



ACESSOS DE MANDIOCA AÇUCARADA COLETADOS NO NORDESTE PARAENSE POSSUEM O MESMO GENÓTIPO DETECTADO POR MARCADORES MICROSSATÉLITES

Resumo: A mandioca é encontrada na região Norte do Brasil e é usada como fonte de subsistência para muitas famílias. A mandioca açúcarada ou mandiocaba, é um tipo de mandioca que armazena em suas raízes, além do amido, açúcares livres como reservas. Atualmente, vêm recebendo destaque pelo seu potencial para uso na fabricação de álcool combustível, devido ao acúmulo de glicose que pode ser convertida em etanol diretamente. Foi realizado teste para avaliar a diversidade genética de acessos de mandiocas açúcaradas coletadas em diferentes locais do estado do Pará mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental. Foi realizada a genotipagem molecular de nove acessos de mandioca açúcarada e um acesso de mandioca brava com marcadores microssatélites. Para isso, foram utilizados 13 *primers* microssatélites e a corrida dos produtos amplificados foi realizada em géis de poliacrilamida 6%. Após a análise dos géis, foi verificado que todas as nove amostras de mandioca açúcarada possuíam o mesmo genótipo, sendo verificada baixa variabilidade genética para esse grupo de mandiocas.

Palavras-chave: mandiocaba, duplicatas, marcadores moleculares

Introdução

A mandioca açúcarada é encontrada na região Norte do Brasil, e vem sendo usada pela população do Estado do Pará na fabricação de mingaus e bebidas. Atualmente, esse tipo de mandioca vem recebendo um grande destaque entre pesquisadores e produtores do Brasil e do Mundo, por armazenarem açúcares livres em suas raízes de reserva e não somente amido, como a grande maioria dos acessos de mandioca cultivados comercialmente (CARVALHO et al., 2000, 2004). Esses acessos diferenciados podem vir a ser empregados na produção de álcool combustível de forma direta a partir da glicose, sem haver hidrólise do amido (CARVALHO et al., 2000, 2004).

O BAG da Embrapa Amazônia Oriental tem como base genótipos de mandioca provenientes de diversos locais do estado do Pará. Atualmente, o BAG conta com 470 acessos, dentre os quais se incluem 30 acessos de mandioca açúcarada.

Para avaliar a variabilidade de uma amostra das mandiocas açúcaradas pertencentes ao BAG, foram utilizados os marcadores microssatélites. Esses marcadores moleculares vêm sendo utilizados



com elevada frequência na estimativa da divergência genética entre acessos de mandioca (VIEIRA, et al., 2011) pois esses marcadores são essenciais na identificação de duplicatas em bancos de germoplasma e na análise genética de populações de diferentes espécies.

O objetivo desse trabalho é avaliar a diversidade genética de amostras de mandiocas açucaradas pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental.

Material e Métodos

Foram selecionados 10 acessos do Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Amazônia Oriental, sendo nove de mandioca açucarada e um de mandioca brava (Tabela 1).

Tabela 1. Acessos de mandioca açucarados e brava, seus respectivos nomes comuns e locais de coleta/procedência.

Código do acesso	Tipo	Local de coletas no estado do Pará
CPATU 247	Mandioca Açucarada	São João de Pirabas
CPATU 255	Mandioca Brava	Santa Barbara
CPATU 079	Mandioca Açucarada	Castanhal
CPATU 197	Mandioca Açucarada	São Francisco do Pará
CPATU 248	Mandioca Açucarada	Igarapé- Açú
CPATU 194	Mandioca Açucarada	Igarapé- Açú
CPATU 251	Mandioca Açucarada	Tracuateua
CPATU 253	Mandioca Açucarada	Maracanã
CPATU 250	Mandioca Açucarada	São Caetano de Odivelas
CPATU 449	Mandioca Açucarada	Marapanim

O DNA genômico foi extraído de acordo com o método de DOYLE & DOYLE (1990) e quantificado em gel de agarose 1%, utilizando DNA lambda de diferentes concentrações como padrões. O DNA das amostras foi diluído para 10 ng.µl⁻¹. Para a genotipagem molecular foram utilizados 13 *primers* de microssatélites: SSRY82 (55°C), SSRY 09 (58°C), SSRY 21 (57°C), SSRY 04 (55°C), SSRY 164 (55°C), SSRY 20 (56°C), SSRY 19 (56°C), SSRY 63 (58°C), SSRY 106 (57°C), GA126 (58°C), GA136 (56°C), GA21 (55°C), GA131 (58°C), onde entre parênteses estão as temperaturas de anelamento. Foram preparadas reações de PCR para o volume de 15 µl e realizada a corrida dos produtos amplificados em gel de acrilamida a 6% em eletroforese vertical. Os géis foram revelados em nitrato de prata e escaneados para análises das imagens. Os géis foram analisados visualmente, considerando que cada *primer* representa um loco e cada banda com diferente migração no gel foi considerado um alelo.

Resultados e Discussão

Os 13 marcadores utilizados identificaram que todos os nove acessos apresentaram o mesmo genótipo (Figura 1). Isso significa que nenhuma variabilidade foi encontrada entre os acessos de mandioca açúcaradas avaliados.

Raji et al. (2009), encontrou diversidade entre genótipos de mandiocas ao utilizar alguns dos *primers* utilizados nesse trabalho, como o SSRY 19, que apresentou heterozigosidade esperada (He) de 0.600 e o SSRY 21 com $He=0.619$. Já Siqueira et al. (2010) verificou polimorfismo em mandiocas da região Sul do Brasil com os *primers* GA 131, com $He=0.663$ e GA 136, com $He=0.668$. Isso evidencia que os *primers* utilizados no trabalho são polimórficos, o que também é evidenciado pelo polimorfismo detectado no genótipo de mandioca brava (Figura 1). Entretanto, Vieira et al. (2011) verificaram a existência de variabilidade genética entre 10 genótipos de mandiocas açúcaradas com marcadores RAPD, já que não identificaram nenhuma similaridade de 100% entre os genótipos avaliados.

Pode-se dizer que o mesmo genótipo de mandioca açúcarada está sendo utilizado em diferentes locais do estado do Pará. Isso pode ser efeito da propagação vegetativa da mandioca e pelas trocas de materiais entre os produtores.

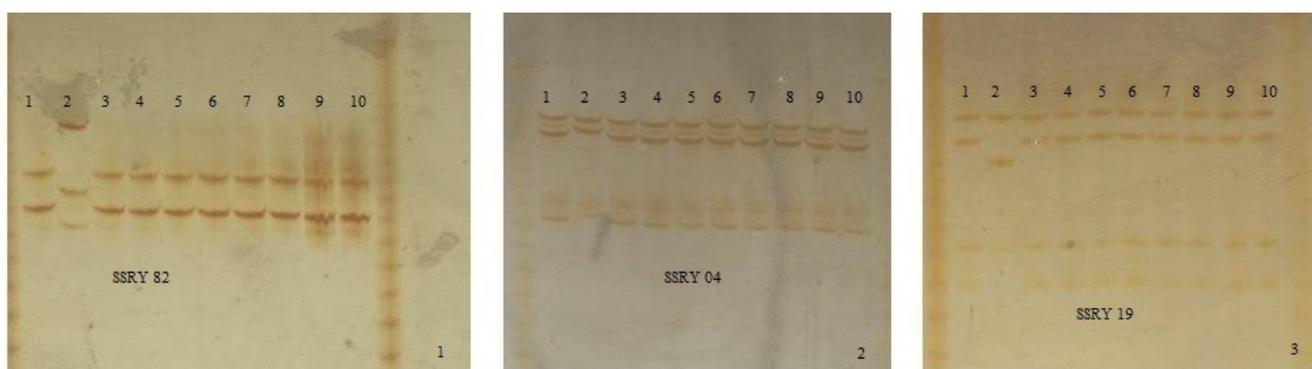


Figura 1. Imagens dos géis gerados com os *primers* SSRY82 (1); SSRY04 (2); SSRY19 (3), utilizados em dez genótipos de mandioca pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental, sendo os genótipos 1 e de 3 a 10 do tipo açúcarada e o genótipo 2 do tipo brava.

Conclusão

Segundo análise com marcadores microssatélites, acessos de mandiocas açúcaradas coletadas em diferentes locais no estado do Pará e pertencentes ao BAG da Embrapa da Amazônia Oriental correspondem a duplicatas, evidenciando pouca variabilidade genética deste tipo de mandioca.



Referências Bibliográficas

CARVALHO, L.J.C.B.; SOUZA, C.R.B.; CASCARDO, J.C.M.; CAMPOS, L. Identification and characterization of novel cassava (*Manihot esculenta* Crantz) clone with high free sugar content and novel starch. **Plant Molecular Biology**, v.56, p.643-659.

RAJI, A.A.J.; FAWOLE, I.; GEDIL, M.; DIXON. Genetic differentiation analysis of African cassava (*Manihot esculenta*) landraces and elite germplasm using amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeat markers, **Annals of Applied Biology**, v. 155, 2009, p. 187–199.

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

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; FONCECA, K.G.; CARVALHO, L.J.C.C. Caracterização molecular de acessos de mandioca açucarados e não-açucarados. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p.455-461, 2011.