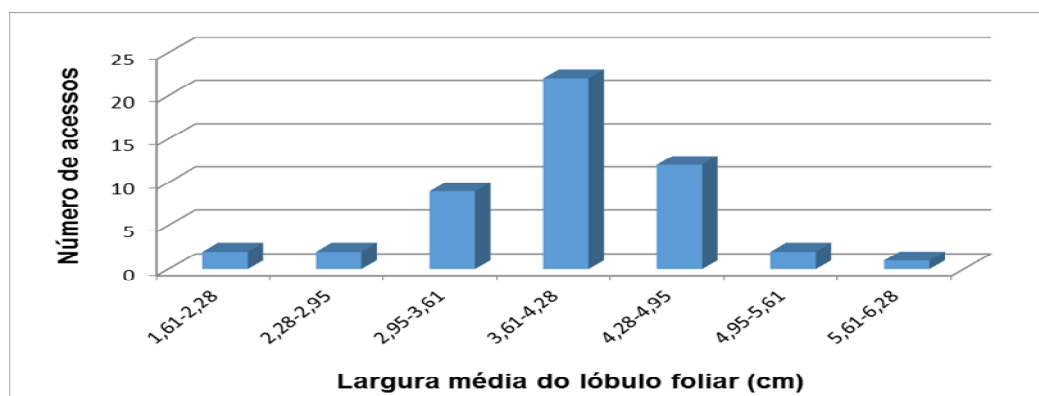


Figura 4 – Distribuição de frequência dos acessos de mandioca-de-mesa coletados na Região Sul de Minas Gerais, pelo valor médio dos intervalos da largura média do lóbulo foliar.

Em relação ao comprimento médio do pecíolo, (Figura 5) ocorreu uma variação de 16,2 a 39,8 cm com um valor médio observado para esta característica de 26,50 cm. (Quadro 17). A maior variação na distribuição da classe fenotípica para essa característica foi de 26,0 a 29,9 cm, seguida da segunda maior variação encontrada que partiu de 22,1 a 26,0 cm (Figura 5).

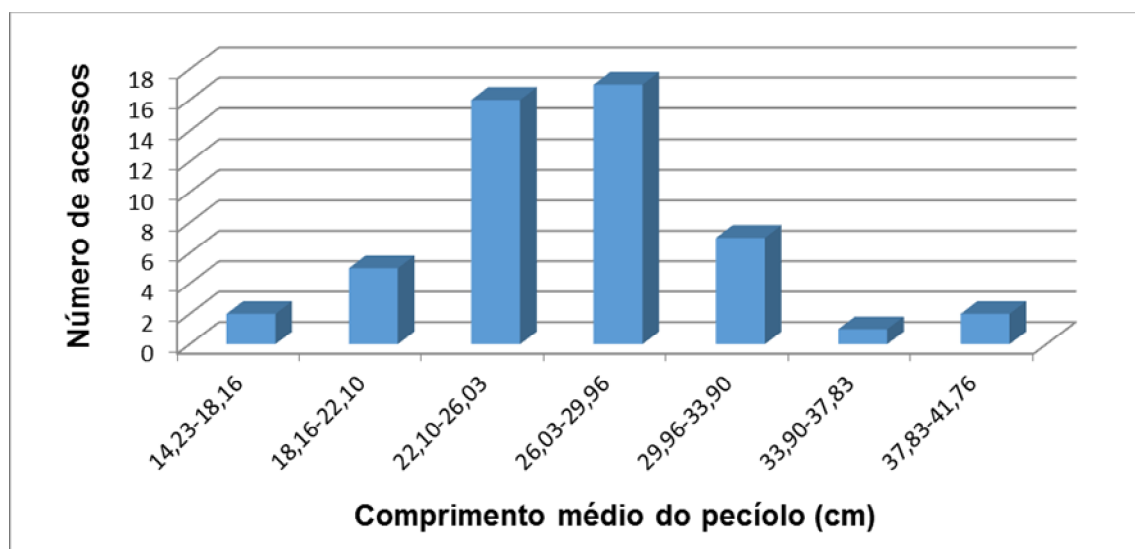


Figura 5 – Distribuição de frequência dos acessos de mandioca-de-mesa coletados na Região Sul de Minas Gerais, pelo valor médio do comprimento médio do pecíolo.

Com relação à característica distância de entrenós (Figura 6), foi observada uma amplitude que variou entre 5,29 a 12,48 cm, com um valor médio de 8,02 cm (Quadro 17). Na Figura 6, pode-se observar que os acessos com entrenós mais curtos foram mais frequentes, variando de 7,0 a 8,2 cm, enquanto os acessos com entrenós mais longos ocorreram em menor proporção, de 11,88 cm a 13,7 cm. No entanto, três acessos se destacaram por terem apresentado uma distância menor de entrenós, que variou de 4,69 cm a 5,88 cm, sendo eles: BGM 649, BGM 655 e BGM 690. Tal aspecto é desejável, uma vez que entrenós mais curtos favorecem ao aumento do número de folhas, bem como maior emergência de raízes nodais pelas manivas usadas no plantio (Conceição, 1987).

No que tange à característica avaliada tamanho da planta, o menor valor encontrado foi de 1,6 m. Em contrapartida, o maior valor avaliado foi de 3,6 m com um valor médio de 2,77 m (Quadro 17). Na Figura 7, pode-se observar a maior variação na distribuição de frequência da classe fenotípica que ficou no intervalo de 2,82 a 3,17 m (Figura 7). Nesta classe, de variação fenotípica, os acessos oriundos

de Poços de Caldas apresentaram o maior tamanho em relação à altura da planta, com a presença de dez acessos.

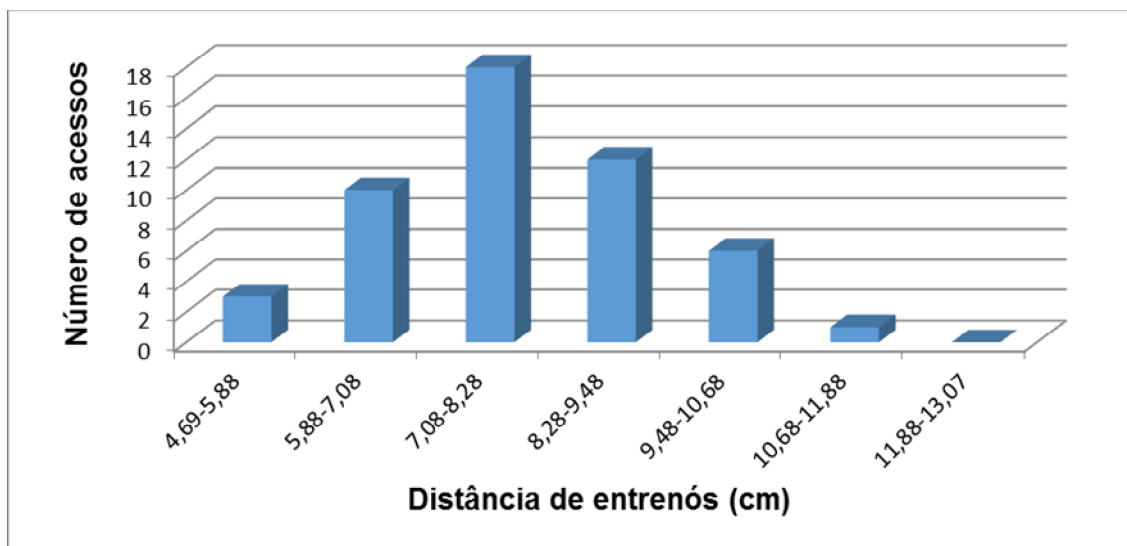


Figura 6 – Distribuição de frequência dos acessos de mandioca-de-mesa coletados na Região Sul de Minas Gerais, pela distância de entrenós.

Em um trabalho realizado por Kvitschal (2008) sobre a divergência genética de mandiocas-de-mesa coletadas na cidade de Maringá, a média dos valores mais frequentes para a altura da planta foi inferior ao aqui encontrado: torno de 1,81m. Um resultado relacionado a um valor maior para a altura da planta de mandioca pode sugerir a existência de um potencial de produção de raízes tuberosas dos acessos de Poços de Caldas superior, quando comparado aos resultados de Maringá, uma vez que a altura de plantas está diretamente relacionada à produtividade de raízes tuberosas, bem como ao teor de massa seca e de amido nas mesmas (Gonçalves-Vidigal et al., 1997; Sagrilo, 2003).

A altura da primeira ramificação avaliada apresentou valor mínimo de 0,0, ou seja, ausência de ramificação e valor máximo de 1,45 para essa característica. O valor médio obtido foi de 0,76 metros (Quadro 17) e a distribuição de frequência da maior classe fenotípica variou entre 0,8 a 1,14 m, seguida de 1,14 a 1,46 m. Houve um número considerável de acessos com ausência de ramificação, ocupando assim a terceira posição na distribuição das frequências observadas (Figura 8). Os acessos BGM 638, BGM 642, BGM 644 BGM 645, BGM 647, BGM 648, BGM 649, BGM 650, BGM 651, BGM 652, BGM 658, BGM 663, BGM 674 e BGM 678

apresentaram valores expressivos para a altura da primeira ramificação. E o acesso BGM 649 que apresentou a maior altura: 1,95 m.

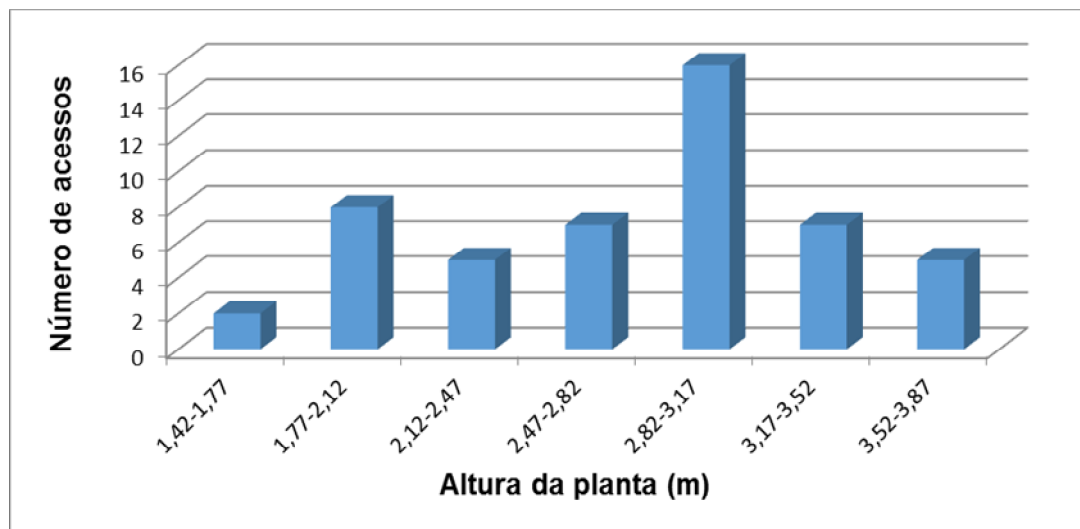


Figura 7 – Distribuição de frequência dos acessos de mandioca-de-mesa da Região Sul de Minas Gerais, pela altura da planta.

As plantas de mandioca com ramificações variando de médias a altas são mais vantajosas, pois as plantas com este padrão de arquitetura de parte aérea apresentam maior facilidade na realização no manejo dos tratos culturais e da colheita (Conceição, 1987; Vidigal Filho et al., 2000).

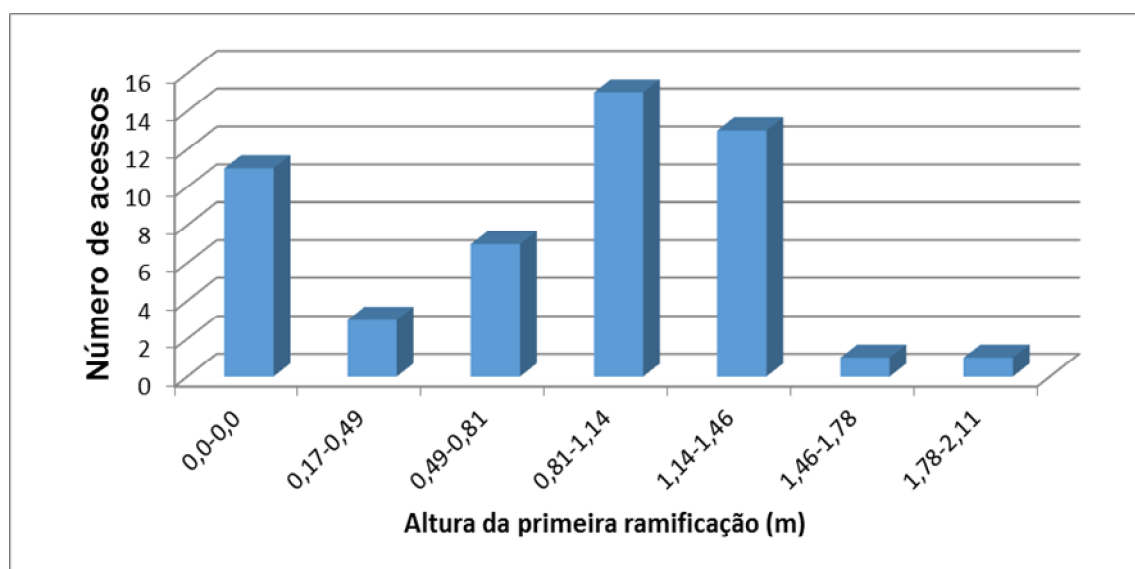


Figura 8 – Frequência dos acessos de mandioca-de-mesa da Região Sul de Minas Gerais, para a altura da primeira ramificação.

4.3. Divergência genética por meio de características qualitativas

Para os 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados na região Sul de estado de Minas Gerais houve a formação de uma matriz completa de dissimilaridade, com mais de 2600 combinações possíveis (Quadro 1 A, apêndice D). No Quadro 18, está disposto o resumo da matriz de dissimilaridade, considerando as 30 combinações mais similares; no Quadro 19, encontra-se o resumo das 30 combinações mais dissimilares.

Quadro 18 – Resumo da matriz de dissimilaridade entre acessos de mandioca-de-mesa menos divergentes, coletados na Região Sul de Minas Gerais, mediante a utilização de características qualitativas

Combinação	$d_{ij'}$	Combinação	$d_{ij'}$
BGM 644 x BGM 677	0,133	BGM 652 x BGM 642	0,267
BGM 667 x BGM 642	0,133	BGM 639 x BGM 640	0,267
BGM 677 x BGM 644	0,133	BGM 636 x BGM 642	0,267
BGM 664 x BGM 645	0,133	BGM 645 x BGM 635	0,267
BGM 659 x BGM 646	0,133	BGM 659 x BGM 645	0,267
BGM 660 x BGM 646	0,133	BGM 662 x BGM 664	0,267
BGM 667 x BGM 646	0,133	BGM 646 x BGM 634	0,267
BGM 634 x BGM 635	0,133	BGM 662 x BGM 634	0,267
BGM 654 x BGM 650	0,133	BGM 667 x BGM 634	0,267
BGM 650 x BGM 654	0,133	BGM 681 x BGM 634	0,267
BGM 659 x BGM 646	0,133	BGM 642 x BGM 636	0,267
BGM 660 x BGM 646	0,133	BGM 659 x BGM 665	0,267
BGM 664 x BGM 645	0,133	BGM 635 x BGM 639	0,333
BGM 667 x BGM 646	0,133	BGM 659 x BGM 664	0,333
BGM 677 x BGM 645	0,133	BGM 666 x BGM 681	0,333

A variação nas estimativas de dissimilaridade entre os 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa avaliados foi bem elevada, com valores entre 0,133 a 0,866. No que diz respeito às características qualitativas, isso indica a presença de uma ampla variabilidade genética no conjunto genotípico avaliado.

As quinze primeiras combinações (Quadro 18) apresentaram a maior similaridade genética, cujo valor foi de apenas 13,3% ($d_{ij'} = 0,133$), fato que pode

indicar uma grande proximidade genética entre os acessos avaliados. Essa similaridade encontrada pode ser devida ao intercâmbio de material de plantio entre agricultores ou também ao fato de a coleta ter sido efetuada em localidades próximas entre si. Isso indica que estes acessos possuem um grau de parentesco bastante elevado ou até mesmo podem se tratar de amostras de uma mesma cultivar tradicional, coletada em locais distintos, porém cadastradas como acessos diferentes no Banco de Germoplasma.

Os acessos BGM 646 e BGM 634 apresentaram uma elevada similaridade média com toda a coleção de acessos de mandioca-de-mesa coletados na região Sul de Minas Gerais, pois estes acessos estiveram presentes em várias das combinações menos divergentes (Quadro 18). Conforme Kvitschal, (2008) a utilização de acessos mais similares genotipicamente como parentais em programas de melhoramento envolvendo hibridações tende a não apresentar resultados satisfatórios, uma vez que o efeito heterótico resultante das hibridações envolvendo estes acessos tende a ser menos efetivo. Além deste fato, a probabilidade do surgimento de segregantes transgressivos a partir destas hibridações tende a ser significativamente menor, implicando, conseqüentemente, em maior dificuldade ao melhorista na seleção dos mesmos.

As combinações mais divergentes encontradas no presente trabalho apresentaram valores de até 86,8% ($d_{ij} = 0,868$), tendo como destaque os acessos BGM 674, BGM 686 e BGM 690 pois os mesmos estiveram presentes em várias das combinações mais divergentes entre os acessos da coleção de germoplasma coletados na região Sul do Estado de Minas Gerais (Quadro 19). Tal resultado é um indicativo de que estes acessos detêm uma elevada divergência média em relação a todo o conjunto genotípico avaliado, propiciando um efeito heterótico satisfatório quando utilizados como parentais em programas de melhoramento de mandioca que envolvam hibridações (Kvitschal, 2008). Entretanto, o acesso BGM 674 não apresentou florescimento no período de avaliação a campo, o que o descaracteriza como parental promissor em futuros programas de melhoramento genético da mandioca, envolvendo métodos convencionais de hibridação. Outra característica relevante é a média incidência de Bacteriose apresentada pelo acesso BGM 686, desqualificando-o como parental recomendado em programas de melhoramento genético.

Quadro 19 - Resumo da matriz de dissimilaridade entre acessos de mandioca-de-mesa mais divergentes, coletados na Região Sul de Minas Gerais, mediante a utilização de características qualitativas

Combinação	d_{ij}	Combinação	d_{ij}
BGM 668 x BGM 675	0,866	BGM 640 x BGM 690	0,733
BGM 660 x BGM 690	0,800	BGM 662 x BGM 680	0,733
BGM 656 x BGM 690	0,800	BGM 666 x BGM 674	0,733
BGM 655 x BGM 684	0,800	BGM 653 x BGM 690	0,733
BGM 644 x BGM 686	0,800	BGM 649 x BGM 674	0,733
BGM 644 x BGM 690	0,800	BGM 642 x BGM 690	0,733
BGM 641 x BGM 686	0,800	BGM 636 x BGM 674	0,733
BGM 683 x BGM 686	0,733	BGM 675 x BGM 690	0,666
BGM 683 x BGM 690	0,733	BGM 647 x BGM 690	0,666
BGM 690 x BGM 674	0,733	BGM 680 x BGM 683	0,666
BGM 677 x BGM 686	0,733	BGM 671 x BGM 690	0,666
BGM 677 x BGM 690	0,733	BGM 663 x BGM 686	0,666
BGM 674 x BGM 690	0,733	BGM 678 x BGM 674	0,666
BGM 674 x BGM 683	0,733	BGM 680 x BGM 690	0,600
BGM 673 x BGM 686	0,733	BGM 678 x BGM 690	0,600

A partir da análise das características qualitativas foi possível definir quais as combinações mais recomendadas em futuros programas de melhoramento genético da mandioca, sendo elas: BGM 640 x BGM 690, BGM 647 x BGM 690, BGM 675 x BGM 690, BGM 678 x BGM 690 e BGM 680 x BGM 690. Estas combinações reúnem características positivas pelos parentais, como ausência de sintomas de bacteriose e superalongamento, além de elevada divergência genética entre si proporcionando a geração de ampla variabilidade genética e maior efeito heterótico nas populações descendentes (Cruz e Regazzi, 2003), constituídas por indivíduos dotados de várias características de interesse agrônomo (Kvitschal, 2008).

Pelo Método de Ligação Média entre Grupos (UPGMA), foi gerado um dendrograma (Figura 9), com base na dissimilaridade estimada a partir de 15 caracteres qualitativos.

Ao traçar a linha limítrofe de demarcação de grupos entre as marcas de 80% e 90% no dendrograma do UPGMA (Figura 9), houve a formação de seis grupos:

grupo 1, o mais expressivo, composto por 36 acessos; grupo 2, com 4 acessos, grupo 3, com 3 acessos, grupo 4, com 4 acessos, grupo 5, com 3 acessos e grupo 6, o menos numeroso, constituído por apenas um único acesso (Quadro 20). Já em relação à distribuição das cidades entre os grupos, houve uma maior prevalência dos acessos oriundos dos locais de Poços de Caldas e Botelhos na maioria dos grupos formados.

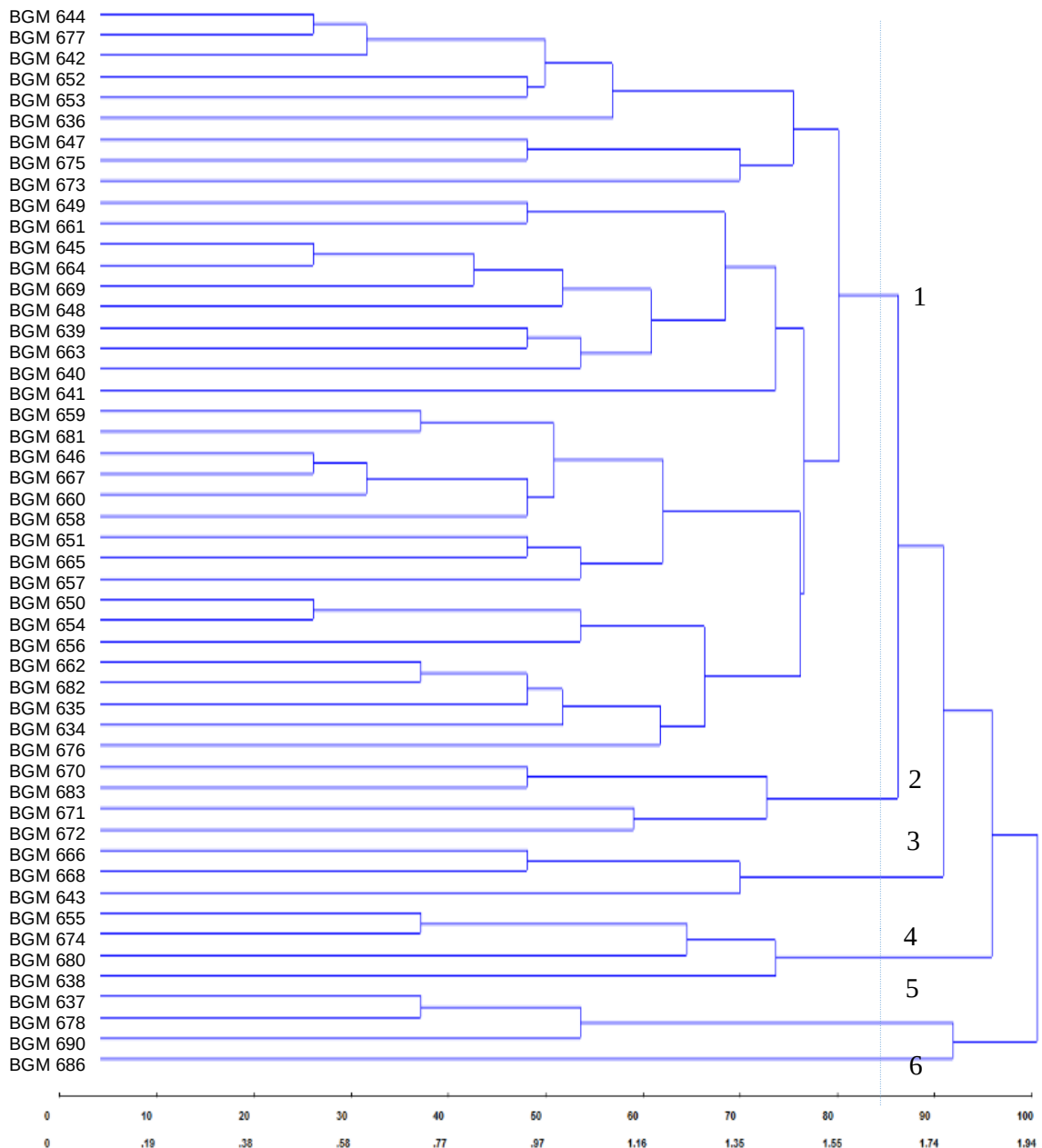


Figura 9 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA, com base na dissimilaridade estimada a partir de 15 caracteres qualitativos avaliados nos acessos tradicionais.

No grupo 6, está presente o acesso BGM 686 (Quadro 20), o qual se destacou pela elevada ocorrência entre as combinações mais divergentes (Quadro 19). Este acesso foi alocado em um grupo isolado no dendrograma UPGMA, demonstrando uma elevada divergência genética.

Quadro 20 – Representação gerada pelo método de Agrupamento (UPGMA) com base na dissimilaridade entre os 51 acessos de mandioca-de-mesa, coletados na região Sul de Minas Gerais, a partir de 15 caracteres qualitativos

Grupos	Acessos	Total
1	BGM 644, BGM 677, BGM 642, BGM 652, BGM 653, BGM 636, BGM 647, BGM 675, BGM 673, BGM 649, BGM 661, BGM 645, BGM 664, BGM 669, BGM 648, BGM 639, BGM 663, BGM 640, BGM 641, BGM 659, BGM 681, BGM 646, BGM 667, BGM 660, BGM 658, BGM 651, BGM 665, BGM 657, BGM 650, BGM 654, BGM 656, BGM 662, BGM 682, BGM 635, BGM 634, BGM 676	36
2	BGM 670, BGM 683, BGM 671, BGM 672	4
3	BGM 666, BGM 668, BGM 643	3
4	BGM 655, BGM 674, BGM 680, BGM 638	4
5	BGM 637, BGM 678, BGM 690	3
6	BGM 686	1

No quadro 20, os acessos mais similares, BGM 634 e BGM 646 bem como os demais acessos listados no Quadro 18, ficaram todos alocados no mesmo grupo, ou seja, no grupo 1, e os acessos mais divergentes apresentados no Quadro 19, BGM 674, BGM 686 e BGM 690 e os demais acessos (Quadro 20), foram alocados em grupos distintos, corroborando a matriz de distância gerada pelo Método da Distância Euclidiana Média.

4.4. Divergência genética por meio de características quantitativas

No Quadro 2, Apêndice D, está disposta a matriz com as 2601 combinações dos acessos avaliados com relação ao caracteres quantitativos. No Quadro 21,

encontram-se o resumo dos acessos mais similares (menos divergentes), enquanto, no Quadro 22, estão as combinações mais dissimilares (mais divergentes) entre os acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados no Sul de Minas Gerais.

Quadro 21 - Resumo da matriz de dissimilaridade entre acessos menos divergentes da Região Sul de Minas Gerais, conforme as características quantitativas

Cobinação	$d_{ij'}$	Combinação	$d_{ij'}$
BGM 677 x BGM 668	0,119	BGM 686 x BGM 661	0,377
BGM 652 x BGM 647	0,259	BGM 658 x BGM 651	0,387
BGM 668 x BGM 653	0,259	BGM 671 x BGM 651	0,395
BGM 676 x BGM 671	0,263	BGM 667 x BGM 657	0,403
BGM 676 x BGM 651	0,294	BGM 646 x BGM 645	0,427
BGM 668 x BGM 664	0,302	BGM 659 x BGM 640	0,442
BGM 677 x BGM 653	0,309	BGM 676 x BGM 662	0,455
BGM 671 x BGM 668	0,329	BGM 664 x BGM 652	0,465
BGM 662 x BGM 653	0,331	BGM 677 x BGM 638	0,498
BGM 677 x BGM 664	0,340	BGM 683 x BGM 680	0,514
BGM 677 x BGM 662	0,341	BGM 669 x BGM 647	0,525
BGM 677 x BGM 676	0,341	BGM 682 x BGM 674	0,550
BGM 677 x BGM 671	0,349	BGM 668 x BGM 638	0,557
BGM 671 x BGM 662	0,364	BGM 664 x BGM 647	0,565
BGM 671 x BGM 653	0,375	BGM 666 x BGM 646	0,596

A variação nas estimativas de dissimilaridade entre os 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa avaliada foi bastante elevada, com valores entre 0,119 a 3,213. Essa grande variação nos valores de $d_{ij'}$ indica uma grande variabilidade genética no conjunto genotípico avaliado no que diz respeito às características quantitativas.

A combinação mais similar encontrada no presente trabalho para caracteres quantitativos foi entre os acessos BGM 677 e BGM 668, cujo valor foi de apenas 11,9% ($d_{ij'} = 0,119$) (Quadro 21). Este valor de 0,119 de $d_{ij'}$ para essa combinação pode ser devido ao fato de a coleta ter sido realizada em localidades próximas ou devido ao intercâmbio de material de plantio entre os agricultores. Estas cultivares similares podem ter sido analisadas como cultivares distintas, quando na realidade

são réplicas (Iwanaga e Iglesias, 1994).

Os acessos BGM 677 e BGM 669 apresentaram uma elevada similaridade média em relação a toda coleção de acessos de mandioca-de-mesa coletados na região Sul de Minas Gerais para os caracteres quantitativos, pois estes acessos estiveram presentes em várias das combinações menos divergentes (Quadro 21).

A utilização de parentais com baixos valores de d_{ij} tendem a não promover resultados efetivos, uma vez que o efeito heterótico resultante das hibridações envolvendo estes acessos tende a ser menos satisfatório. Além deste fato, a probabilidade do surgimento de segregantes transgressivos a partir destas hibridações tende a ser significativamente menor, implicando, consequentemente, em maior dificuldade ao melhorista na seleção dos mesmos (Kvitschal, 2008).

As combinações mais dissimilares encontradas no presente trabalho apresentaram variação com d_{ij} de até 3,213, tendo como destaque os acessos BGM 655, BGM 640, BGM 660 e BGM 690, pois os mesmos estiveram presentes em várias das combinações mais divergentes (Quadro 22). Acessos que possuem valores altos para d_{ij} pode ser um indicativo de uma elevada divergência média em relação a todo o conjunto genotípico avaliado, proporcionando um efeito heterótico satisfatório quando utilizados como parentais em hibridações nos programas de melhoramento genético de mandioca (Kvitschal, 2008). Dessa maneira, a escolha dos parentais em programas de melhoramento genético é uma tarefa que deve ser realizada cautelosamente, de modo que seja realizado o mínimo de cruzamentos para obter a máxima variabilidade genética e o máximo efeito heterótico, com um menor número de hibridações (Cruz e Regazzi, 2001).

A combinação mais divergente encontrada no presente estudo, mediante o uso de marcadores morfoagronômicos quantitativos, foi entre o acesso tradicional BGM 655 x BGM 660 com d_{ij} de 3,213. Essa combinação não é recomendada em futuros programas de melhoramento genético envolvendo os acessos tradicionais de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais, uma vez que o acesso BGM 655 apresentou indícios de bacteriose.

Os acessos mais divergentes como BGM 640, BGM 660 e BGM 690 foram resistentes à bacteriose e superalongamento, mas o acesso BGM 660 não apresentou florescimento no momento da avaliação, sendo, portanto, inviável a utilização deste parental envolvendo hibridações como método convencional de melhoramento (Quadro 22).

Quadro 22 - Resumo da matriz de dissimilaridade entre acessos de mandioca-de-mesa da Região Sul de Minas Gerais mais divergentes, mediante a utilização de características quantitativas

Cobinação	$d_{ij'}$	Combinação	$d_{ij'}$
BGM 655 x BGM 660	3,213	BGM 686 x BGM 659	2,569
BGM 655 x BGM 640	2,973	BGM 690 x BGM 640	2,502
BGM 655 x BGM 659	2,927	BGM 659 x BGM 643	2,497
BGM 661 x BGM 640	2,822	BGM 683 x BGM 660	2,457
BGM 690 x BGM 660	2,722	BGM 641 x BGM 672	2,442
BGM 661 x BGM 659	2,724	BGM 665 x BGM 655	2,238
BGM 672 x BGM 660	2,768	BGM 659 x BGM 642	2,201
BGM 660 x BGM 643	2,611	BGM 674 x BGM 660	2,061
BGM 672 x BGM 659	2,650	BGM 640 x BGM 656	1,937
BGM 686 x BGM 660	2,657	BGM 664 x BGM 640	1,832
BGM 686 x BGM 640	2,660	BGM 667 x BGM 640	1,787
BGM 672 x BGM 640	2,671	BGM 674 x BGM 640	1,679
BGM 660 x BGM 649	2,692	BGM 681 x BGM 640	1,595
BGM 643 x BGM 640	2,577	BGM 675 x BGM 690	1,477
BGM 661 x BGM 634	2,577	BGM 646 x BGM 634	1,376

Em relação às características quantitativas, os acessos mais promissores, como BGM 640 e BGM 690, apresentaram porte altivo de altura da planta, ambos ultrapassando os 2 metros de altura. Já em relação à característica altura da primeira ramificação, o acesso BGM 640 apresentou um porte pequeno (0,50 cm) e o acesso BGM 690 apresentou um valor alto (1 m). A combinação entre os acessos BGM 690 e BGM 640 não seria recomendada, uma vez que este último acesso não obteve um porte maior em relação à altura da primeira ramificação, inviabilizando a manifestação da heterose máxima nos filhos a partir dos parentais.

Envolvendo hibridações como método tradicional de melhoramento, a combinação mais promissora pode ser entre os acessos BGM 675 e BGM 690, pois apresentaram resistência à bacteriose e ao superalongamento e altura da planta de 2 metros de altura. O acesso tradicional BGM 675 possui ramas eretas, levando a um manejo mais fácil da cultura, como podas e capinas, e o acesso BGM 690

apresentou um valor alto para a característica altura da primeira ramificação (1 metro).

A combinação entre os acessos BGM 690 e BGM 660 também é recomendada, uma vez que reuniu características de interesse agrônomo, como ausência de sintomas de bacteriose e superalongamento, porte alto das plantas e da altura da primeira ramificação. Para os sete caracteres qualitativos avaliados, as combinações mais promissoras para futuros programas de melhoramento envolvendo os acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados no Sul de Minas Gerais são entre BGM 675 x BGM 690 e a combinação BGM 690 e BGM 660.

Ao traçar a linha limítrofe de demarcação de grupos entre as marcas de 60 e 70% no dendrograma do UPGMA (Figura 10), houve a formação de sete grupos bem definidos: grupo 1, o mais expressivo, composto por 36 acessos; grupo 2, com 4 acessos; grupo 3, com 2 acessos; grupo 4, com 3 acessos; grupo 5 e grupo 6 com 1 acesso cada um; e grupo 7 com 4 acessos (Quadro 23). Em relação à distribuição das cidades entre os grupos, houve maior prevalência dos acessos oriundos de Poços de Caldas e de Botelhos na maioria dos grupos formados.

Quadro 23 - Representação gerada pelo método de Agrupamento (UPGMA) com base na dissimilaridade entre os 51 acessos de mandioca-de-mesa, coletados na região Sul de Minas Gerais a partir de 7 caracteres quantitativos

Grupos	Acessos	Total
1	BGM 668, BGM 677, BGM 653, BGM 662, BGM 664, BGM 671, BGM 676, BGM 651, BGM 650, BGM 658, BGM 638, BGM 647, BGM 652, BGM 669, BGM 642, BGM 663, BGM 636, BGM 637, BGM 654, BGM 665, BGM 648, BGM 678, BGM 635, BGM 649, BGM 680, BGM 683, BGM 639, BGM 643, BGM 645, BGM 646, BGM 666, BGM 656, BGM 670, BGM 674, BGM 682, BGM 681	36
2	BGM 657, BGM 667, BGM 673, BGM 675	4
3	BGM 661, BGM 686	2
4	BGM 655, BGM 672, BGM 690	3
5	BGM 644	1
6	BGM 634	1
7	BGM 640, BGM 659, BGM 641, BGM 660	4

Na Figura 10, pelo Método de Ligação Média entre Grupos (UPGMA), pode ser observado o dendrograma gerado com base na dissimilaridade estimada a partir de 7 caracteres quantitativos.

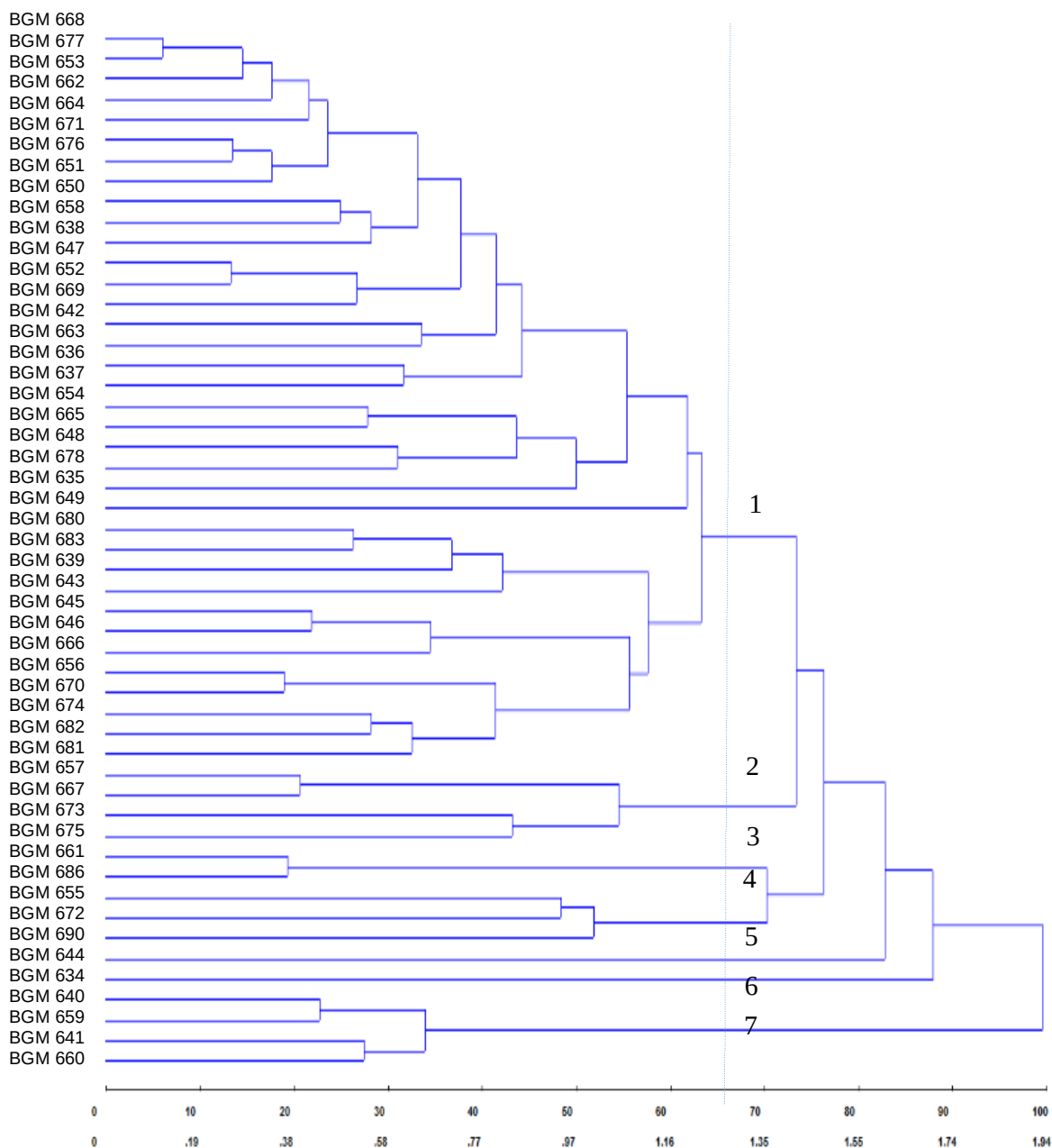


Figura 10 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA com base na dissimilaridade estimada a partir de sete caracteres quantitativos avaliados nos acessos tradicionais.

Os acessos mais similares, como BGM 677 e BGM 668, bem como os demais acessos listados no Quadro 21 foram distribuídos no mesmo grupo, ou seja,

no grupo 1, com excessão das combinações BGM 668 x BGM 661, BGM 667 x BGM 657 e BGM 659 x BGM 640, que ficaram agrupadas nos grupos 3, 2 e 4, respectivamente.

Para os acessos mais divergentes, como BGM 640, BGM 660 e BGM 690 e os demais acessos listados no Quadro 22, houve distribuição em grupos diferentes, corroborando a matriz de distância gerada pelo Método da Distância Euclidiana Média.

4.5. Caracterização molecular por marcadores SSR

No presente estudo, foi identificado um total de 68 alelos a partir da análise de 20 *loci* microssatélites, com uma média de 3,4 alelos por *locus* (Quadro 24). O valor encontrado para a média de alelos por *locus* foi superior a alguns estudos, como de Moyib et al. (2007), Sree Lekha et al. (2010), Sree Lekha et al. (2011), Costa et al. (2013) e de Ortiz (2013) que variou entre 1,78 e 3,04, resultados abaixo da média, quando comparado aos obtidos por outros pesquisadores, como Mühlen et al. (2000), Faraldo et al. (2000), Fregene et al. (2003), Mkumbira et al. (2003), Elias et al. (2004), Lokko et al. (2006), Raghu et al. (2007), Peroni et al. (2007), Siqueira et al. (2009), Asare et al. (2011), Turyagyenda et al. (2012), Mezette et al. (2013) e Ferreira (2014), cujos valores obtidos variaram de 3,53 a 6 alelos por *locus*.

O *locus* GA 131 foi o menos polimórfico, tendo apresentado 5 alelos. Já os *loci* GA136, SSRY 100 e SSRY 51 apresentaram 2 alelos, sendo os menos polimórficos (Quadro 24).

Todos os *loci* avaliados foram considerados polimórficos, segundo a metodologia proposta por Menezes et al. (2006). A média dos alelos mais frequentes encontrada foi de 0,6056 (Quadro 24). Portanto, todos os *loci* microssatélites apresentaram polimorfismo e os valores encontrados para os alelos mais comuns variaram entre 0,4615 (GA 126) e 0,949 (GA 136), estando de acordo com resultados plausíveis para os trabalhos sobre diversidade genética em mandioca. (Fregene et al., 2003; Lokko et al., 2006; Kizito et al., 2007; Moyib et al., 2007; Peroni et al., 2007; Raghu et al., 2007; Siqueira et al., 2009; Turyagyenda et al., 2012; Ortiz, 2013; Ferreira, 2014).

Referente aos alelos raros, estes também foram encontrados. Segundo

Siqueira et al. (2009), um alelo raro é aquele que apresenta frequência de até 0,05 nas populações, ou seja, em uma população de 100 plantas, ter-se-á, no máximo, 5 plantas portadoras desse alelo. No presente trabalho, tratam-se dos alelos raros: 180 pb, no *locus* GA 12; 190 e 230 pb, no *locus* GA 126; 108, 124 e 130 pb, no *locus* GA 131; 170 e 180 pb, em GA 140; 224 pb no *locus* SSRY101; 269 pb no *locus* SSRY 135, 178 e 209 pb no *locus* SSRY 19; 267 pb no *locus* SSRY 27; 160 pb no *locus* SSRY 28; 280 pb no *locus* SSRY 35; 189 pb no *locus* SSRY 45. e por fim os alelos raros 220, e 230 pb no *locus* SSRY 13. Foi encontrado um total de 17 alelos raros, variando sua frequência desde 0,0096 a valores como 0,0306

No presente trabalho, foram encontrados 15 alelos de baixa frequência que, segundo Viegas et al. (2011), são aqueles que variam entre 0,05 e 0,25. Os alelos de baixa frequência foram: 229 e 242 pb no *locus* GA 127; 320 e 340 pb no *locus* GA 134; 108 pb no *locus* GA 21; 152 pb no *locus* GA 136; 180 e 200 pb no *locus* GA 57; 200 pb no *locus* SSRY 100; 218 pb no *locus* SSRY 101; 186 e 205 no *locus* SSRY 21; 275 pb no *locus* SSRY 27; 140 pb no *locus* SSRY 28; 240 e 290 pb no *locus* SSRY 35 e por fim o alelo 172 pb no *locus* SSRY 45.

Os resultados encontrados para alelos raros e de baixa frequência em mandioca se relacionam com diversos trabalhos encontrados na literatura (Mkumbira et al., 2003; Peroni et al., 2007; Rocha et al., 2008; Siqueira et al., 2009; Asare et al., 2011; Turyiagienda et al. 2012; Ortiz 2013; Costa et al., 2013; Ferreira, 2014). Entretanto, no presente trabalho, houve um índice maior de alelos raros e de baixa frequência. Estes resultados podem ser explicados devido à ação antrópica e grande exploração de recursos naturais, podendo haver fragmentação do ecossistema terrestre, proveniente do grande índice de urbanização nas cidades (Lacy, 1987, Viegas, 2011). Com esse processo, a população tende a ficar prejudicada quanto à diversidade genética, pois o mecanismo microevolutivo da deriva genética pode provocar redução na frequência alélica da população original podendo até mesmo acarretar a sua perda (Lacy, 1987; Viegas, 2011). Em contrapartida, os alelos 150 pb em GA 136, 190 em SSRY 100, 214 pb no *locus* SSRY 101, 265 pb no *locus* SSRY 27, 250 pb no *locus* SSRY 35 e 310 pb no *locus* GA 134 evidenciaram valores elevados em relação à frequência alélica, que foram: 0,9489, 0,8653, 0,8600, 0,7708, 0,7446 e 0,7282 (Quadro 24). Estes valores elevados podem estar diretamente relacionados à tendência de fixação destes alelos na população (Mello et al., 2011), levando a um maior grau de homozigose, uma vez que o valor da

heterozigosidade para estes alelos foram menores: 0,1020, 0,2692 e 0,2600, 0,4167, 0,2340 e 0,2609, respectivamente (Quadro 24).

O valor médio encontrado para a heterozigosidade observada no presente estudo foi de 0,6487 (Quadro 24). Este valor está de acordo com outros trabalhos em mandioca, conforme Monteiro-Rojas (2011), que obteve 0,6705 como valor médio da heterozigosidade, a partir de 23 cultivares coletadas na Fazenda Experimental de Corozal, da Universidade de Porto Rico, e um adicional de 162 acessos tradicionais coletados ao redor da Ilha, totalizando um total de 185 acessos. Kawuki et al. (2013), analisando a diversidade genética de acessos de mandioca provenientes de variedades locais e cultivares do Sul, Leste e Centro da África, encontraram um valor próximo ao encontrado no presente trabalho, sendo de 0,57.

Outro valor próximo encontrado na literatura foi o obtido por Costa et al. (2013): 0,5580 para a heterozigosidade. Foram encontrados também estudos que identificaram médias maiores para H_o , como os de Asare et al. (2011) que, trabalhando com acessos de mandioca de Gana, encontraram 0,78; Turyagyenda et al. (2012) que encontraram 0,726 em acessos de Uganda; e Ferreira (2014) que, trabalhando com acessos tradicionais provenientes do Mato Grosso do Sul, encontrou a maior média: 0,8625. Entretanto, valores menores para a média da heterozigosidade observada também foram encontrados por Siqueira et al. (2009) e Sree Lekha et al. (2010), respectivamente, 0,265 e 0,2255.

O elevado valor da média da heterozigosidade encontrado no presente estudo associa-se ao às características reprodutivas da planta de mandioca (monoicia e protoginia) (Fregene et al., 2003).

Em relação à diversidade genética encontrada (Quadro 24), o *locus* onde se verificou maior diversidade entre os acessos avaliados foi o GA 127, seguido pelo *locus* SSRY 21 e SSRY 28, com valores de 0,7270, 0,6809 e 0,6185, respectivamente (Quadro 24). Em contrapartida, o *locus* que demonstrou menor diversidade genética entre os acessos foi o GA 136, seguido pelo *locus* SSRY 100 e SSRY 101, com valores de 0,0968, 0,2330 e 0,2434, respectivamente. Segundo Mühlen et al. (2000), *loci* com reduzido número de alelos apresentam desequilíbrio entre as frequências alélicas, fazendo com que o *locus* apresente baixa estimativa para diversidade genética.

Quadro 24 – Número de alelos, maior frequência alélica, conteúdo de informação de polimorfismo, heterozigosidade observada e diversidade genética, estimados pelo Programa Powermarker 3.25 (Liu e Muse, 2005), com base nos 20 *loci* microssatélites

<i>Loci</i>	Nº de alelos	Maior frequência alélica	PIC ¹	<i>Ho</i> ²	Diversidade Genética
GA 12	3	0,4313	0,3852	0,8824	0,5015
GA 126	4	0,5192	0,4022	0,9423	0,5172
GA 127	4	0,3297	0,6763	0,9362	0,7270
GA 131	5	0,4900	0,4433	1,000	0,5463
GA 134	3	0,7282	0,3659	0,2609	0,4194
GA 136	2	0,9489	0,0921	0,1020	0,0968
GA 140	4	0,4803	0,4301	1,00	0,5375
GA 21	3	0,5200	0,4712	0,8000	0,5632
GA 57	3	0,5581	0,5236	0,6977	0,5898
SSRY 100	2	0,8653	0,2058	0,2692	0,2330
SSRY 101	3	0,8600	0,2183	0,2600	0,2434
SSRY 135	3	0,6444	0,3803	0,4889	0,4731
SSRY 19	4	0,4693	0,4587	1,000	0,5575
SSRY 21	4	0,4361	0,6237	0,8936	0,6809
SSRY 27	3	0,7708	0,3098	0,4167	0,3620
SSRY 28	4	0,4903	0,5456	0,6731	0,6185
SSRY 35	4	0,7446	0,3806	0,2340	0,4149
SSRY 45	4	0,5434	0,4662	0,5217	0,5555
SSRY 51	2	0,5000	0,3750	1,000	0,5000
SSRY 13	4	0,6538	0,4052	0,5962	0,4824
Média	3,4	0,6056	0,4060	0,6487	0,4810

¹ PIC – Conteúdo de informação de polimorfismo; ² *Ho* – Heterozigosidade por *locus*.

Analisando o conteúdo de informação polimórfica (PIC), o seu valor médio obtido foi 0,4060 (Quadro 24), considerado dentro do alcance daqueles relatados para outras espécies de plantas, onde a média dos valores de PIC dos marcadores EST-SSR variaram de 0,32 a 0,66 (Varshney et al., 2010). Este parâmetro é de grande importância, pois é utilizado como indicativo do conteúdo informativo de cada *primer*, ou seja, do poder discriminatório que eles possuem entre cada cultivar tradicional de mandioca (Moyib et al., 2007). Segundo Botstein et al. (1980), valores

superiores a 0,5 indicam que o *locus* é altamente informativo, entre 0,25 e 0,5 medianamente informativos e inferiores a 0,25 levemente informativos. Desta maneira, no presente trabalho, os valores de PIC foram classificados como medianamente informativos, estando próximos de valores considerados informativos, ou seja, 0,5.

Os *loci* que apresentaram maior conteúdo de informação polimórfica foram GA 127, SSRY 21, SSRY 28, GA 57, com valores de PIC iguais a 0,6763, 0,6237, 0,5456 e 0,5236, respectivamente (Quadro 24). Os *loci* que apresentaram menores valores de PIC foram: GA 136, SSRY 100 e SSRY 101, com valores de 0,0921, 0,2183 e 0,2058, nesta ordem. Os outros *loci* foram considerados medianamente informativos, com valores girando em torno de 0,3098 a 0,4662.

Foram relatados em outros trabalhos valores semelhantes ou próximos do PIC: Moyib et al. (2007), Costa et al. (2013) e Ortiz (2013), de acordo, portanto, com valores aqui encontrados, os quais variaram de 0,4040 a 0,4598. Entretanto, em outros trabalhos, foram encontrados valores superiores do valor médio de PIC, como os trabalhos de Asare et al. (2011) Raji et al. (2009), Turyagyenda et al. (2012) e de Ferreira (2014), que foram 0,53, 0,55, 0,611 e 0,5247, respectivamente.

Moazami-Goudarzi et al. (1994) afirmam que o valor de PIC é diretamente dependente do número de alelos encontrados por *locus*, assim como de suas frequências, sendo afetado pela presença de alelos raros. No presente estudo, o *locus* GA 131 poderia apresentar o maior valor de PIC por exibir o maior número de alelos na população, mas valor encontrado foi relativamente mediano: 0,4433 (Quadro 24). O principal motivo dessa divergência foi a presença em demasia de alelos raros neste *locus* (Quadro 24), diminuindo seu valor de PIC. Algo semelhante pode ter ocorrido em pesquisas realizadas por Raji et al. (2009), que encontraram o valor de 0,71 para o PIC no *locus* SSRY 33, com dez alelos, enquanto o *locus* SSRY 19, com apenas seis alelos, obteve o valor de 0,75, ou seja, um valor maior de PIC quando comparado ao *locus* que apresentou mais alelos. Desta maneira, a presença de alelos raros no *locus* SSRY 33 pode ter influenciado o decréscimo do valor de PIC encontrado.

4.6. Divergência genética mediante o uso de marcadores SSR

No Quadro 25, encontram-se as combinações mais divergentes e mais

similares obtidas pela distância de C. S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967), que demonstram a divergência entre os acessos de mandioca, implementada pelo programa PowerMarker 3.25 (Liu e Muse, 2005).

Entre as combinações mais divergentes encontradas, é possível destacar BGM 684 Po x BGM 655 Po, com distância de 0,5696; BGM 647 Po x BGM 660 Cal, com distância de 0,5212; seguidos por BGM 659 Cal x BGM 675, BGM 674 Po x BGM 655 Po, com 0,4854 e 0,4759, respectivamente (Quadro 25).

As proporções dos acessos mais divergentes foram distribuídas de maneira heterogênea nos locais coletados: Poços de Caldas com Caldas resultaram em 36% das combinações mais divergentes; Poços de Caldas combinando com acessos da mesma cidade e coletados em bairros diferentes, resultando em 24% mais divergentes; Alfenas com Poços de Caldas 12%; Poços de Caldas com Botelhos 16%, Alfenas com Caldas 8%; e restando Botelhos com Caldas, apresentando proporção de combinação mais divergente, de 4%.

Pelo presente estudo, os acessos considerados mais divergentes podem ser utilizados em programas de melhoramento como parentais na formação de clones heteróticos (Gonçalves-Vidigal et al., 1997) desde que os parentais sejam geneticamente complementares (Nick et al., 2010). Os cruzamentos mais indicados são entre BGM 684 com BGM 655; BGM 647 com BGM 660; e BGM 659 com BGM 675.

Os acessos menos divergentes encontrados neste trabalho estão apresentados no Quadro 25. Provavelmente, alguns desses acessos possam ser duplicatas, como BGM 669, BGM 668. Os demais acessos apresentaram o índice de similaridade s_{ii} variando entre 0,0244 a 0,0974 (Quadro 25) e, portanto, muito próximos entre si no que se refere à estruturação genética. Este fator pode estar relacionado a intensas trocas de material entre os agricultores, ou até mesmo à catalogação de acessos diferentes, ou podem ser o mesmo acesso (duplicatas). Vale destacar que o cultivar IAC 576-70 incluído no presente trabalho como função comparativa, ficou entre os mais similares, juntamente com combinações entre acessos de Botelhos. Podemos presumir, pelo método da distância de C. S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967), uma semelhança na estrutura genética entre essa cultivar e os acessos de Botelhos (BGM 663, 664, 668 e 669).

Quadro 25 – Combinações divergentes e similares entre os 52 acessos de mandioca-de-mesa coletados na região Sul do Estado de Minas Gerais*, resultantes da avaliação por meio da distância C.S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967)

Combinações mais divergentes ¹	Combinações mais similares
BGM 684 Po x BGM 655 Po = 0,5686	BGM 669 Bot x BGM 668 Bot = 0,000
BGM 647 Po x BGM 660 Cal = 0,5212	BGM 670 Bot x BGM 671 Bot = 0,0244
BGM 659 Cal x BGM 675 Po = 0,4854	BGM 652 Po x BGM 653 Po = 0,0271
BGM 674 Po x BGM 655 Po = 0,4759	BGM 663 Bot x BGM 664 Bot = 0,0271
BGM 684 Po x BGM 660 Cal = 0,4594	BGM 673 Po x BGM 682 Po = 0,0271
BGM 658 Cal x BGM 647 Po = 0,4520	IAC 576-70 x BGM 669 Bot = 0,0305
BGM 675 Po x BGM 648 Po = 0,4481	BGM 671 Bot x BGM 668 Bot = 0,0487
BGM 647 Po x BGM 657 Po = 0,4461	BGM 671 Bot x BGM 672 Bot = 0,0487
BGM 649 Po x BGM 660 Cal = 0,4387	BGM 639 Po x BGM 644 Po = 0,0487
BGM 672 Bot x BGM 660 Cal = 0,4349	BGM 668 Bot x BGM 670 Bot = 0,0487
BGM 648 Po x BGM 649 Po = 0,4292	BGM 664 Bot x BGM 668 Bot = 0,0592
BGM 684 Po x BGM 647 Po = 0,4265	BGM 658 Cal x BGM 659 Cal = 0,0650
BGM 647 Po x BGM 659 Cal = 0,4257	BGM 664 Bot x BGM 669 Bot = 0,0661
BGM 643 Alf x BGM 656 Po = 0,4213	BGM 671 Bot x BGM 666 Bot = 0,0730
BGM 680 Bot x BGM 647 Po = 0,4183	BGM 670 Bot x BGM 672 Bot = 0,0731
BGM 651 Po x BGM 643 Alf = 0,4164	BGM 661 Po x BGM 635 Po = 0,0809
BGM 639 Po x BGM 660 Cal = 0,4163	BGM 662 Bot x BGM 666 Bot = 0,0848
BGM 674 Po x BGM 658 Cal = 0,4125	IAC 576-70 x BGM 663 Bot = 0,0860
BGM 660 Cal x BGM 634 Po = 0,4106	IAC 576-70 x BGM 668 Bot = 0,0895
BGM 643 Alf x BGM 659 Cal = 0,4078	IAC 576-70 x BGM 664 Bot = 0,0948
BGM 637 Po x BGM 643 Alf = 0,4065	BGM 645 Po x BGM 653 Po = 0,0948
BGM 658 Cal x BGM 643 Alf = 0,4037	BGM 636 Po x BGM 652 Po = 0,0974

¹Po: Poços de Caldas, Bot: Botelhos, Cal: Caldas, Alf: Alfenas.

4.7. Estrutura da população

A análise da estrutura populacional foi realizada pelo Programa Structure 2.3.4, método probabilístico (Pritchard, 2000) e realizada por meio de um período de *burn-in* de 10.000 ciclos e 100.000 repetições, simulando a distribuição dos acessos de K=2 até K=15 grupos, apresentando como arquivo de saída as pressuposições de distribuição da população. Algumas delas podem ser observadas na Figura 11, que apresenta as simulações de K=2 até K=5 grupos.

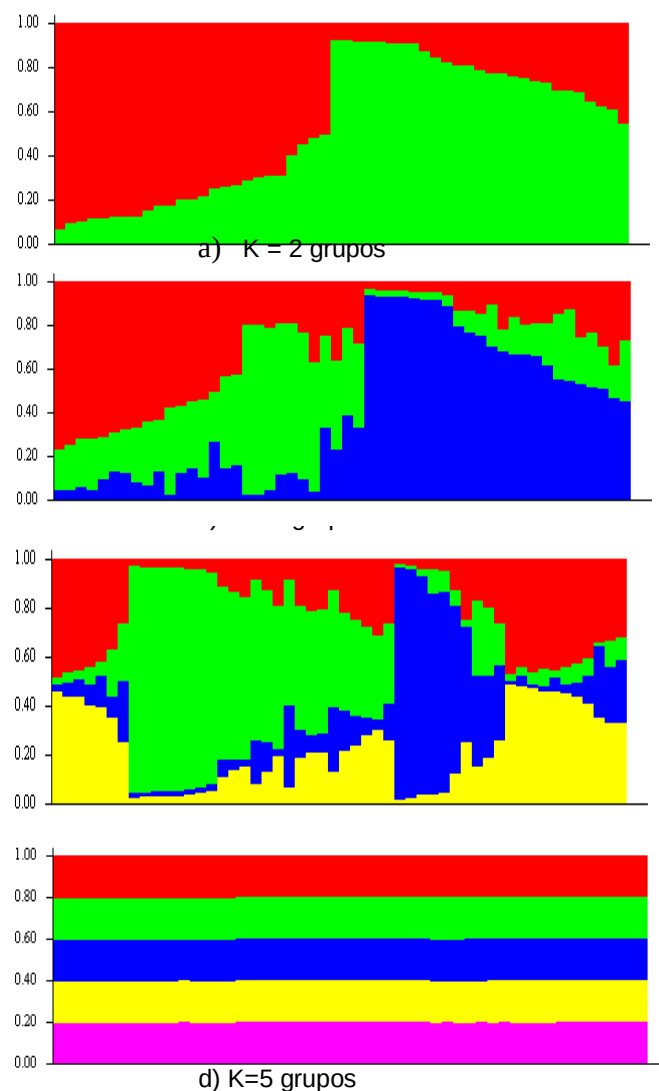


Figura 11 - Estrutura populacional dos acessos de mandioca-de-mesa de Minas Gerais, supondo a formação de 2, 3, 4 e 5 grupos (A, B, C e D, respectivamente), pelo programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000).

A partir de K= 5 grupos, não houve distinção correta entre os acessos alocados para esse grupo. Desta maneira, baseando-se nos resultados obtidos pelo programa Structure, foi utilizado o aplicativo Structure Harvester (Earl e Vonholdt, 2012) para a determinação do valor de ΔK e, conseqüentemente, a determinação do valor ótimo de K, que representa quantidade de grupos que melhor se adequa à

distribuição dos acessos mais similares (Figura 12). Foi observado que o número de grupos definidos para as 51 cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa analisadas dos municípios de Poços de Caldas, Caldas, Alfenas e Botelhos, apresentado na Figura 16, foi 4, conforme pico revelado sobre este valor para ΔK .

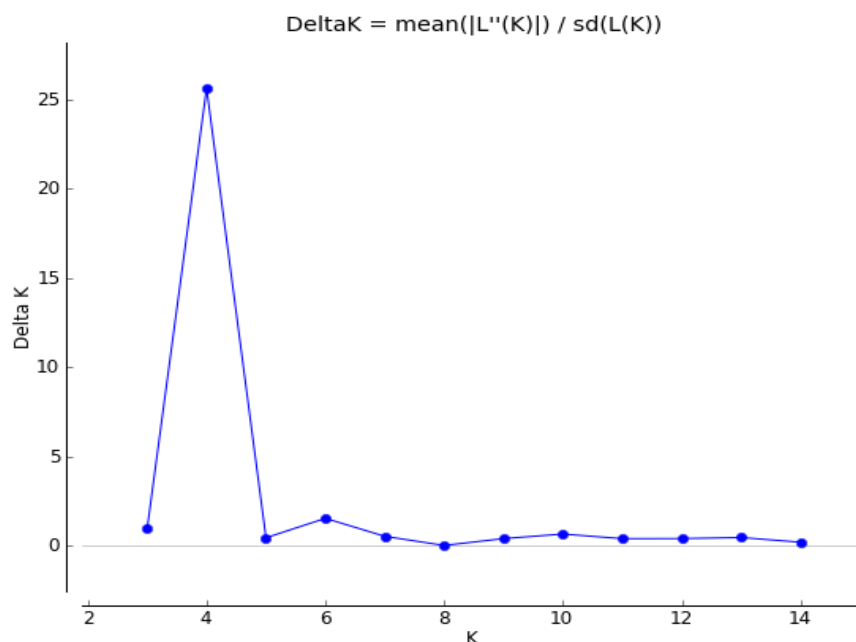


Figura 12 – Estrutura populacional dos acessos de mandioca-de-mesa coletados no Sul de Minas Gerais: Verificação do ΔK máximo e inferência do número de K grupos da população de estudo, implementado pelo programa Structure Harvester (Earl e Vonholdt, 2012).

A Figura 13 mostra com maiores detalhes como os acessos avaliados encontram-se distribuídos nos quatro grupos assumidos para a população de mandioca-de-mesa de Poços de Caldas, Caldas, Botelhos e Alfenas. Observa-se, na Figura 13, que o eixo das ordenadas demonstra as probabilidades dos indivíduos pertencerem ao k -ésimo grupo, enquanto no eixo das abscissas está alocado cada acesso em sua respectiva barra.

No quadro 26, encontram-se todos os acessos separados pela divisão dos grupos, proposta pelo programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000), com seus correspondentes nomes no Banco de Germoplasma da Fazenda Experimental de Iguatemi e número de ordem. No quadro 26, estão exibidas as probabilidades $p(k)$ dos acessos pertencerem ao mesmo grupo.

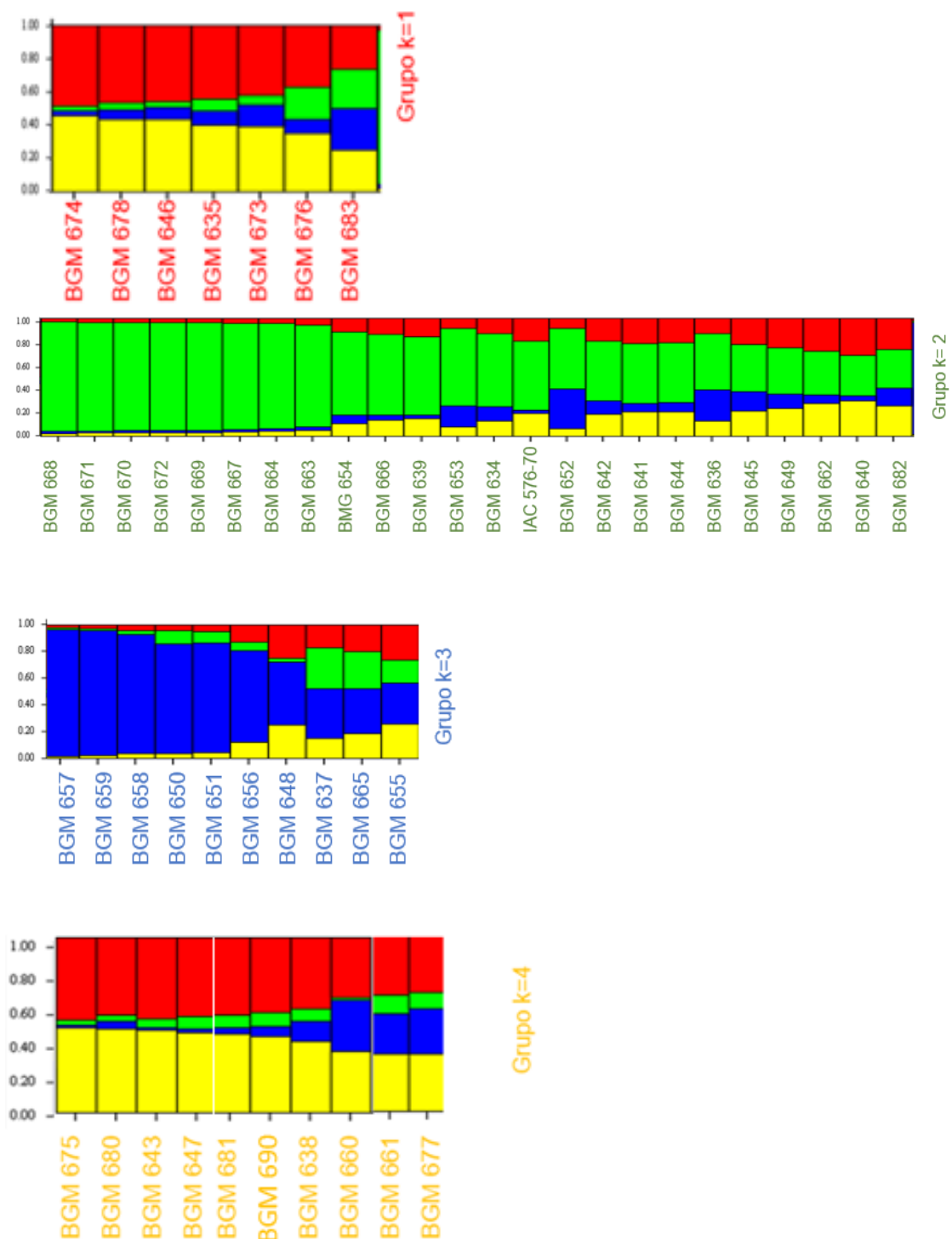


Figura 13 – Estrutura populacional, número de ordem dos acessos e probabilidades de alocação dos acessos de mandioca-de-mesa coletados na Sul de Minas Gerais para $k = 4$ grupos, conforme resultados propostos pelo programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000).

Quadro 26 – Acessos, grupo K e probabilidades $P(K)$ de alocação no k -ésimo grupo, considerando os 52 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais de $k=1$ a $k=4$ grupos

Nº de ordem	Acesso	Grupo K	P(k)	Nº de ordem	Acesso	Grupo K	P(k)
1	BGM 634	2	0,65	27	BGM 660	4	0,39
2	BGM 635	1	0,40	28	BGM 661	4	0,38
3	BGM 636	2	0,50	29	BGM 662	2	0,39
4	BGM 637	3	0,97	30	BGM 663	2	0,97
5	BGM 638	4	0,45	31	BGM 664	2	0,96
6	BGM 639	2	0,73	32	BGM 665	3	0,32
7	BGM 640	2	0,39	33	BGM 666	2	0,74
8	BGM 641	2	0,53	34	BGM 667	2	0,97
9	BGM 642	2	0,53	35	BGM 668	2	0,99
10	BGM 643	4	0,51	36	BGM 669	2	0,97
11	BGM 644	2	0,53	37	BGM 670	2	0,96
12	BGM 645	2	0,40	38	BGM 671	2	0,98
13	BGM 646	1	0,42	39	BGM 672	2	0,95
14	BGM 647	4	0,50	40	BGM 673	1	0,40
15	BGM 648	3	0,62	41	BGM 674	1	0,45
16	BGM 649	2	0,40	42	BGM 675	4	0,52
17	BGM 650	3	0,84	43	BGM 676	1	0,38
18	BGM 651	3	0,64	44	BGM 677	4	0,38
19	BGM 652	2	0,53	45	BGM 678	1	0,42
20	BGM 653	2	0,68	46	BGM 680	4	0,51
21	BGM 654	2	0,75	47	BGM 681	4	0,49
22	BGM 655	3	0,32	48	BGM 682	2	0,37
23	BGM 656	3	0,63	49	BGM 683	1	0,25
24	BGM 657	3	0,97	50	BGM 684	4	0,48
25	BGM 658	3	0,95	51	BGM 686	2	0,64
26	BGM 659	3	0,96	52			

O resultado da estrutura populacional de mandiocas-de-mesa coletadas na região Sul de Minas Gerais, implementado pelo programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000), evidenciou uma ampla distribuição dos acessos em pelo menos 3 dos 4 grupos formados (Quadro 27). No grupo $k = 1$, ocorreu a predominância dos acessos de Poços de Caldas, com proporções de 71,4%, e de Botelhos, com 28,5% (Figura 13 e Quadro 27).

O grupo $k = 2$ apresentou o maior número de acessos (Figura 13 e Quadro 27). A proporção de acessos foi 54,16% pertencentes a acessos tradicionais de Poços de Caldas; 37,5% de Botelhos; Alfenas, 4,1%; e a cidade de Caldas não foi representada por nenhum acesso tradicional neste grupo populacional. A cultivar comparativa IAC 576-70 foi incluída no grupo 2, com 4% de frequência (Quadro 27)

entre dois acessos de Poços de Caldas e acessos de Botelhos. (Figura 13) Essa distribuição pode sugerir uma grande aproximação da estrutura genética da cultivar IAC 576-70 com os acessos de Botelhos e de Poços de Caldas formados neste grupo.

Quadro 27 – Distribuição dos acessos por frequência, alocados em seus respectivos grupos pelo método probabilístico (Pritchard et al., 2000)

Local	Grupo 1 (%)	Grupo 2 (%)	Grupo 3 (%)	Grupo 4 (%)
Poços de Caldas	71,4	54,16	60	60
Caldas	-	-	20	10
Alfenas	-	4,1	10	10
Botelhos	28,6	37,5	10	20

No grupo k=3, os acessos de Poços de Caldas alcançaram proporções iguais a 60%; os acessos de Caldas, Alfenas e Botelhos alcançaram 20%, 10% e 10%, respectivamente. No grupo k=4, a distribuição dos acessos as proporções de 60%, 10%, 10% e 20% entre acessos de Poços de Caldas, Alfenas, Caldas e Botelhos (Figura 13 e Quadro 27).

A dinâmica dos grupos formados pelo programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) mostra que a distribuição dos acessos ocorreu de maneira heterogênea, sendo que acessos da mesma cidade foram alocados em grupos distintos, como, por exemplo, o caso de BGM 643, BGM 642 e BGM 650, representantes de Alfenas. Era de se esperar que estes acessos estivessem no mesmo grupo, porém eles se agruparam em três grupos distintos. Outro exemplo semelhante ocorreu com os acessos de Poços de Caldas e de Botelhos que, por pertencerem a cidades diferentes, deveriam ser alocados em dois grupos distintos, mas isso também não ocorreu. Eles se distribuíram de maneira heterogênea mediante todos os grupos propostos pelo programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000).

No presente trabalho, houve uma tendência dos acessos coletados nos mesmos locais (bairros) serem alocados em grupos distintos, conforme ocorreu com BGM 637 e BGM 674, ambos do Bairro Santana, município de Poços de Caldas. Situação semelhante também foi encontrada por Costa et al. (2013) em seu trabalho com acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados na cidade de Maringá – PR. Acessos do mesmo bairro foram alocados de maneira distantes entre si pela metodologia proposta pelo programa Structute 2.3.4 (Pritchard, 2000). Este resultado

reforça a importância das trocas de acessos entre produtores de diferentes locais sobre a estrutura da população, fazendo com que acessos de regiões próximas possam ser alocados em grupos diferentes e acessos de locais distantes possam ser distribuídos no mesmo grupo (Lokko et al., 2006; Kizito et al., 2007, Ortiz, 2013).

Segundo Ortiz (2013), a comparação de acessos diferentes para a identificação da estrutura genética deve ser realizada entre acessos individualmente e não entre locais. Somente após análise dos dados obtidos pode-se fazer a inferência da estrutura populacional embasada na diferenciação genética, que pode ou não refletir a localização geográfica. Isso depende principalmente das características da população com relação ao isolamento destes acessos, o que pode impossibilitar a troca de alelos entre as populações, causando a separação em diferentes grupos.

O resultado da estrutura populacional reflete uma situação real de como esses acessos se encontram nos seus locais de origem. Além disso, a estrutura populacional é influenciada diretamente pelas trocas de alelos entre os acessos, ocasionadas pela troca de materiais entre os pequenos produtores, somado à fecundação cruzada típica das plantas de mandioca (Lokko et al., 2006; Kizito et al., 2007).

Assim, por meio da matriz de distâncias genéticas de C.S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967), o programa PowerMarker 3.25 (Liu e Muse, 2005) gerou a Árvore do Vizinho mais Próximo (*Neighbor-joining tree*) (Figura 14).

Pelo número de grupos gerados, as duas metodologias não divergem quanto aos resultados. Ambas propiciaram resultados similares (Figura 14). Houve uma divergência de resultados quando comparada a distribuição dos acessos dentro dos grupos formados pelas duas metodologias propostas. No grupo 1, o acesso BGM 683 foi único que se distribuiu coincidentemente nas duas metodologias, estando no mesmo grupo. No grupo 2, houve o maior número de coincidências, os acessos BGM 642, BGM 644, BGM 639, BGM 652, BGM 653, BGM 645, BGM 636, BGM 649, BGM 641, BGM 634 e o acesso BGM 654 se distribuíram de maneira coincidente no grupo 2 nas duas metodologias propostas. No grupo 3, não houve nenhum acesso coincidente e no grupo 4 somente os acessos BGM 675, BGM 681, BGM 661, BGM 638 e BGM 643 se distribuíram no mesmo grupo na metodologia probabilística (Pritchard et al., 2000) e pelo método da distância de S. C. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967).

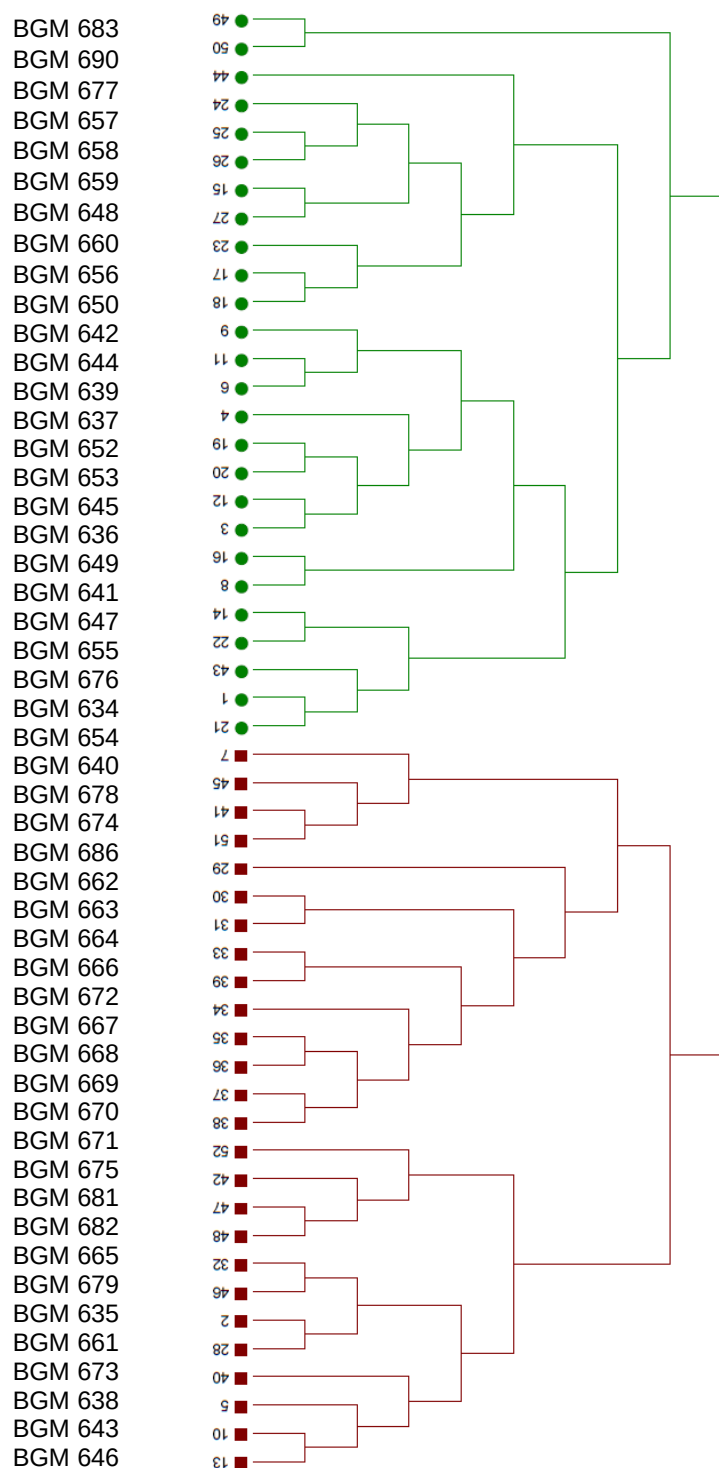


Figura 14 - Distribuição das cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa coletadas no Sul de Minas Gerais, representadas por seus números de ordem presentes no Quadro 5, de acordo com a Árvore do Vizinho mais Próximo (*Neighbor-Joining tree*).

Foi ainda realizada a Análise de Coordenadas Principais (Figura 15), que toma por base a análise da distribuição dos acessos mais similares ou divergentes entre si em um plano cartesiano, implementada pelo programa GenAlEx 6.5 (Peakall e Smouse, 2006, 2012). Esta análise revelou a existência de 4 grupos, corroborando os resultados obtidos pelo método probabilístico (Figura 13).

Os pontos mais próximos no gráfico de coordenadas principais (Figura 15) mostram a similaridade entre os acessos 35 e 36 (BGM 669 e 668), que foram considerados duplicatas, e os acessos 37 e 38 (BGM 670 e BGM 671) e 19 e 20 (BGM 652 e BGM 653) considerados mais similares na análise baseada na distância de C.S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967).

Os acessos 51 e 22 (BGM 684 e BGM 655), 14 e 27 (BGM 647 e BGM 660 Cal), 26 e 42 (BGM 659 e BGM 675) e 41 e 22 (BGM 674 e 675) estão em pontos distintos no plano cartesiano, reafirmando serem os acessos mais divergentes (Figura 15). Alguns acessos, porém, foram alocados em grupos distintos quando utilizada a técnica baseada em distâncias PCoA (Figura 15) e o método probabilístico (Figura 13) (Pritchard et al., 2000). Um exemplo deste resultado é ocorrido com o acesso 52 (comparativo IAC 576-70) que, pelo método probabilístico ficou agrupado no grupo $k = 2$; pelo método baseado nas distâncias PCoA foi trocado para o grupo $k = 4$ (Figura 15).

Outro exemplo de mudança está entre os acessos 18 e 15 (BGM 651 e BGM 648). Estes dois acessos estavam alocados no grupo $k = 3$, porém, pelo método de PCA, os dois acessos foram mudados para o grupo $k = 2$.

Ortiz (2013), analisando a diversidade genética e estrutura populacional de mandioca-de-mesa coletadas na cidade de Maringá, pelo uso de marcadores microsatélites, também observou mudança de grupos em seus acessos quando comparou o método probabilístico (Pritchard et al., 2000) com o método de PCoA implementado pelo programa GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2006, 2012). Na sua análise o acesso BGM 460 e BGM 467 foram alocados em lugares diferentes, indo do grupo $k = 2$ para o $k = 3$.

Tanto a metodologia proposta pelo método probabilístico (Pritchard et al., 2000) (Figura 13), a metodologia da Árvore do Vizinho mais Próximo (*Neighbor-Joining Tree*) (Figura 14), baseada na matriz distâncias de C.S. Chord (Cavalli-Sforza e Edwards, 1967), quanto a metodologia de PCoA (Figura 16), gerada pelo programa GenAlEx 6.5 (Peakall e Smouse, 2006, 2012), foram de grande valia para

o estudo da estrutura populacional dos acessos aqui avaliados e divergiram em poucos aspectos.

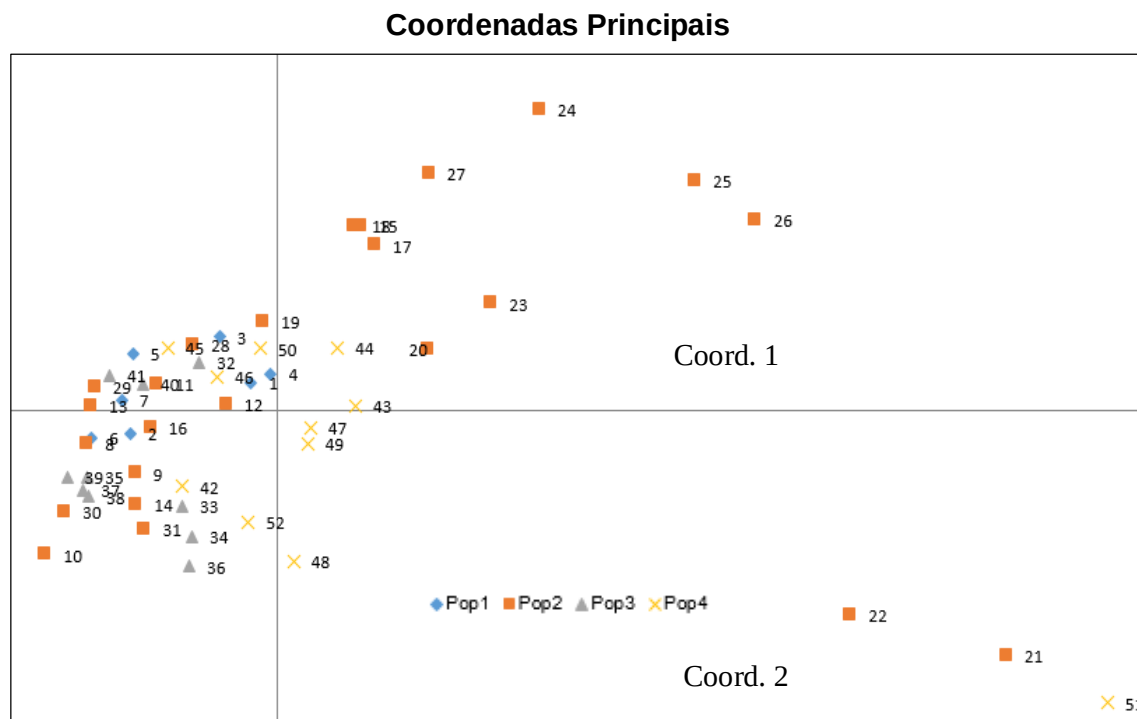


Figura 16 – Comparação da estrutura populacional entre cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa, dada pela Análise de Coordenadas Principais (PCoA1 vs PCoA2) e pelo método probabilístico: $K1$, $K2$, $K3$ e $K4$ – nomenclatura correspondente ao método probabilístico, representado pelo seu número de ordem presente no Quadro 5.

Resultados similares quanto à comparação destas técnicas foram encontrados no trabalho de Inghelandt et al. (2010). Os pesquisadores, ao estudar a correlação entre a Análise de Coordenadas Principais e o agrupamento de 1.537 linhas elite puras de milho, com o auxílio de 359 marcadores microssatélites e 8.244 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), utilizando da metodologia de Pritchard et al. (2000), observaram que a correlação foi muito elevada e que ambos os métodos de agrupamento foram igualmente apropriados.

Mezette et al. (2013), analisando a diversidade genética de acessos de mandioca de 4 regiões brasileiras distintas também evidenciaram grande correlação entre o método probabilístico (Pritchard et al., 2000) e o da metodologia de PCoA, resultando em pouca divergência em seus resultados.

Outros estudos chegaram a resultados similares comparando duas ou mais técnicas utilizadas neste trabalho, como Maurer et al. (2006), Zhang et al. (2007), Kwak et al., (2009), Kwak e Gepts (2009), Costa et al. (2013) e Ortiz (2013).

O Quadro 28 apresenta os resultados da Análise Molecular de Variância – AMOVA, obtida mediante o emprego do programa GenAlEx 6.5 (Peakall e Smouse, 2006, 2012) e considerando os quatro grupos formados: *K1*, *K2*, *K3* e *K4*. Observa-se no Quadro 28 que, segundo a AMOVA, a maior parte da variabilidade genética ficou contida dentro dos grupos devido a um valor de 93%.

O valor de 7,3 % de variação entre os grupos, ou seja o valor de PhiPT (análogo ao Fst de Wright) de 0,073, significativo a 1% de probabilidade, é indicativo do nível de variação genética existente entre os grupos formados na população, sendo esta variação classificada como moderada (Wright, 1978; Hartl e Clark, 2010).

Quadro 28 - Análise molecular de variância (AMOVA), considerando os grupos K1, K2, K3 e K4, em análise realizada entre os 122 acessos de mandioca-de-mesa, utilizando marcadores microsatélites

Fonte de Variação	GL ¹	SQ ²	QM ³	VE ⁴	(%)	PhiPT*	PMS ⁵
Entre grupos	3	50,780	16,927	0,690	7	0,073	0,001
Dentro dos grupos	48	418,277	8,714	8,714	93		
Total	51	469,058		9,404	100		

¹ GL – Graus de Liberdade; ² SQ – Soma de Quadrados; ³ QM – Quadrado Médio; ⁴ VE – Variância Estimada; ⁵ PMS. – Probabilidade Mínima de Significância; ** Significativo a 1% de probabilidade, *PhiPT - Análogo ao valor de Fst de Wright.

Confrontando os resultados da AMOVA do presente trabalho com outros correlacionados na literatura, os resultados aqui apresentados estão em conformidade com Costa et al. (2013), que analisaram a diversidade genética de mandiocas-de-mesa coletadas no estado do Paraná e obtiveram grande variação dentro dos grupos formados, equivalente a 77%, contra a variação existente entre os grupos, que foi de 23%. Já seu valor para o grau de variação genética entre os grupos formados na população phiPT (Fst de Wright) foi muito elevado: 0,228, ou seja, 22,8%. Ortiz (2013) analisou a diversidade genética e estrutura populacional de acessos oriundos das cidades de Cianorte, Toledo e Maringá e encontrou um valor

de 83% de variação dentro dos grupos e 17% entre grupos. O valor encontrado para o ϕ_iPT (análogo F_{st} de Wright) foi de 0,17, ou seja, 17% significativo a 1% de probabilidade. Trata-se de um indicativo do nível de variação existente entre os grupos formados na população, sendo esta variação entre moderada e alta. Ferreira (2014) obteve para a variação dentro dos grupos formados um valor de 77% contra 23% para a variação entre grupos formados a partir dos acessos coletados em Campo Grande no Mato Grosso do Sul. O valor encontrado para o ϕ_iPT foi igual ao aqui relatado, ou seja, de 0,07 (valor de 7%), indicando variação genética moderada existente entre os grupos formados.

5. CONCLUSÕES

a) Pela análise dos descritores morfológicos qualitativos, houve a formação de 6 grupos distintos. Os acessos BGM 674, BGM 686 e BGM 690 foram considerados os mais divergentes e as combinações entre BGM 640 x BGM 690, BGM 647 x BGM 690, BGM 675 x BGM 690, BGM 678 x BGM 690 e BGM 680 x BGM 690 apresentaram-se como as mais promissoras para um futuro programa de melhoramento genético.

b) Pela análise dos descritores quantitativos, houve a formação de 7 grupos distintos. Os acessos BGM 655, BGM 640, BGM 660 e BGM 690 foram os mais divergentes e as combinações mais promissoras indicadas para um futuro programa de melhoramento genético estão entre os parentais BGM 675 x BGM 690 e BGM 690 x BGM 660.

c) Os acessos mais divergentes pela análise molecular foram entre BGM 684, BGM 655, BGM 647, BGM 660, os quais são recomendados para um futuro programa de melhoramento genético.

d) A análise dos 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa possibilitou a identificação de 68 alelos distribuídos na população.

e) A heterozigosidade média observada foi de 0,6487 e a diversidade genética média de 0,4810, evidenciando uma moderada variabilidade genética entre os acessos avaliados.

f) Os *loci* GA 127, SSRY 21, SSRY 28 e GA 57 foram os que apresentaram maior conteúdo informativo.

g) A estrutura populacional dos 51 acessos foi dividida pela metodologia probabilística e, pelo método da distância de S. C. Chord, em quatro grupos, havendo em todos uma distribuição heterogênea dos acessos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENLE, A.A.; AWORH, O.C.; AKROMAH, R.; PARAYIL, G. Developing a genetic modified super cassava for improved health and food security: future challenges in Africa. **Agriculture & Food Security**, 1:11, 2012.

AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, 27:617-631, 2008.

AKINBO, O.; LABUSCHAGNE, M.; FREGENE, M. Increased storage protein from interspecific F1 hybrids between cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its wild progenitor (*M. esculenta* ssp. *flabellifolia*). **Euphytica**, 185:303-311, 2012.

AKPAROBI, S.O. Effects of two agro-ecological zones on leaf chlorophyll contents of twelve cassava genotypes in Nigeria. **Middle-East Journal of Scientific Research**, 4:20-23, 2009.

ALBUQUERQUE, J.A.A.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A.A.; ALVES, J.M.A.; FINOTO, E.L.; NETO, F.A. Caracterização morfológica e agrônômica de clones de mandioca cultivados no Estado de Roraima. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, 4:388-394, 2009.

ALBUQUERQUE, T.T.O.; MIRANDA, L.C.G.; SALIM, J.; TELES, F.F.F.; QUIRINO, J.G. Composição centesimal da raiz de 10 variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Mandioca**, 12:7-12, 1993.

ALLEM, A.C. A reappraisal on the geographical origin of cassava (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae). In: I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS. Campinas, 1997. **Resumos...** Campinas: IAC/Embrapa/Cenargem, 1997. p. 86-87.

ALLEM, A.C. The origin of *Manihot esculenta* Crantz. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 41:133-150, 1994.

ALMEIDA, F.C.G.; ALMEIDA, F.A.G.; CARVALHO, P.R. Descritores práticos para a

caracterização botânica de algumas cultivares de mandioca no estado do Ceará. **Ciências Agrômicas**, 24:18-21, 1993.

ALVAREZ, E.; MEIJA, J.F.; VALLE, T.L. Molecular and pathogenicity characterization of *Sphaceloma Manihotica* isolates from south-central Brazil. **Plant Disease**, 87:11, 2003.

AMORIM, E.P.; RAMOS, N.P.; GONÇALVES-UNGARO, M.R.; MANABE-KHIL, T.A.M. Divergência genética em genótipos de girassol. **Ciência Agrotecnologia**, 31:1637-1644, 2007.

AMORIM, L. Manual de fitopatologia. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (eds.). **Infecção**. São Paulo: Ceres, 1995. p. 295-307.

ARAÚJO, F.S.; OLIVEIRA JÚNIOR, J.O.L.; GOMES, R.L.F.; MORAES, J.C.B.; SAGRILO, E.; ARAÚJO, A.R. Caracterização morfoagronômica de acessos de mandioca nas condições edafoclimáticas de Teresina, PI. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, Campo Grande, 2005. **Resumos...** Campo Grande: Embrapa-CPAO, 2005 (CD-ROM).

ARRIEL, N.H.C.; DI MAURO, A.O.; ARRIEL, E.F.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; BÁRBARO, I.M.; SILVA-MUNIZ, F.R. Genetic divergence in sesame based on morphological and agronomic traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 7:253-261, 2007.

ASARE, P.A.; GALYUON, I.K.A.; SARFO, J.K.; TETTEH, J.P. Morphological and molecular based diversity studies of some cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm in Ghana. **African Journal of Biotechnology**, 10:13900-13908, 2011.

BARBIERI, R.L.; LEITE, D.L.; CHOER, E.; SINIGAGLIA, C. Divergência genética entre populações de cebola com base em marcadores morfológicos. **Ciência Rural**, 35:303-308, 2005.

BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas no Brasil**. Viçosa: UFV, 1991. 387p.

BELLOTTI, A.C.; SMITH, L.; LAPOINTE, S.L. Recent advances in cassava pest management. **Annual Review of Entomology**, 44:343–370, 1999.

BENESI, I.R.M.; LABUSCHAGNE, M.T.; HERSELMAN, L.; MAHUNGU, N. Ethnobotany, morphology and genotyping of cassava germplasm from Malawi. **Journal of Biological Sciences**, 10:616-623, 2010.

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

BITANCOURT, A.A.; JENKINS, A.E. *Sphaceloma manihoticola* sp. nov. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, 20:15-16, 1950.

BONETT, L.P.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SCHUELTER, A.R.; VIDIGAL-FILHO, P.S.; GONELA, A. LACANALLO, G.F. Divergência genética em germoplasma de feijoeiro comum coletado no estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, 27:547-560, 2006.

BORGES, M.F.; CARVALHO, V.D.; FUKUDA, W.M.G. Efeito de tratamento térmico na conservação pós-colheita de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) de mesa. **Revista Brasileira de Mandioca**, 1:7-18, 1992.

BORGES, M.F.; FUKUDA, W.M.G.; ROSSETI, A.G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 37:1559-1565, 2002.

BOSETTI, F.; ZUCCHI, M.I.; PINHEIRO, J.B. Molecular and morphological diversity in japanese rice germplasm. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, 9:229-232, 2011.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKALNICK, M.H.; DAVIES, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism, **American Journal of Human Genetics**, 32:314-331, 1980.

BURROWS, G.E. Cyanid intoxication in sheep: **Therapeutics Veterinary Human Toxicology**, 23:22-28, 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, Ciência e Desenvolvimento**, 30:46-50, 2003.

BYRNE, D. Breeding cassava. **Plant Breeding Reviews**, 2:73-133, 1984.

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

CARVALHO, L.P.; LANZA, M.A.; FALLIERI, J.; SANTOS, J.W. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:1149-1155, 2003.

CARVALHO, R.; GUERRA, M. Cytogenetics of *Manihot esculenta* Crantz (cassava) and eight related species. **Hereditas**, 136:159-168, 2002.

CAVALLI-SFORZA, L.L.; EDWARDS, A.W.F. Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. **American Journal of Human Genetics**, 19:233-257, 1967.

CEBALLOS, H. La yuca en Colombia y el mundo: nuevas perspectivas para un cultivo milenario. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. (eds.). **La yuca en el tercer milenio**. Cali - Colombia: CIAT, 2002. p. 1-13.

CEBALLOS, H.; IGLESIAS, C.A.; PÉREZ, J.C.; DIXON, A.G.O. Cassava breeding: opportunities and challenges. **Plant Molecular Biology**, 56:503-516, 2004.

CEBALLOS, H.; KULAKOW, P.; HERSHEY, C. Cassava breeding: current status, bottlenecks and the potential of biotechnology tools. **Tropical Plant Biology**, 5:73-87, 2012.

CENI, G.C.; COLET, R.; PERUZZOLO, M.; WITSCHINSKI, F.; TOMICKI, L.; BARRIQUELLO, A.L.; VALDUGA, E. Avaliação de componentes nutricionais de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Alimentos e Nutrição**, 20:107-111, 2009.

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

Applied Genetics, 97:493-501, 1998.

CHEN, X.; FU, Y.; XIA, Z.; JIE, L.; WANG, H.; LU, C.; WANG, W. Analysis of QTL for yield-related traits in cassava using F₁ population from non-inbred parents. **Euphytica**, 187:227-234, 2012.

CHEN, Y.; NELSON, R.L. Genetic variation and relationships among cultivated, wild and semi wild soybean. **Crop Science**, 44:316-325, 2004.

CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Disponível em: <http://isa.ciat.cgiar.org/urg/cassavacollection.do>. Acesso em: 29, agosto, 2013.

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

COCK, J.H. Cassava: a basic energy source in the tropics. **Science**, 218:755-762, 1982.

COLLARD, B.C.Y.; JAHUFER, M.Z.Z.; BROUWER, J.B.; PANG, E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, 142:169-196, 2005.

CONCEIÇÃO, A.J. **A mandioca**. São Paulo: Nobel, 1987. 382p.

COSTA, M.R.; CARDOSO, E.R.; OHAZE, M.M.M. Similaridade genética de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) por meio de marcadores RAPD. **Ciência Agrotécnica**, 27:158-164, 2003.

COSTA, T.R.; VIDIGAL-FILHO, P.S.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; GALVÁN, M.Z.; LACANALLO, G.F.; SILVA, L.I.; KVITSCHAL, M.V. Genetic diversity and population structure of sweet cassava using simple sequence repeat (SSR) molecular markers. **African Journal of Biotechnology**, 12:1040-1048, 2013.

CRUZ, C.D. **Programa Genes**: Biometria. Viçosa: UFV. 2006. 382p.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Editora UFV, 2003. 579p.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao**

melhoramento genético. Viçosa: UFV, 2006. 585p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético, Viçosa: UFV, 2001. 309p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 2004. 480p.

DAVEY, M.R.; ANTHONY, P.; POWER, J.B.; LOWE, K.C. Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives. **Biotechnology Advances**, 23:131-171, 2005.

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA miniprep: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, 1:19-21, 1983.

DIXON, A.G.O.D.; BANDYOAPADHYAY, R.; COYNE, D.; FERGUSON, M.; FERRIS, R.S.B.; HANNA, R.; HUGHES, J.; INGELBRECHT, I.; LEGG, J.; MAHUNGU, N.; MANYONG, V.; MOWBRAY, D.; NEUENSCHWANDER, P.; WHYTE, J.; HARTMANN, P.; ORTIZ, R. Cassava: from poor farmer's crop to pacesetter of African rural development. **Chronica Horticulturae**, 43:8–15, 2003.

EARL, D.A.; VONHOLDT, B.M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, 4:359-361, 2012.

EFOMBAGN, M.I.B.; SOUNIGO, O.; ESKES, A.B.; MOTAMAYOR, J.C.; MANZANARES-DAULEUX, M.J.; SCHNELL, R.; NYASSE, S. Parentage analysis and outcrossing patterns in cacao (*Theobroma cacao* L.) farms in Cameroon. **Heredity**, 103:49-53, 2009.

EGEKEZE, J.O.; OEHME, F.W. Cyanides and their toxicity: A literature review. **The Veterinary Quarterly**, 2:104-14, 1980.

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**, 58:242–256, 2004.

ELIAS, H.T.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; GONELA, A.; VOGT, G.A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional de feijão preto em Santa Catarina. **Pesquisa**

Agropecuária Brasileira, 42:1443-1449, 2007.

ELIAS, M.; RIVA, L.; MCKEY, D. Perception and management of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) diversity among Makushi Amerindians of Guyana (South America). **Journal of Ethnobiology**, 20:239-265, 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-far conservation of crop genetic resources. **Euphytica**, 120:143-157, 2001.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. The influence of desiccation on cassava seed germination and longevity. **Annals of Botany**, 47:173-175, 1981.

EL-SHARKAWY, M.A. Pioneering research on C4 photosynthesis: Implications for crop water relations and productivity in comparison to C3 cropping systems. **Journal of Food, Agriculture Environment**, 7:468-484, 2009.

EL-SHARKAWY, M.A. Cassava biology and physiology. **Plant Molecular Biology**, 56:481-501, 2004.

EL-SHARKAWY, M.A.; DE TAFUR, S.M.; CADAVID, L.F. Potential photosynthesis of cassava as affected by growth conditions. **Crop Science**, 32:1336-1342, 1992.

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

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Faostat database gateway**. Disponível: <http://www.fao.org/docrep/019/i3473e/i3473e.pdf> Acesso em: 26, junho, 2014.

FARALDO, M.I.F.; SILVA, M.R.; ANDO, A.; MARTINS, P.S. Variabilidade genética de etnovariedades de mandioca em regiões geográficas do Brasil. **Scientia Agrícola**, 57:499-505, 2000.

FARIAS, F.J.C.; RAMALHO, M.A.P.; CARVALHO, L.P.; MOREIRA, J.A.N.; COSTA, J.N. Parâmetros de estabilidade propostos por Lin e Binns (1988) comparados com o

método de regressão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 32:407-414, 1997.

FERGUSON, M.; RABBI, I.; KIM, D.J.; GEDIL, M.; LOPEZ-LAVALLE, L.; OKOGBENIN, E. Molecular markers and their application to cassava breeding: past, present and future. **Tropical Plant Biology**, 5:95–109, 2012.

FERREIRA, D.F. Programa Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, 6:36-41, 2008.

FERREIRA, R.C.U. **Estrutura genética e populacional de acessos tradicionais de mandioca-de-mesa coletados em Campo Grande, Mato Grosso do Sul**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2014. 54p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento).

FREGENE, M.; ANGEL, F.; GOMEZ, R.; RODRÍGUEZ, F.; CHAVARIAGA, P.; ROCA, W.; TOHME, J.; BONIERBALE, M. A molecular genetic map of cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, 95:431–441, 1997.

FREGENE, M.; BERNAL, A.; DUQUE, M.; DIXON, A.; TOHME, J. AFLP analysis of African cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germoplasm resistant to the cassava mosaic disease (CMD). **Theoretical and Applied Genetics**, 100:678–685, 2000.

FREGENE, M.A.; SUAREZ, M.; MKUMBIRA, J.; KULEMBEKA, H.; NDEDYA, E.; KULAYA, A.; MITCHEL, S.; GULLBERG, U.; ROSLING, H.; DIXON, A.G.O.; 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**, 107:1083-1093, 2003.

FU, Y.; WNAGSOMINUK, P.P.; RUTTAWAT, B. Thai elite cassava genetic diversity was fortuitously conserved through farming with different sets of varieties. **Conservation Genetics**, 10:20-36, 2014.

FUKUDA, C.; ROMEIRO, R.S.; FUKUDA, W.M.G. Avaliação de resistência de cultivares de mandioca a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Revista Brasileira de Mandioca**, 3:7-12, 1984.

FUKUDA, C.; SOUZA, L.D.; FERRO, A.S. Ocorrência do superalongamento da

mandioca na região de Sinop, no estado de Mato Grosso, e recomendações para seu controle. **Revista Brasileira de Mandioca**, 5:95-101, 1986.

FUKUDA, W.M.G.; CAVALCANTI, J.; FUKUDA, C.; COSTA, I.R.S. **Variabilidade genética e melhoramento da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Disponível no site: <http://www.cpatia.embrapa.br>. Acesso em: 9, abril, 2014.

FUKUDA, W.M.G.; GUEVARA, C.L. **Descritores morfológicos e agronômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 1998. 38p. (Documentos, 78).

FUKUDA, W.M.G.; GUEVARA, C.L.; KAWUKI, R.; FERGUSON, M.E. **Selected morphological and agronomic descriptors for the characterization of cassava**. Iban: International Institute of Tropical Agriculture, 2010. 19p.

FUKUDA, W.M.G.; IGLESIAS, C. Melhoramento Genético. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. (eds.). **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2006. p. 324-363.

FUKUDA, W.M.G.; SILVA, S.O.; IGLESIAS, C. Cassava Breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2:617-638, 2002.

GENET, T.; VILJOEN, C.D.; LABUSCHAGNE, M.T. Genetic analysis of Ethiopian mustard genotypes using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. **African Journal of Biotechnology**, 4:891-897, 2005.

GEPTS, P. Plant genetic resources conservation and utilization: The Accomplishments and Future of a Societal Insurance Policy. **Crop Science**, 46:2278-2292, 2006.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDIGAL-FILHO, P.S.; AMARAL-JÚNIOR, A.T.; BACCINI, A.L. Divergência genética entre cultivares de mandioca por meio de estatística multivariada. **Bragantia**, 56:263-271, 1997.

GROXKO, M. **Mandiocultura – Análise da conjuntura agropecuária**. Estado do Paraná, Secretaria da Agricultura e do Abastecimento - Departamento de economia

rural. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/mandiocultura_2013_14.pdf. Acesso em: 9, abril, 2014.

GUIMARÃES, D.G.; MUNIZ, W.F.; MOREIRA, E.S.; VIANA, A.E.S.; CARDOSO, C. E.L.; CARDOSO, A.D.; GOMES, I.R.; FERNANDES, E.T.; ANJOS, D.N. Avaliação da qualidade de raízes de mandioca na região Sudoeste da Bahia. **Revista raízes e amidos tropicais**, 5:224-229, 2009.

GUPTA P.K.; BALUAN H.S.; SHARMA P.C.; RAMESH B. Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. **Current Science**, 70:45–54, 1996.

HAHN, S.K.; BAI, K.V.; ASIEDU, R. Tetraploids triploids, and 2n pollen from diploid interspecific crosses with cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, 79:433–439, 1990.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Princípios de Genética de Populações**. Porto Alegre: Artmed, 2010. 657p.

HERSHEY, C.H.; JENNINGS, D.L. Progress in breeding cassava for adaptation to stress. **Plant Breeding Abstracts**, 62:823-831, 1992.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/pofanalise_2008_2009.pdf. Acesso em: 13, abril, 2013.

IITA. International Institute of Tropical Agriculture. **Cassava Collection**. Disponível em: <http://my.iita.org/accession2/collection.aspx;jsessionid=9F1AC47DB0A0F8226094C5211644DC74?id=9>. Acesso em: 20, dezembro, 2013.

INGHELANDT, D.V.; MELCHINGER, A.E.; LEBRETON, C.; STICH, B. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, 120:1289-1299, 2010.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **INPE e SOS Mata Atlântica**

divulgam novos dados do Atlas. Disponível em: http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=2923. Acesso: 10, dezembro, 2012.

IRIKURA, Y.; COCK, J.H.; KAWANO, K. The physiological basis of genotype-temperature interactions in cassava. **Field Crops Research**, 2:227–239, 1979.

IWANAGA, M.; IGLESIAS, C. Cassava genetic resources management at CIAT. In: INTERNATIONAL NETWORK FOR CASSAVA GENETIC RESOURCES, Rome, 1994. **Proceedings...** Rome: IPGRI, 1994. p. 77-86.

JENNINGS, D.L. Variation in pollen and ovule fertility in varieties of cassava and the effect of interspecific crossing on fertility. **Euphytica**, 12:69-76, 1963.

JORGE, V.; FREGENE, M.A.; DUQUE, M.C.; BONIERBALE, M.W.; TOHME, J.; VERDIER, V. Genetic mapping of resistance to bacterial blight disease in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Theoretical and Applied Genetics**, 101:865–872, 2000.

JØRGENSEN, K.; MORANT, A.V.; MORANT, M.; JENSEN, N.B.; OLSEN, C.E.; KANNANGARA, R.; MOTAWIA, M.S.; MOLLER, B.L.; BAK, S. Biosynthesis of the cyanogenic glucosides linamarin and lotaustralin in cassava: isolation, biochemical characterization, and expression pattern of CYP71E7, the oxime-metabolizing cytochrome P450 enzyme. **Plant Physiology**, 155:282–292, 2011.

JOS, J.S.; NAIR, R.B.; SREEKUMARI, M.T. Stigma receptivity and seed set in cassava. **Tropical Agriculture**, 67:257-261, 1990.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; **Plant systematics**. A phylogenetic approach. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1999. 465p.

KALIA, R.K.; RAI, M.K.; KALIA, S.; SINGH, R.; DHAWAN, A.K.; Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, 177:309-334, 2011.

KAWANO, K. Thirty years of cassava breeding for productivity – biological and social factors for success. **Crop Science**, 43:1325–1335, 2003.

KAWUKI, R.S.; FERGUSON, M.; LABUSCHAGNE, M.; HERSELMAN, L.; KIM, D.J. Identification, characterization and application of single nucleotide polymorphisms for diversity assessment in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Molecular Breeding**, 23:669-684, 2009.

KAWUKI, R.S.; HERSELMAN, L.; LABUSCHAGNE, M.T.; NZUKI, I.; RALIMANANA, I.; BIDIKA, M.; KANYANGE, M.C.; GASHAKA, G.; MASUMBA, E.; MKAMILO, G.; GETHI, J.; WANJALA, B.; ZACARIAS, A.; MADABULA, F.; FERGUSON, M.E. Genetic diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces and cultivars from southern, eastern and central Africa. **Plant Genetic Resources**, 11:170–181, 2013.

KIZITO, E.B.; **CHIWONA-KARLTUN, L.; EGWANG, T.; FREGENE, M.**; WESTERBERGH, A. Genetic diversity and variety composition of cassava on small scale farms in Uganda: an interdisciplinary study using genetic markers and farmer interviews. **Genetics**, 130:301–318, 2007.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der erde. Gotha: Verlag Justus Perthes.** 1928, 44p.

KUNKEAW, S.; YOOSHA, T.; SRAPHET, S.; BOONCHANAWIWAT, A.; BOONSENG, O.; LIGHTFOOT, D.A.; TRIWITAYAKORN, K.; TANGPHATSORNRUANG, S. Construction of a genetic linkage map using simple sequence repeat markers from expressed sequence tags for cassava (*Manihot esculente* Crantz). **Molecular Breeding**, 27:67-65, 2010.

KVITSCHAL, M.V. **Caracterização e divergência genética de germoplasma de mandioca-de-mesa da região urbana de Maringá, Paraná.** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2008. 158p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento).

KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Theoretical and Applied Genetics**, 118:979-992, 2009.

KWAK, M.; KAMI, J.A.; GEPTS, P. The putative Mesoamerican domestication center

of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago basin of Mexico. **Crop Science**, 49:554-561, 2009.

LACY, R.C. Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection, and population subdivision. **Conservation Biology**, 1:143–158, 1987.

LANCASTER, P.A.; INGRAM, J.S.; LIM, M.Y.; COURSEY, D.G. **Traditional cassava-based foods**: survey of processing techniques. **Economic Botany**, 36:12-45, 1982.

LEE, S.B.; TAYLOR, J.W. **Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores**. San Diego: Academic Press Inc., 1990. 482p.

LI, K.; ZHU, W.; ZENG, K.; ZHANG, Z.; YE, J.; OU, W.; REHMAN, S.; HEUER, B.; CHEN, S. Proteome characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) somatic embryos, plants and tuberous roots. **Proteome Science**, 8:1–12, 2010.

LIMA, R.M.F.; SILVA, E.I.; CRIVELARO, M.A.; ALMEIDA, S.A.; SOUZA, V.V. Produção de polvilho a partir do amido de mandioca: busca de alternativas para otimização do processo de produção em indústrias polvilheiras do município de Conceição dos Ouros, Minas Gerais, Brasil. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, 10:178-185, 2012.

LIN, H.J.; XIAN, L.; ZHANG, K.J.; LUO, X.M.; XU, K.S.; YANG, G.; DUAN, C.J.; LIU, J.L.; TANG, J.L.; FENG, J.X. Production of raw cassava starch-degrading enzyme by *Penicillium* and its use in conversion of raw cassava flour to ethanol. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**, 38:733–742, 2011.

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**, 44:397–401, 1989.

LIU, K.J.; MUSE, S.V. Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics**, 21:2128-2129, 2005.

LOKKO, Y.; DIXON, A.; OFFEI, S.; DANQUAH, E.; FREGENE, M. Assessment of genetic diversity among African cassava *Manihot esculenta* Crantz accession

resistant to the cassava mosaic virus disease using SSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 53:1441-1453, 2006.

LORENZI, J.O.; DIAS, C.A. **Cultura da mandioca**. Campinas: CATI, 1993. 41p. (Boletim Técnico, 211).

LORENZI, J.O.; SÁES, L.A.; SAKAI, M.; RIBEIRO, I.J.A.; LOURENÇÃO, A.L.; MONTEIRO, D.A.; PERESSIN, V.A.; GODOY JÚNIOR, G. Avaliação de cultivares de mandioca-de-mesa no Vale do Ribeira (SP). **Bragantia**, 55:141-146, 1996.

LYKKESFELDT, J.; MOLLER, B.L. Cyanogenic glycosides in cassava, *Manihot esculenta* Crantz. **Acta Chemistry Scandinavian**, 48:178–180, 1994.

MACHADO, C.F.; SOUSA-NUNES, G.H.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. Divergência genética entre genótipos de feijoeiro a partir de técnicas multivariadas. **Ciência Rural**, 32:251-258, 2002.

MAHALANOBIS, P.C. On the generalised distance in statistics. **Proceedings of the National Institute of Sciences of India**, 2:49–55, 1936.

MARMEY, P.; BEECHING, J.R.; HAMON, S.; CHARRIERS, A. Evaluation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germoplasm collections using RAPD markers. **Euphytica**, 74:203-209, 1994.

MARTINS, P.S. Biodiversity and agriculture: patterns of domestication of Brazilian native plants species. **Academia Brasileira de Ciências**, 66:219–224, 1994.

MAURER, H.P.; KNAAK, C.; MELCHINGER, A.E.; OUZUNOVA, M.; FRISCH, M. Linkage disequilibrium between SSR markers in six pools of elite lines for an European breeding program for hybrid maize. **Maydica**, 51:269-279, 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 genetics map of cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, 12:21-31, 2001.

MELLO, F.; GUIMARÃES, M.F.M.; COBUCI, J.A.; SILVA, M.V.G.B.; BRACCINI NETO, J.; PAIVA, D.S. Análise de diversidade genética do gene da osteopontina em bovinos da raça girolando. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40:2374-2377, 2011.

MEYERS, D.; AHMAD, S. Link between L-3-cyanoalanine synthase activity and differential cyanide sensitivity of insects. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1075:195–197, 1991.

MEZETTE, T.F.; BLUMER, C.G.; ANN VEASEY, E. Morphological and molecular diversity among cassava genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 48:510-518, 2013.

MILLER, J.; CONN, E. Metabolism of hydrogen cyanide by higher plants. **Plant Physiology**, 65:1199-1202, 1980.

MKUMBIRA, J.; CHIWONA-KARLTUN, L.; LAGERCRANTZ, U.; MAHUNGU, N.M.; 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**, 132:7-22, 2003.

MOAZAMI-GOUDARZI, K.; VAIMAN, D.; MERCIER, D. Emploi de microsatellites pour l'analyse de la diversité génétique des races bovines francaises: premiers resultants. **Genetics Selection and Evolution**, 26:155-165, 1994.

MODESTO, E.C.; SANTOS, G.T.; VILELA, D.; SILVA, D.C.; FAUSTINO, J.O.; JOBIM, C.C.; DETMANN, E.; ZAMBOIM, M.A.; MARQUES, J.A. Caracterização químico-bromatológica da silagem do terço superior da rama de mandioca. **Acta Scientiarum**, 26:137-146, 2004.

MONTALDO, A. **La yuca**. San Jose: IICA, 1979. 386p.

MONTEIRO-ROJAS, M.; CORREA A.M.; SIRITUNGA D. Molecular differentiation and diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) taken from 162 locations across Puerto Rico and assessed with microsatellite markers. **AoB Plants**, 10:1093 2011.

MOYIB, O.K.; ODUNOLA, O.A.; DIXON, A.G.O. SSR markers reveal genetic variation between improved cassava cultivars and landraces within a collection of Nigerian

cassava germplasm. **African Journal of Biotechnology**, 6:2666-2674, 2007.

MÜHLEN, G.S.; MARTINS, P.S.; ANDO, A. Variabilidade genética de etnovariedades de mandioca, avaliada por marcadores de DNA. **Scientia Agricola**, 57:319–328, 2000.

NAGELLA, P.; HOSAKATTE, N.M.; RAVISHANKAR, K.V.; HAHN, E.J.; PAEK, K.Y. Analysis of genetic diversity among Indian Niger *Guizotia abssinica* (L.f.) Cass. Cultivars based on randomly amplified polymorphic DNA markers. **Electronic Journal of Biotechnology**, 11:1-5, 2008.

NARTEY, F. **Manihot esculenta (Cassava): Cyanogenesis, ultrastructure and seed germination**. Copenhagen: Munksgaard, 1978. 262p.

NARTEY, F. Studies on Cassava, *Manihot utilissima* Pohl. I. Cyanogenesis: The biosynthesis of linamarin and lotaustralin in etiolated Seedlings. **Phytochemistry**, 7:1307–1312, 1968.

NASSAR, N.M.A. Conservation of the genetic resources of cassava (*Manihot esculenta*). Determination of wild species localities with emphasis on probable origin. **Economic Botany**, 32:311-320, 1978.

NASSAR, N.M.A. Attempts to hibridize wild *Manihot* species with cassava. **Economic Botany**, 34:13-15, 1980.

NASSAR, N.M.A. Collecting wild cassava in Northern Mexico. FAO/IBPGR **Plant Genetics Resource Newsletter**, 65:29-30, 1986.

NASSAR, N.M.A. Broadening the genetic base of cassava *Manihot esculenta*, Crantz by interspecific hybridization. **Canadian Journal of Plant Science**, 69:1071-1073, 1989.

NASSAR, N.M.A. Production of triploid cassava, *Manihot esculenta* Crantz by hybrid diploid gametes. **Field Crops Research**, 13:173-182, 1991.

NASSAR, N.M.A. Production of triploid cassava, *Manihot esculenta* Crantz by diploid hybrid gamete. **Field Crops Resource**, 30:173-182, 1992.

NASSAR, N.M.A. Selection and development of apomitic cassava clones. **Ciência e Cultura**, São Paulo, 48:168-170, 1994.

NASSAR, N.M.A. Wild cassava spp.: biology and potentialities for genetic improvement. **Genetic Molecular Biology**, 23:201-212, 2000.

NASSAR, N.M.A. Gene flow between cassava, *Manihot esculenta* Crantz and wild relatives. **Gene Conserve**, 4:64-79, 2002a.

NASSAR, N.M.A. Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, genetic resources: origin of the crop, its evolution and relationships with wild relatives. **Genetics and Molecular Biology**, 1:298–305, 2002b.

NASSAR, N.M.A. Polyploidy, chimera and fertility of interspecific cassava (*Manihot esculenta* Crantz) hybrids. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, 64:132-134, 2004.

NASSAR, N.M.A.; HASHIMOTO, D.Y.C. Wild cassava, *Manihot* spp.: a survey of useful species with reference to economic value. **Gene Conserve**, 5:284-295, 2006.

NASSAR, N.M.A.; MARQUES, A.O. Cassava leaves as a source of protein. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, 4:187-188, 2006.

NASSAR, N.M.A.; O'HAIR, S. Variation among cassava clones in relation to seed germination. **Indian Journal of Genetic Plant Breed**, 45:394–398, 1985.

NASSAR, N.M.A.; ORTIZ, R. Cassava improvement: challenges and impacts. **The Journal of Agricultural Science**, 145:163-171, 2007.

NASSAR, N.M.A.; VIEIRA, M.A.; VIEIRA, C.; GRATTAPAGLIA, D. Molecular and embryonic evidence of apomixis in cassava interspecific hybrids (*Manihot* spp.). **Canadian Journal of Plant Science**, 78:349–352, 1998.

NICK, C.; CARVALHO, S.P.; JESUS, A.M.; SANTOS, C.T.; NATEL, M.; GARCIA, B.; ASSIS, L.H.B. Divergência genética entre subamostras de mandioca. **Bragantia**, 69:289-298, 2010.

NORMANHA, E.S. O trabalho de melhoramento da mandioca no Instituto Agronômico do Estado de São Paulo. **O Agrônomo**, 23:91-100, 1971.

NUWAMANYA, E.; BAGUMA, Y.; EMMAMBUX, N.; RUBAIHAYO, P. Crystalline and pasting properties of cassava starch are influenced by its molecular properties. **African Journal of Food Science**, 4:8-15, 2010.

OERKE, E.C. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**, 144:31–43, 2006.

OLSEN, K.M. SNPs, SSRs and inferences on cassava's origin. **Plant Molecular Biology**, 56:517-524, 2004.

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

OLUWOLE, O.S.A.; ONABOLU, A.O; LINK, H.; ROSLING, H. Persistence of tropical ataxic neuropathy in a Nigerian community. **Journal of Neurologist, Neurosurgery & Psychiatry**, 69:96-101, 2000.

ORTIZ, A.T.; **Estrutura populacional e diversidade genética de cultivares tradicionais de mandioca-de-mesa do Estado do Paraná**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2010. 74p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento).

PEAKALL, R.; SMOUSSE, P.E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, 28:2537-2539, 2012.

PEAKALL, R.; SMOUSSE, P.E. GENALEX 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, 6:288-295, 2006.

PEREIRA, C.A.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, C.D.; ABREU, C.M.P.; SOUSA, R.V.; MAGALHÃES, M.; Hemaglutininas de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): purificação parcial e toxicidade. **Ciência Agrotécnica**, 32:900-907, 2008.

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**, 92:171-183, 2002.

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

PETIT, R.J.; EL MOUSADIK, A.; PONS, O. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. **Conservation Biology**, 12:844-855, 1998.

PINTO, L.R.; OLIVEIRA K.M.; ULIAN E.C. Survey in the sugarcane expressed sequence tag database (SUCEST) for simple sequence repeats. **Genome**, 47:795-804, 2004.

POWELL, W.; MORGANTE, M.; DOYLE, J.J.; McNICOL-TINGER, S.V.; RAFALSKI, A.J. Genepool variation in genus *Glycine* subgenus soja revealed by polymorphic and chloroplast microsatellites. **Genetics**, 144:793-703, 1996.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENSAND, M; DONELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, 155:945–959, 2000.

RAGHU, D.; SENTHIL, N.; SARASWATHI, T.; RAVEENDRAN, M.; GNANAM, R.; VENKATACHALAM, R.; SHANMUGASUNDARAM, P.; MOHAN, C. Morphological and simple sequence repeats (SSR) based finger printing of south Indian cassava germplasm. **International Journal of Integrative Biology**, 1:141-148, 2007.

RAJI, A.A.; ANDERSON, J.V.; KOLADE, O.; UGWU, C.D.; DIXON, A.G.O.; INGELBRECHT, I.L. Gene-based microsatellites for cassava (*Manihot esculenta* Crantz): prevalence, polymorphisms and cross-taxa utility. **BMC Plant Biology**, 9:118-129, 2009.

RAMANUJAM, T. Leaf density profile and efficiency in partitioning dry matter among high and low yielding cultivars of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz). **Field Crops Research**, 10:291-303, 1985.

RAMANUJAM, T.; INDIRA, P. Canopy structure on growth and development of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Turrialba**, 33:321-326, 1983.

RAMOS, J.G.A.; TAKATSU, A. **Avaliação de resistência de cultivares de mandioca à bacteriose, em Goiás**. Goiânia: Emgopa, 1987. 15p. (Boletim Técnico, 8).

REED, D.H.; FRANKHAM, R. Correlation between fitness and genetic diversity. **Conservation Biology**, 17:230–237, 2003.

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

RIBEIRO, M.N.O.; CARVALHO, S.P.; SANTOS, J.B.; ANTÔNIO, R.P.; Genetic variability among cassava accessions based on SSR markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 11:263-269, 2011.

RIMOLDI, F. **Produtividade e divergência genética em *Manihot esculenta* Crantz, com base em caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares RAPD**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2004. 87p. Tese (Doutorado em Agronomia).

RIMOLDI, F.; VIDIGAL-FILHO, P.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; CLEMENTE, E.; PEQUENO, M.G.; MIRANDA, L.; KVITSCHAL, M.V. Produtividade, composição química e tempo de cozimento de cultivares de mandioca-de-mesa coletadas no Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Agronomy**, 28:63-69, 2006.

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

ROA, A.C.; MAYA, M.M.; DUQUE, M.C.; TOHME, J.; ALLEM, A.C.; BONIERBALE, M.W. AFLP analysis of relationships among cassava and other *Manihot* species. **Theoretical and Applied Genetics**, 95:741–750, 1997.

ROCHA, O.J.; ZALDIVAR, M.E.; CASTRO, L.; CASTRO, E.; BARRANTES, R.

Microsatellite variation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in home gardens of *Chibchan* Amerindians from Costa Rica. **Conservation Genetics**, 9:107-118, 2008.

ROGERS, D.; APPAN, S.G. *Manihot* and *Manihotoides* (*Euphorbiaceae*): a Computer Assisted Study. **Flora Neotropica**, 13:19-256, 1973.

RONFORT, J.; BATAILLON, T.; SANTONI, S.; DELALANDE, M.; DAVID, J.L.; PROSPERI, J.M. Microsatellite diversity and broad scale geographic structure in a model legume: building a set of nested core collection for studying naturally occurring variation in *Medicago truncatula*. **BMC Plant Biology**, 6:28-41, 2006.

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

SAAVEDRA, G.; SPOOR, W.; HARRIER, L. Molecular markers and genetic base broadening in *Lycopersicum* spp. **Acta Horticulturae**, 546:503-507. 2001.

SAGRILO, E.; VIDIGAL-FILHO, P.S.; PEQUENO, M.G.; SCAPIM, C.A.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; DINIZ, S.P.S.S.; MODESTO, E.C.; KVITSCHAL, M.V. Effect of harvest period on the quality of storage roots and protein content of the leaves in five cassava cultivars (*Manihot esculenta* Crantz). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 46:295-305, 2003.

SARAWAT, P.; STODDARD, F.L.; MARSHALL, D.R. Genetic distance and its association with heterosis in peas. **Euphytica**, 73:255-264, 1994.

SARDOS, J.; McKEY, D.; DURVAL, M.F.; MALAPA, R.; NOYER, J.L.; LEBOT, V. Evolution of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) after recent introduction into a South Pacific Island system: the contribution of sex to the diversification of a clonally propagated crop. **Genome**, 51:912-921, 2008.

SCHMIDT, C.B. A mandioca: contribuição para o conhecimento de sua origem. **Boletim da Agricultura**, 1:56-56, 1951.

SCOTT, G.; BEST, R.; ROSEGRANT, M.; BOKANGA, M. **Roots and tubers in the global food system**: A vision statement to the year 2020. Lima: CIP: Ciat: IITA: IPGRI: IFPRI, 2000. 111p.

SILVA, R.M.; BANDEL, G.; FARALDO, M.I.F.; MARTINS, P.S. Biologia reprodutiva de etnovariedades de mandioca. **Scientia Agricola**, 58:101-107, 2001.

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

SIRITUNGA, D.; SAYRE, R. Engineering cyanogen synthesis and turnover in cassava (*Manihot esculenta*). **Plant Molecular Biology**, 56:661-669, 2004.

SIRITUNGA, D.; SAYRE, R.T. Generation of cyanogen-free transgenic cassava. **Planta**, 217:367–373, 2003.

SPOONER, R.; TREUREN, R.V.; VICENTE, M.C. Molecular markers for genebank management. **International Plant Genetic Resources Institute – IPGRI**, 10:126, 2005.

SREE LEKHA, S.; PILLAI S.V.; SREE KUMAR, J. Molecular genotyping of Indian Cassava Cultivars using SSR markers. **Advances in Environmental Biology**, 4:224 – 233, 2010.

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

SREEJA, V.; NAGAHARA, N.; LI, Q.; MINAMI, M. New aspects in pathogenesis of konzo: neural cell damage directly caused by linamarin contained in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **British Journal of Nutrition**, 90:467-472, 2003.

SRIROTH, K.; PIYACHOMKWAN, K.; WANLPATIT, S.; NIVITCHANYONG, S. The promise of a technology revolution in cassava bioethanol: Thai practice to the world practice. **Fuel**, 89:1333-1338, 2010.

STOREY, H.H.; NICHOLS, R.F.W. Studies of the mosaic disease of cassava. **Annals of Applied Biology**, 25:790–06, 1938.

TAYLOR, N.; CHAVARRIAGA, P.; RAEMAKERS, K.; SIRITUNGA, D.; ZHANG, P.

Development and application of transgenic technologies in cassava. **Plant Molecular Biology**, 56:671-688, 2004.

TELES, F.F.F. **Considerações sobre a análise do ácido cianídrico em mandioca e seus produtos manufaturados**. Fortaleza: ETENE/BNB, 1972. 24p.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 320p.

TREUREN, R.V.; BIJLSMA, R.; DELDEN, W.V.; OUBORG, N.J.; The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. **Heredity**, 66:181-189, 1991.

TURYAGYENDA, L.F.; KIZITO, E.B.; FERGUSON, M.E.; BAGUMA, Y.; HARVEY, J.W.; GIBSON, P.; WANJALA, B.W.; OSIRU, D.S.O. Genetic diversity among farmer-preferred cassava landraces in Uganda. **African Crop Science Journal**, 20:15-30, 2012.

VALLE, T.L. **Mandioca nutritiva premiada**. Disponível: <http://cienciahoje.uol.com.br/noticias/2012/03/mandioca-nutritiva-premiada>. Acesso em: 30, junho, 2014.

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**, 63:2, 2004.

VARSHNEY, R.K.; GRANER, A.; SORRELS, M.E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **Trends Biotechnology**, 23:48-55, 2005.

VAVILOV, N.I. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. **Chronica Botanica**, 13:1-366, 1951.

VIANA, A.P.; SANTANA-PEREIRA, T.N.; PEREIRA, M.G.; SOUZA, M.M.; MARTINEZ-MALDONADO, J.F.; AMARAL-JÚNIOR, A.T. Genetic diversity in yellow passion fruit populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 6:87-94, 2006.

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

VIÉGAS, A.P. Estudos sobre a mandioca. Instituto Agrônômico & BRASCAN/Nordeste. 1976. 214p.

VIEGAS, M.P.; SILVA, C.L.S.P.; MOREIRA, J.P.; CARDIN, L.T.; AZEVEDO, V.C.R.; CIAMPI, A.Y.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* fr. al., sob conservação ex situ. **Revista Árvore**, 35:769-779, 2011.

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; SILVA, M.S.; PAULA-MORAES, S.V.; CARVALHO, L.J.C.B. Caracterização fenotípica e molecular de acessos de mandioca de indústria com potencial de adaptação às condições do Cerrado do Brasil Central. **Semina: Ciências Agrárias**, 34:567-582, 2013.

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; CARVALHO, J.C.B.; SILVA, M.S.; MORAES, S.V.P.; SANTOS FILHO, M.O.S.; SILVA, K.N. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43:1707-1715, 2008.

VILLELA, O.V. Competição de clones de mandioca selecionados para mesa e indústria. **Bragantia**, 44:559-568, 1985.

WATANABE, M.; KUSANO, M.; OIKAWA, A.; FUKUSHIMA, A.; NOJI, M.; SAITO, K.; Physiological roles of b-substituted alanine synthase gene (Bsas) family in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, 146:310–320, 2008.

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

WIKIMEDIA, **Mesorregião do Sul e Sudoeste de Minas**. Disponível em: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Mesorregião do Sul e Sudoeste de Minas](http://pt.wikipedia.org/wiki/Mesorregião_do_Sul_e_Sudoeste_de_Minas). Acesso em: 15, junho, 2012.

WOBETO, C.; CORRÊA, A.D.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D.; PEREIRA, H.V. Antinutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf powder at three ages of the plant. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27:108-112, 2007.

WOOD, D.; LENNÉ, J.M. The conservation of agrobiodiversity on-farm: questioning the emerging paradigm. **Biodiversity and Conservation**, 6:109–129, 1997.

WOUW, M.V.; KIK, C.; HINTUM, T.V.; TREUREN, R.V.; VISSER, B. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. **Plant Genetic Resources**, 8:1-15, 2009.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**. Chicago: The University of Chicago Press, 1978. 256p.

YEOH, H.H.; CHAW, M.Y. Protein content and amino acid composition of cassava leaf. **Phytochemistry**, 15:1597-1599, 1976.

ZAGROBELNY, M.; BAK, S.; MOLLER, B.L. Cyanogenesis in plants and arthropods. **Phytochemistry**, 69:1457-1468, 2008.

ZEIGLER, R.S.; LOZANO, J.C. The relationship of *Sphaceloma* and *Elsinoe* species pathogenic on cassava and other members of the Euphorbiaceae in Central and South America. **Phytopathology**, 73:293-300, 1983.

ZEOULA, L.M.; MARTINS, A.S.; ALCALDE, C.R. Solubilidade e degradabilidade ruminal do amido de diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 28:905-912, 1999.

ZHANG, D.; BOCCARA, M.; MOTILAL, L.; BUTLER, D.R.; UMAHARAN, P.; MISCHKE, S.; MEINHARDT, L. Microsatellite variation and population structure in the Refractario cacao of Ecuador. **Conservation Genetics**, 9:327-333, 2007.

ZUIN, G.C.; VIDIGAL-FILHO, P.S.; KVITSCHAL, M.V.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; COIMBRA, G.K. Divergência genética entre acessos de mandioca -de-mesa coletados no município de Cianorte, região Noroeste do Estado do Paraná. **Semina - Ciências Agrárias**, 30:21-30, 2009.

APÊNDICE A
(Figuras da caracterização morfoagronômica qualitativa)



Figura 1A - Coloração da brotação nova: 1 – Verde claro; 2 – Verde escuro; 3 – Verde arrojado; 4 – Roxo.

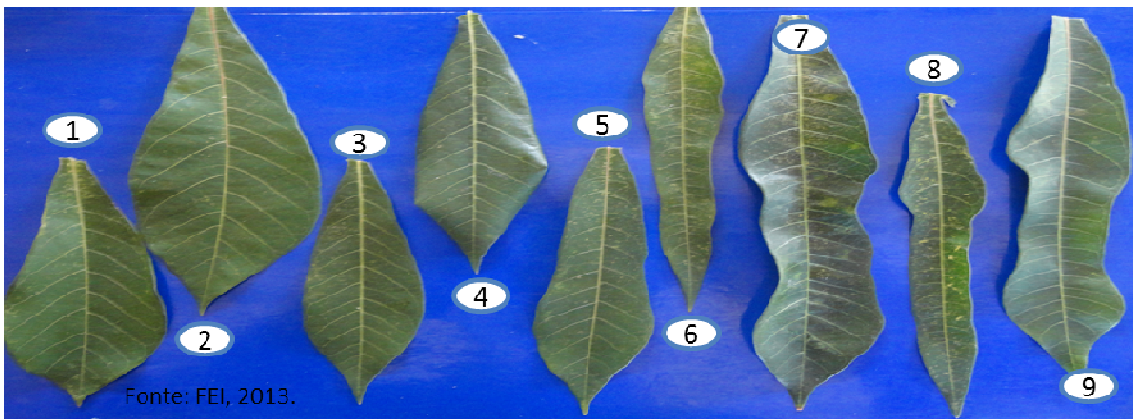


Figura 2A - Formato do lóbulo foliar: 1 – Ovóide; 2 - Elíptico-lanceolada; 3 – Obovado lanceolado; 4 – Oblongo lanceolado; 5 – Lanceolado; 6 – Linear; 7 – Pandurado; 8 – Linear piramidal; 9 – Linear pandurado.

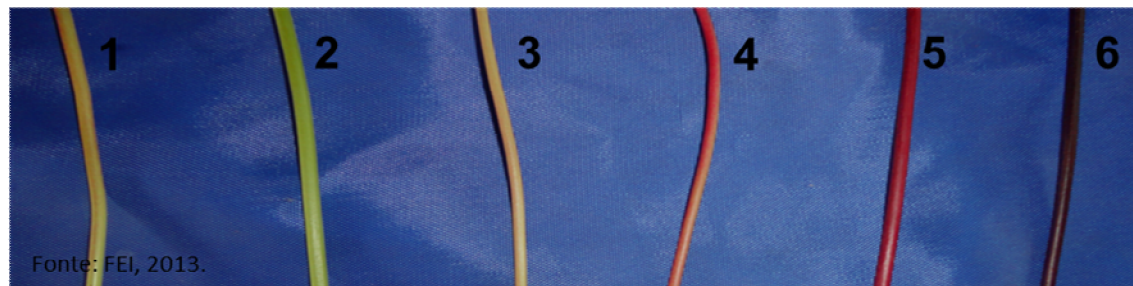


Figura 3A - Coloração do pecíolo: (1) verde-amarelado; (2) verde; (3) verde-avermelhado; (4) vermelho-esverdeado; (5) vermelho; (6) roxo.



Figura 4 - Coloração da folha: (1) Verde claro; (2) verde escuro; (3) verde arroxeadado; (4) roxo.



Figura 5A - Posição do pecíolo: (1) Inclinado para cima; (2) Horizontal; (3) Inclinado para baixo; (4) Irregular.



Figura 6A - Ocorrência de florescimento: (1) Ausência; (2) Presença.



Figura 7A - Tamanho da cicatriz foliar: (1) Semiproeminente; (2) Proeminente.

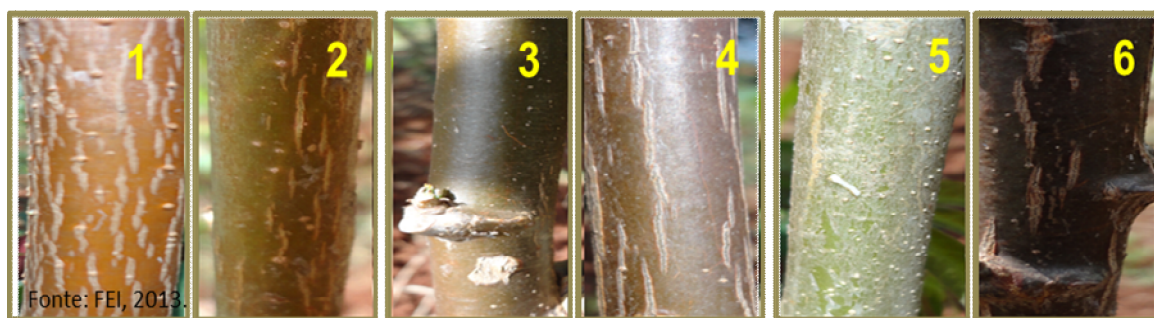


Figura 8A - Coloração da rama imatura: (1) Laranja; (2) Verde-amarelado; (3) Dourado; (4) Marrom-claro; (5) Verde-prateado; (6) Marrom-escuro.



Figura 9A - Tamanho da estípula: (1) Curta; (2) Longa.



Figura 10A - Frutificação: (1) Ausência; (2) Presença.



Figura 11A - Tipo de ramificação: (1) Ereto; (2) Dicotômico; (3) Tricotômico; (4) Tetratômico.

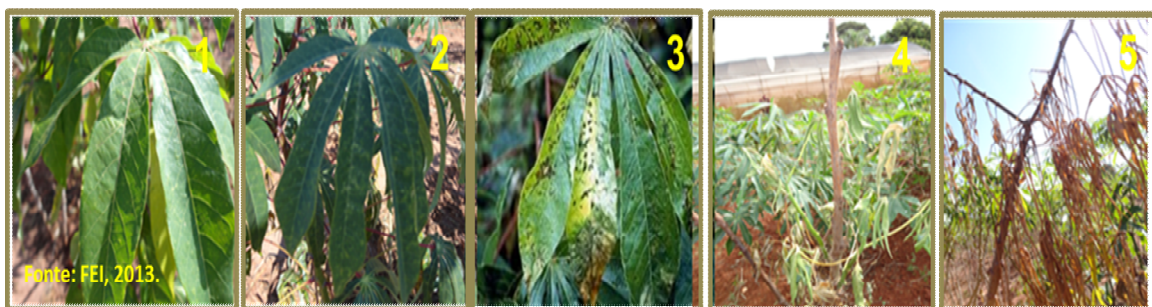


Figura 12A - Incidência de bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*): (1) Ausência de sintomas; (2) Poucas manchas nas folhas; (3) 50% das folhas com manchas; (4) Queda de folhas; (5) Plantas com total desfolha.



Figura 13A - Coloração da Epiderme do caule: (1) Laranja; (2) Verde claro; (3) Verde escuro.

Fonte: Selected morphological and agronomic descriptors for the characterization of cassava (Fukuda et al., 2010).

APÊNDICE B
(Figuras da caracterização morfoagronômica quantitativa)

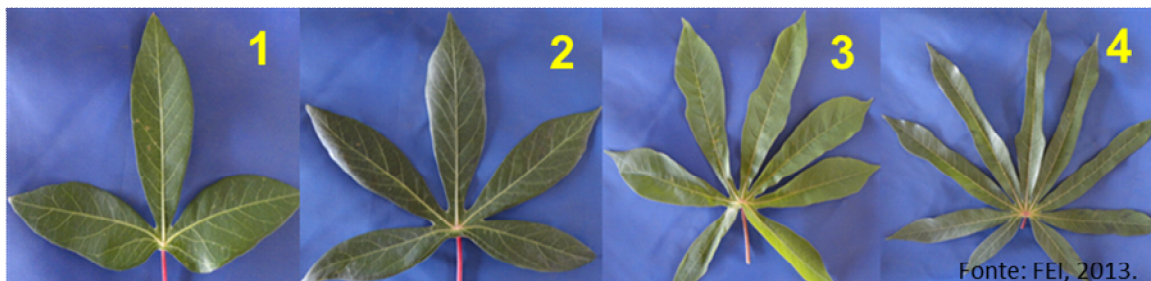


Figura 1B - Número de lóbulos foliares, obtido pela contagem do número de lóbulos por folha dispostas no terço médio de dez plantas de cada acesso: (1) Três lóbulos; (2) Cinco lóbulos; (3) Sete lóbulos; (4) Nove lóbulos.

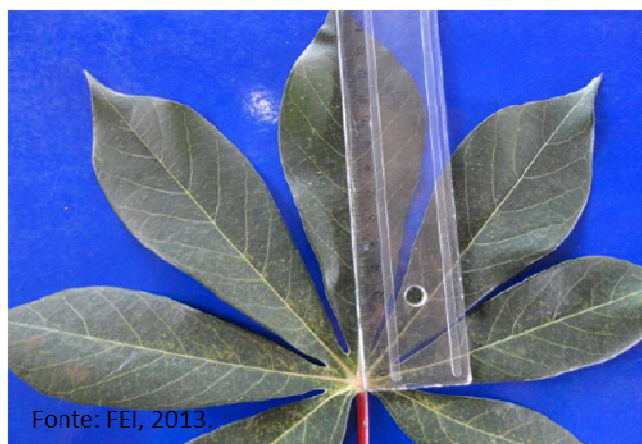


Figura 2B - Comprimento médio do lóbulo foliar, expresso em cm, obtido pela medição da distância do ponto de inserção dos lóbulos ao pecíolo até a extremidade longitudinal do lóbulo central das folhas de dez plantas de cada acesso.



Figura 3B - Largura média do lóbulo foliar, expressa em cm, obtida pela medição da largura do lóbulo foliar, na sua porção mediana, em dez plantas de cada acesso.



Figura 4B - Comprimento médio de pecíolo, expresso em cm, obtido pela medição do comprimento de pecíolos em folhas dispostas no terço médio de dez plantas de cada acesso.



Figura 5B - Distância de entrenós: expressa em cm, obtido pela medição da distância entre as cicatrizes foliares dispostas no mesmo plano vertical da rama de dez plantas de cada acesso.



Figura 6B - Altura da planta: altura vertical do solo para o topo da copa expressa em metros



Figura 7B - Altura da primeira ramificação: altura vertical do solo ao primeiro ramo primário, Zero = nenhuma ramificação.

APÊNDICE C
(Caracterização morfoagronômica qualitativa e quantitativa)

Quadro 1C - Caracterização morfoagronômica qualitativa da parte aérea de 51 acessos de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

BGM	CBN ¹	FLF ²	CP ³	CF ⁴	PP ⁵	OF ⁶	TCF ⁷	CRI ⁸	CEC ⁹	S ¹⁰	TE ¹¹	F ¹²	HR ¹³	IB ¹⁴	IS ¹⁵
634	3	2	5	2	2	1	2	5	2	1	2	1	2	1	1
635	3	5	4	2	3	1	2	5	2	1	1	1	2	1	1
636	3	5	4	2	2	2	2	1	1	2	1	1	3	3	1
637	3	4	5	2	3	2	2	4	2	1	2	1	2	1	1
638	1	2	2	2	3	1	2	5	3	1	2	1	2	3	1
639	2	2	4	2	3	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1
640	2	1	4	2	3	2	2	4	2	2	1	1	2	1	1
641	2	9	4	2	2	1	2	2	2	3	1	1	1	3	2
642	3	1	4	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	2	1
643	1	2	5	2	2	2	2	6	2	1	1	1	3	4	2
644	2	1	4	2	1	1	2	1	1	1	1	1	2	3	1
645	3	5	4	2	2	1	2	4	2	2	1	1	2	3	1
646	3	4	4	2	2	1	2	5	2	2	2	1	1	1	1
647	3	2	4	2	2	2	2	1	2	3	1	1	2	1	1
648	1	2	4	2	1	1	2	5	2	2	1	1	2	3	1
649	1	8	4	2	3	1	1	7	2	2	1	1	2	4	1
650	2	5	5	1	3	1	2	5	2	1	2	1	2	2	1
651	2	3	4	2	4	1	2	5	2	2	2	1	2	2	1
652	2	1	5	2	2	1	2	1	1	2	2	1	2	2	1
653	2	1	4	2	4	2	2	1	1	2	1	1	2	2	1
654	2	2	4	1	3	1	2	5	2	1	2	1	2	2	1

Quadro 1C – Cont...

BGM	CBN ¹	FLF ²	CP ³	CF ⁴	PP ⁵	OF ⁶	TCF ⁷	CRI ⁸	CEC ⁹	S ¹⁰	TE ¹¹	F ¹²	HR ¹³	IB ¹⁴	IS ¹⁵
655	1	2	5	1	2	1	2	2	3	1	2	1	2	2	1
656	2	1	5	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	2	1
657	3	5	4	2	2	1	1	5	2	2	2	1	1	2	1
658	2	4	4	2	4	1	2	7	2	2	2	1	3	1	1
659	3	4	4	2	2	1	2	4	2	2	2	1	3	1	1
660	3	4	4	2	3	1	2	1	2	2	2	1	1	1	1
661	1	2	4	1	2	1	1	7	2	2	1	1	2	1	1
662	3	2	3	2	2	1	2	7	2	1	1	1	2	2	1
663	2	1	4	2	2	1	2	7	2	2	1	1	2	2	1
664	3	3	3	2	2	1	2	4	2	2	1	1	2	3	1
665	3	5	4	2	4	1	2	2	2	2	2	1	3	2	1
666	3	5	4	2	2	2	2	6	2	1	1	1	3	2	2
667	3	4	4	2	4	1	2	5	2	1	2	1	1	1	1
668	3	5	4	2	4	2	2	4	2	2	1	1	2	2	2
669	1	4	4	2	2	1	2	4	2	2	1	1	2	2	1
670	2	2	3	2	4	1	2	4	2	1	1	1	3	2	1
671	2	5	4	1	2	1	2	4	2	3	1	1	3	2	1
672	1	5	3	1	3	1	2	4	2	2	1	1	3	4	1
673	3	1	4	2	2	1	2	2	5	1	1	1	1	1	1
674	1	1	5	1	2	1	2	2	3	1	2	1	2	1	1
675	2	8	4	2	2	2	2	5	2	3	1	1	1	1	1
676	3	1	4	2	3	1	2	4	2	3	2	1	2	2	1
677	2	1	4	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
678	2	4	1	2	3	2	2	4	2	2	2	1	3	1	1
679	MORTA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Quadro 1C – Cont...

BGM	CBN ¹	FLF ²	CP ³	CF ⁴	PP ⁵	OF ⁶	TCF ⁷	CRI ⁸	CEC ⁹	S ¹⁰	TE ¹¹	F ¹²	HR ¹³	IB ¹⁴	IS ¹⁵
680	2	1	5	2	2	2	2	4	3	1	2	1	2	1	1
681	3	2	4	2	2	1	2	4	2	1	1	1	3	1	1
682	3	2	4	2	3	1	2	3	2	1	1	1	2	2	1
683	2	1	3	2	4	1	2	1	2	2	1	1	1	2	3
684	3	5	2	2	3	2	2	6	2	3	2	2	3	1	1
686	1	5	2	2	2	2	1	3	2	1	2	2	3	2	1

As classes fenotípicas:

¹ CBN - Coloração da brotação nova: 1) Verde claro; 2) Verde escuro; 3) Verde arroxeadado; 4) Roxo.

² FLF - Formato do lóbulo foliar: 1) Oboide; 2) Elíptico-lanceoladas; 3) Obovadas-lanceoladas; 4) Oblongo-lanceoladas; 5) Lanceoladas; 6) Lineares. 7) Panduradas; 8) Linear-piramidal; 9) Linear-pandurada.

³ CP - Coloração do pecíolo: 1) verde-amarelada; 2) Verde; 3) verde-avermelhada; 4) Vermelho-esverdeada; 5) Vermelho; 6) Roxo.

⁴ CF - Coloração da folha: 1) Verde claro; 2) Verde escuro; 3) Verde arroxeadado; 4) Roxo.

⁵ PP - Posição do pecíolo: 1) Inclinação para cima; 2) Horizontais; 3) Inclinação para baixo; 4) Irregulares.

⁶ OF - Ocorrência de florescimento: 1) Ausência; 2) Presença.

⁷ TCF - Tamanho da cicatriz foliar: 1) Semiproeminente; 2) Proeminente.

⁸ CRI - Coloração da rama imatura: 1) Laranja; 2) Verde-amarelado; 3) Dourado; 4) Marrom claro; 5) Verde-prateado; 6) Marrom escuro.

⁹ CEC - Coloração da epiderme do caule: 1) Laranja; 2) Verde claro; 3) Verde escuro.

¹⁰ S - Sinuosidade: 1) Muito sinuoso; 2) Pouco sinuoso; 3) Ausência de sinuosidade.

¹¹ TE - Tamanho de estípula: 1) Curta; 2) Longa.

¹² F - Frutificação: 1) Ausência. 2) Presença.

¹³ HR - Hábito da ramificação: 1) Ereto; 2) Dicotômica; 3) Tricotômica; 4) Tetracotômica.

¹⁴ IB - Incidência de bacteriose: 1) Ausência de sintomas; 2) Poucas manchas nas folhas; 3) 50% das folhas com manchas; 4) Queda de folhas; 5) Plantas com total desfolha.

¹⁵ IS - Incidência de superalongamento (IS): 1) Baixa ou nenhuma incidência; 2) Média incidência; 3) Elevada incidência.

Quadro 2C – Caracterização morfoagronômica quantitativa da parte aérea de 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

BGM	NLF ¹ (und)	CLC ² (cm)	LMLF ³ (cm)	CP ⁴ (cm)	DEN ⁵ (cm)	ALTPL ⁶ (m)	ALTPR ⁷ (m)
634	7,00	18,55	5,95	31,60	9,30	3,00	1,05
635	9,00	14,55	4,95	27,50	6,83	2,00	0,00
636	7,00	15,80	2,88	24,82	8,46	2,70	0,93
637	7,00	15,82	2,88	24,82	8,66	3,65	0,90
638	7,00	17,37	3,81	27,95	8,65	3,00	1,20
639	7,00	14,45	4,00	21,90	7,65	1,70	0,45
640	9,00	24,00	4,32	39,80	8,00	3,10	0,50
641	9,00	23,00	4,31	32,80	8,75	3,40	0,00
642	7,00	14,20	4,70	24,90	8,75	2,90	1,32
643	7,00	12,20	3,86	17,30	8,02	2,55	0,35
644	7,00	17,76	4,63	27,52	12,48	3,00	1,25
645	7,00	16,39	3,74	26,36	9,80	3,10	0,00
646	7,00	17,37	3,66	31,52	9,65	3,10	0,00
647	7,00	17,49	4,84	30,52	8,05	3,60	1,40
648	9,00	15,95	3,30	25,78	6,75	3,40	1,25
649	7,00	15,43	4,41	22,81	5,29	2,70	1,95
650	7,00	17,89	3,53	26,80	7,45	3,60	1,30
651	7,00	15,71	3,50	26,15	6,50	3,25	1,30
652	7,00	17,72	4,58	27,93	7,75	3,60	1,45

Quadro 2C cont...

BGM	NLF ¹ (und)	CLC ² (cm)	LMLF ³ (cm)	CP ⁴ (cm)	DEN ⁵ (cm)	ALTPL ⁶ (m)	ALTPR ⁷ (m)
653	7,00	16,62	4,24	24,03	7,35	2,95	0,75
654	9,00	15,60	3,71	24,47	8,15	3,10	0,70
655	5,00	13,58	3,94	19,20	5,42	1,60	1,00
656	7,00	17,45	4,38	25,75	10,05	1,85	0,95
657	9,00	17,60	3,64	27,67	6,80	2,20	0,00
658	7,00	17,00	3,15	28,55	7,05	3,00	1,25
659	9,00	24,10	4,04	38,30	7,70	2,90	0,00
660	9,00	23,80	4,12	38,80	9,10	3,70	0,00
661	7,00	13,00	1,95	16,20	8,75	2,66	0,55
662	7,00	15,05	3,95	23,40	7,10	2,70	0,85
663	7,00	15,00	3,66	23,88	9,94	3,10	1,20
664	7,00	15,83	4,60	26,20	7,25	3,30	1,10
665	9,00	14,75	3,14	26,47	9,40	3,00	1,00
666	7,00	17,95	4,27	31,85	9,30	2,60	0,50
667	9,00	17,85	3,54	22,90	6,40	2,35	0,00
668	7,00	15,47	4,26	24,50	7,65	3,10	0,95
669	7,00	17,43	4,40	29,00	7,95	3,50	0,80
670	7,00	17,27	4,14	26,75	9,70	2,35	1,00
671	7,00	16,14	3,83	22,85	7,10	3,10	1,10
672	5,00	14,50	3,58	19,63	8,00	2,50	0,90

Quadro 2C – cont...

BGM	NLF ¹ (und)	CLC ² (cm)	LMLF ³ (cm)	CP ⁴ (cm)	DEN ⁵ (cm)	ALTPL ⁶ (m)	ALTPR ⁷ (m)
673	7,00	16,80	3,37	27,60	6,20	2,20	0,00
674	7,00	17,95	4,36	31,60	7,40	1,80	1,25
675	7,00	19,15	2,02	31,35	6,75	2,00	0,00
676	7,00	15,33	3,98	25,10	6,75	3,25	1,15
677	7,00	15,28	4,17	25,45	7,70	3,00	1,00
678	9,00	19,50	3,75	28,80	7,00	3,45	1,30
679	MORTA	X	X	X	X	X	X
680	7,00	15,20	4,17	23,70	9,30	2,15	0,35
681	7,00	18,87	4,97	29,25	8,30	1,90	0,60
682	7,00	16,56	4,71	26,85	7,10	2,10	0,95
683	7,00	13,43	4,13	21,75	10,55	1,90	0,00
684	7,00	14,04	3,11	20,39	5,80	2,00	1,00
686*	7,00	12,25	2,18	20,28	9,00	2,50	0,50

¹ NLF: Número de lóbulos foliares, em unidades (und).

² CLC: Comprimento do lóbulo central, em centímetros (cm).

³ LMLF: Largura média do lóbulo da folha, em centímetros (cm).

⁴ CP: Comprimento do pecíolo, em centímetros (cm).

⁵ DEN: Distância de entrenós, em centímetros (cm).

⁶ ALTPL: Altura da planta, em centímetros (m).

⁷ ALTPR: Altura da primeira ramificação, em centímetros (m).

APÊNDICE D

(Matriz de Dissimilaridade qualitativa e quantitativa)

Quadro 1 D - Matriz de Dissimilaridade para características qualitativas de 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

BGM	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655
634	0,00	0,27	0,53	0,33	0,33	0,47	0,53	0,53	0,40	0,47	0,53	0,40	0,27	0,33	0,40	0,60	0,33	0,40	0,40	0,67	0,33	0,33
635		0,00	0,40	0,40	0,40	0,33	0,33	0,47	0,33	0,60	0,40	0,27	0,33	0,33	0,33	0,40	0,33	0,40	0,60	0,53	0,33	0,60
636			0,00	0,60	0,60	0,47	0,40	0,47	0,27	0,60	0,33	0,20	0,47	0,27	0,40	0,53	0,67	0,53	0,40	0,27	0,67	0,67
637				0,00	0,53	0,60	0,40	0,73	0,60	0,47	0,67	0,53	0,40	0,47	0,67	0,67	0,47	0,60	0,60	0,67	0,53	0,60
638					0,00	0,47	0,60	0,60	0,53	0,60	0,47	0,53	0,53	0,60	0,33	0,53	0,40	0,47	0,53	0,67	0,33	0,33
639						0,00	0,27	0,33	0,40	0,60	0,40	0,33	0,47	0,40	0,27	0,33	0,40	0,27	0,40	0,33	0,27	0,47
640							0,00	0,47	0,47	0,60	0,40	0,33	0,47	0,33	0,40	0,40	0,53	0,40	0,47	0,27	0,47	0,73
641								0,00	0,47	0,53	0,40	0,33	0,53	0,40	0,40	0,53	0,60	0,47	0,53	0,53	0,53	0,60
642									0,00	0,60	0,20	0,33	0,47	0,33	0,47	0,53	0,53	0,47	0,27	0,27	0,47	0,47
643										0,00	0,67	0,60	0,67	0,47	0,53	0,60	0,67	0,73	0,67	0,67	0,67	0,53
644											0,00	0,40	0,60	0,47	0,33	0,53	0,53	0,47	0,33	0,27	0,47	0,60
645												0,00	0,33	0,33	0,27	0,40	0,53	0,40	0,47	0,47	0,53	0,60
646													0,00	0,40	0,40	0,53	0,53	0,33	0,47	0,60	0,47	0,60
647														0,00	0,40	0,53	0,67	0,53	0,53	0,40	0,53	0,60
648															0,00	0,33	0,53	0,33	0,53	0,47	0,40	0,53
649																0,00	0,60	0,47	0,60	0,53	0,53	0,67
650																	0,00	0,33	0,40	0,60	0,13	0,33
651																		0,00	0,33	0,33	0,27	0,53
652																			0,00	0,27	0,47	0,40
653																				0,00	0,53	0,67
654																					0,00	0,33
655																						0,00

Quadro 1D – cont...

BGM	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677
656	0,00	0,60	0,60	0,60	0,67	0,47	0,33	0,33	0,47	0,53	0,53	0,60	0,60	0,40	0,40	0,33	0,53	0,40	0,33	0,53	0,47	0,33
657		0,00	0,47	0,33	0,33	0,47	0,47	0,33	0,47	0,27	0,47	0,33	0,47	0,40	0,60	0,47	0,60	0,47	0,60	0,47	0,40	0,60
658			0,00	0,20	0,27	0,47	0,53	0,33	0,53	0,27	0,60	0,27	0,53	0,40	0,40	0,47	0,53	0,53	0,60	0,47	0,47	0,47
659				0,00	0,20	0,47	0,47	0,40	0,33	0,27	0,47	0,27	0,47	0,27	0,47	0,40	0,47	0,40	0,53	0,47	0,33	0,47
660					0,00	0,53	0,53	0,40	0,47	0,33	0,60	0,20	0,53	0,40	0,60	0,60	0,53	0,40	0,53	0,47	0,33	0,47
661						0,00	0,40	0,40	0,47	0,60	0,67	0,60	0,60	0,33	0,60	0,47	0,47	0,53	0,53	0,53	0,60	0,47
662							0,00	0,33	0,27	0,47	0,40	0,47	0,47	0,33	0,27	0,47	0,53	0,40	0,60	0,53	0,40	0,40
663								0,00	0,40	0,40	0,47	0,47	0,47	0,27	0,40	0,33	0,53	0,33	0,53	0,33	0,40	0,33
664									0,00	0,47	0,53	0,53	0,40	0,27	0,40	0,47	0,40	0,47	0,67	0,53	0,40	0,47
665										0,00	0,40	0,33	0,33	0,40	0,40	0,40	0,47	0,47	0,60	0,60	0,33	0,60
666											0,00	0,53	0,27	0,47	0,47	0,40	0,60	0,47	0,73	0,47	0,53	0,53
667												0,00	0,53	0,47	0,47	0,60	0,67	0,33	0,47	0,40	0,40	0,47
668													0,00	0,33	0,47	0,47	0,53	0,60	0,87	0,53	0,40	0,60
669														0,00	0,40	0,33	0,40	0,47	0,60	0,47	0,33	0,40
670															0,00	0,33	0,40	0,53	0,67	0,53	0,47	0,47
671																0,00	0,33	0,53	0,60	0,40	0,40	0,47
672																	0,00	0,67	0,60	0,67	0,53	0,67
673																		0,00	0,33	0,40	0,47	0,27
674																			0,00	0,60	0,60	0,47
675																				0,00	0,53	0,40
676																					0,00	0,47
677																						0,00

Quadro 1D – cont...

BGM	678	680	681	682	683	690	686
678	0,00	0,40	0,47	0,60	0,53	0,33	0,60
680		0,00	0,47	0,60	0,67	0,60	0,60
681			0,00	0,27	0,53	0,53	0,60
682				0,00	0,53	0,60	0,60
683					0,00	0,73	0,73
690						0,00	0,47
686							0,00

Quadro 2 D - Matriz de Dissimilaridade para características quantitativas de 51 acessos tradicionais de mandioca-de-mesa do Sul de Minas Gerais

BGM	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655
634	0,00	1,67	1,90	2,12	1,60	1,49	1,75	1,60	1,55	1,86	1,62	1,43	1,38	1,63	2,23	2,20	1,98	2,02	1,74	1,47	1,81	2,20
635		0,00	1,43	1,50	1,17	1,42	1,75	1,63	1,00	1,46	1,80	1,54	1,59	1,09	0,92	1,24	1,26	1,13	1,08	0,99	0,82	2,04
636			0,00	0,62	0,64	1,01	2,01	1,81	1,01	1,03	1,48	0,95	1,07	1,31	1,08	1,40	0,84	0,77	1,19	0,79	0,95	1,55
637				0,00	0,75	1,48	2,02	1,75	1,12	1,25	1,50	0,94	1,06	1,19	1,02	1,58	0,65	0,78	1,05	0,92	0,99	1,94
638					0,00	1,23	1,65	1,53	0,69	1,32	1,13	0,98	0,99	0,72	1,05	1,23	0,54	0,69	0,63	0,63	0,96	1,73
639						0,00	2,29	2,06	1,14	0,74	1,82	1,22	1,41	1,69	1,59	1,48	1,54	1,31	1,61	0,92	1,26	1,11
640							0,00	0,73	2,09	2,58	2,04	1,83	1,54	1,62	1,79	2,38	1,74	1,96	1,70	1,81	1,72	2,97
641								0,00	1,92	2,20	1,83	1,40	1,21	1,58	1,65	2,37	1,62	1,86	1,62	1,56	1,39	2,86
642									0,00	1,11	1,15	1,20	1,34	0,81	1,27	1,10	0,99	0,92	0,77	0,71	1,09	1,60
643										0,00	1,85	1,13	1,47	1,72	1,52	1,58	1,49	1,28	1,61	0,94	1,17	1,35
644											0,00	1,29	1,35	1,30	1,91	2,10	1,53	1,76	1,35	1,49	1,60	2,46
645												0,00	0,43	1,37	1,51	1,99	1,24	1,34	1,36	0,93	1,07	2,01
646													0,00	1,33	1,56	2,08	1,25	1,39	1,37	1,07	1,20	2,16
647														0,00	1,25	1,25	0,75	0,94	0,26	0,90	1,28	2,05
648															0,00	1,28	0,88	0,81	1,12	1,07	0,64	2,12
649																0,00	1,16	0,87	1,10	1,10	1,53	1,36
650																	0,00	0,46	0,56	0,75	1,06	1,85
651																		0,00	0,76	0,67	1,04	1,53
652																			0,00	0,79	1,19	1,93
653																				0,00	0,88	1,43
654																					0,00	2,08
655																						0,00

Quadro 2D – cont...

BGM	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677
656	0,00	1,46	1,31	1,97	2,12	1,72	1,07	0,98	1,24	1,33	0,79	1,57	1,08	1,24	0,37	1,21	1,30	1,36	0,89	1,73	1,34	1,03
657		0,00	1,36	1,35	1,70	1,76	1,19	1,65	1,46	1,25	1,23	0,40	1,33	1,40	1,38	1,36	1,92	0,83	1,35	1,20	1,42	1,31
658			0,00	1,82	1,96	1,47	0,73	0,95	0,81	1,09	1,08	1,40	0,74	0,83	1,00	0,59	1,23	1,05	1,03	1,33	0,59	0,67
659				0,00	0,65	2,72	2,01	2,18	1,93	1,89	1,42	1,59	1,95	1,61	1,83	2,02	2,65	1,69	1,75	1,69	2,02	1,93
660					0,00	0,28	2,17	2,14	1,98	1,89	1,50	1,90	2,02	1,58	1,92	2,12	2,77	2,02	2,06	2,04	2,11	2,02
661						0,00	1,30	1,27	1,76	1,37	1,84	1,62	1,47	1,82	1,58	1,35	1,24	1,51	2,03	1,67	1,52	1,46
662							0,00	0,87	0,60	1,14	1,03	1,15	0,36	0,82	0,86	0,36	0,91	0,86	1,03	1,52	0,45	0,34
663								0,00	0,91	0,89	1,03	1,67	0,72	0,93	0,69	0,80	1,11	1,50	1,36	1,86	0,90	0,69
664									0,00	1,26	1,02	1,48	0,30	0,46	0,96	0,49	1,23	1,26	1,11	1,87	0,36	0,34
665										0,00	1,24	1,31	1,10	1,22	1,09	1,13	1,76	1,49	1,52	1,73	1,18	1,06
666											0,00	1,43	0,93	0,76	0,59	1,13	1,45	1,10	0,93	1,45	1,16	0,89
667												0,00	1,32	1,46	1,48	1,29	1,86	0,90	1,53	1,32	1,39	1,33
668													0,00	0,54	0,80	0,33	1,03	1,10	1,09	1,71	0,34	0,12
669														0,00	0,92	0,72	1,39	1,23	1,18	1,72	0,65	0,56
670															0,00	0,94	1,18	1,24	0,85	1,62	1,05	0,75
671																0,00	1,00	1,08	1,15	1,63	0,26	0,35
672																	0,00	1,33	1,48	1,79	1,12	1,02
673																		0,00	1,14	0,84	1,14	1,07
674																			0,00	1,54	1,16	1,01
675																				0,00	1,71	1,66
676																					0,00	0,34
677																						0,00

Quadro 2D – cont...

BGM	678	680	681	682	683	690	686
678	0,00	1,68	1,56	1,38	2,11	1,67	1,95
680		0,00	0,87	0,86	0,51	1,24	1,16
681			0,00	0,59	1,28	1,55	1,89
682				0,00	1,32	1,08	1,65
683					0,00	1,56	1,20
690						0,00	1,14
686							0,00