

Diversidade genética de etnovariedades de mandiocas oriundas da Amazônica Legal avaliadas mediante sequências de cpDNA

Genetic diversity of cassava landraces from the Legal Amazon assessed using cpDNA sequencing

Diversidad genética de etnovariedades de yuca de la Amazonia Legal evaluada mediante secuencias de cpDNA

DOI: 10.54033/cadpedv22n14-137

Originals received: 11/04/2025

Acceptance for publication: 11/25/2025

Luziane de Abreu Nachbar

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-BIO-NORTE)

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT)

Endereço: Sinop, Mato Grosso, Brasil

E-mail: nachbar.luziane@gmail.com

Auana Vicente Tiago

Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)

Endereço: Sinop, Mato Grosso, Brasil

E-mail: auana_bio@hotmail.com

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CPAO)

Endereço: Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: eulalia.sobreira@embrapa.br

Kelli Évelin Müller Zortéa

Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT)

Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil

E-mail: kellimullerz@gmail.com

Joyce Mendes Andrade Pinto

Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)

Endereço: Sinop, Mato Grosso, Brasil

E-mail: joyce.andrade@embrapa.br

Ana Aparecida Bandini Rossi

Doutora em Genética e Melhoramento

Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT)

Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil

E-mail: anabanrossi@unemat.br

RESUMO

O conhecimento da diversidade genética de etnovariedades de mandiocas é importante para fins de conservação de recursos genéticos e uso em programas de melhoramento. A mandioca é uma espécie que apresenta múltiplas funcionalidades, é essencial em aspectos alimentares, culturais, ambientais e econômicos. Sua relevância ultrapassa as fronteiras nacionais, sendo um importante recurso para fins de segurança alimentar e desenvolvimento sustentável. Nesse estudo objetivou-se avaliar a diversidade genética de amostras de DNA desse tubérculo a partir de um marcador cloroplastidial. Foram avaliadas 96 etnovariedades oriundas de 16 municípios localizados nos estados do Mato Grosso e Amazonas, Brasil. Uma sequência das regiões *trnT-trnL* do genoma de cloroplasto foi analisada para estimar o número de haplótipos (H), a diversidade haplotípica (Hd), a diversidade nucleotídica (pi) e o número de sítios polimórficos (S). Os testes de neutralidade seguiram os métodos D de Tajima e Fs de Fu para o conjunto de dados. Uma rede de haplótipos e dendrograma (método UPGMA) foram elaborados. Os valores de diversidade genética apresentaram diversidade haplotípica e nucleotídica. Foram encontrados nove haplótipos formados a partir de dez sítios polimórficos. Os resultados indicam que as etnovariedades estudadas apresentam mutações que podem ser ocasionadas pela forma de reprodução da espécie, os testes de neutralidade apontam para uma recente expansão populacional o que evidencia a importância da conservação das variedades de mandiocas e estudos mais aprofundados utilizando o genoma cloroplastidial.

Palavras-chave: DNA de Cloroplasto. *M. esculenta*. Conservação. Diversidade Genética.

ABSTRACT

Knowledge of the genetic diversity of cassava landraces is important for conserving genetic resources and guiding their use in breeding programs. Cassava is a species with multiple functions and plays essential food, cultural, environmental, and economic roles. Its relevance transcends national borders, representing an important resource for food security and sustainable development. This study aimed to assess the genetic diversity of DNA samples

from this tuber using a chloroplast marker. Ninety-six landraces from 16 municipalities located in the states of Mato Grosso and Amazonas, Brazil, were evaluated. A sequence from the trnT-trnL regions of the chloroplast genome was analyzed to estimate the number of haplotypes (H), haplotypic diversity (Hd), nucleotide diversity (pi), and the number of polymorphic sites (S). Neutrality tests followed Tajima's D and Fu's Fs methods for the dataset. A haplotype network and a dendrogram (UPGMA method) were also constructed. Genetic diversity values revealed both haplotypic and nucleotide diversity. Nine haplotypes derived from ten polymorphic sites were identified. The results indicate that the landraces studied exhibit mutations that may be associated with the species' reproductive mode. Neutrality tests suggest a recent population expansion, highlighting the importance of conserving cassava varieties and conducting further studies using the chloroplast genome.

Keywords: Chloroplast DNA. *M. esculenta*. Conservation. Genetic Diversity.

RESUMEN

El conocimiento de la diversidad genética de las etnovariedades de yuca es importante para la conservación de los recursos genéticos y su uso en programas de mejoramiento. La yuca es una especie con múltiples funcionalidades y es esencial para la alimentación, la cultura, el medio ambiente y la economía. Su relevancia trasciende las fronteras nacionales, siendo un recurso importante para la seguridad alimentaria y el desarrollo sostenible. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética de muestras de ADN de yuca a partir de un marcador de cloroplasto. Se evaluaron un total de 96 etnovariedades de yuca de 16 municipios ubicados en los estados de Mato Grosso y Amazonas, Brasil. Se analizó una secuencia de las regiones trnT-trnL del genoma del cloroplasto para estimar el número de haplotipos (H), la diversidad haplotípica (Hd), la diversidad de nucleótidos (pi) y el número de sitios polimórficos (S). Las pruebas de neutralidad siguieron los métodos D de Tajima y Fs de Fu para el conjunto de datos. Se construyó una red de haplotipos y un dendrograma (método UPGMA). Os valores de diversidade genética apresentaram diversidade haplotípica e nucleotídica. Foram encontrados nove haplótipos formados a partir de dez sítios polimórficos. Os resultados indicam que as etnovariedades estudadas apresentam mutações que podem ser ocasionadas pela forma de reprodução da espécie, os testes de neutralidade apontam para uma recente expansão populacional o que evidencia a importância da conservação das variedades de mandiocas e estudos mais aprofundados utilizando o genoma cloroplastidial.

Palabras clave: ADN del Cloroplasto. *M. esculenta*. Conservación. Diversidad Genética.

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é amplamente cultivada em todo o território brasileiro. O Brasil é o 5º maior produtor mundial, atrás da Nigéria, República Democrática do Congo, Tailândia e Gana (FAOSTAT, 2023). Essa cultura é reconhecida como fundamental e com potencial para contribuir significativamente para a oferta de alimentos, além de ajudar a reduzir a pobreza e a fome, especialmente em países em desenvolvimento (FAO, 2019), devido à sua tolerância às condições ambientais variáveis e por ser fonte de renda familiar para o pequeno produtor (Xavier *et al.*, 2020).

A mandioca apresenta uma ampla variabilidade genética. Em um mesmo local de cultivo, é possível encontrar diversas etnovarietades que oferecem recursos genéticos valiosos para a preservação e conservação da espécie. A manutenção da variabilidade genética dessa espécie é favorecida pelos agricultores familiares que as cultivam em suas propriedades rurais, bem como pela troca de propágulos entre si, o que contribui para a ampliação da variabilidade e consequentemente a conservação *on farm* (Tiago *et al.*, 2016; Oler; Amorozo, 2017). Tal variabilidade pode ser utilizadas em programas de melhoramento genético, com foco na transferência de genes (Lima *et al.*, 2021), além de promover a conservação da espécie.

O sucesso da mandioca como cultivo resulta da junção de sua rusticidade, adaptabilidade e diversidade. A ampla diversidade genética observada na cultura da mandioca é resultado da seleção natural por meio de sua evolução, do processo de domesticação, da polinização cruzada, dos altos níveis de heterozigosidade e da rápida dispersão dos frutos, resultando em uma produção contínua de diversas novas variedades (Fukuda; Guevara, 1998).

A diversidade genética de uma espécie pode ser estimada por meio de técnicas moleculares. Dentre essas técnicas, destacam-se as análises de sequências de DNA, principalmente do DNA de organelas como os cloroplastos e mitocôndrias, que são haploides. O DNA de cloroplastos (cpDNA) nas angiospermas é comumente herdado maternalmente, portanto, pode ser usado para estudos de genética de populações explicando processos históricos de

migração (Cloutier *et al.*, 2005). O sequenciamento do cloroplasto permitiu uma maior compreensão de vários aspectos biológicos, incluindo a maquinaria transcricional celular e questões evolutivas (Sanitá Lima *et al.*, 2016).

O DNA de cloroplastos quando comparado ao DNA nuclear é menos usado em pesquisas de diversidade genética, porém houve um aumento gradual ao longo dos anos no uso de sequências de cpDNA como marcadores para a análise da diversidade genética em estudos botânicos (Carvalho *et al.*, 2019). A existência de genes altamente conservados e suas características específicas, explicam o aumento das pesquisas com o genoma do cloroplasto em estudos de diversidade genética (Barros, 2022).

A taxa de mutação do DNA nuclear é relativamente maior que do cpDNA (Petit; Vendramin, 2007), porém a taxa de diversidade genética ou evolutiva de diferentes regiões do genoma do cloroplasto varia, sendo as regiões não codificantes do cpDNA as que apresentam sítios mais informativos e tendem a evoluir mais rápido do que as regiões codificantes (Tekpinar *et al.*, 2021; Zortéa, 2022). As regiões *trnT* (UGU)-*trnF* (GAA) são sequências não codificante do cpDNA, altamente conservadas e de rápida taxa de evolução que podem ser amplificadas usando *primers* universais e de boa estabilidade (Clong *et al.*, 2021).

A maioria das espécies para as quais existem dados de diversidade genética com base em sequências de cpDNA são nativas (Carvalho *et al.*, 2022). Atualmente, existem poucos trabalhos sobre diversidade genética baseados em sequências *trnT-trnF* da mandioca. O limitado conhecimento sobre a utilidade do genoma de cloroplastos para a diferenciação intraespecífica e a baixa diversidade observada em plantas cultivadas quando comparadas às plantas nativas podem contribuir para esse reduzido número de publicações (Rodrigues, 2022).

Diante disso, objetivou-se neste estudo avaliar a diversidade genética entre amostras de DNA de etnovariedades de mandiocas, oriundas dos estados do Mato Grosso e Amazonas, mantidas na UNEMAT, por meio do sequenciamento de duas regiões de cpDNA.

2 METODOLOGIA

2.1 ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

Foram estudadas 96 amostras de DNA de etnovariedades de mandiocas mantidas na Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, Campus de Alta Floresta. Essas amostras foram coletadas em diferentes municípios do Estado de Mato Grosso e Amazonas (Tabela 1).

Tabela 1. Acessos de etnovariedades de mandiocas coletadas pela Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, Campus Alta Floresta, utilizadas no estudo molecular de sequenciamento cpDNA, 2025.

Nº	Código	Nome popular	Local	Nº	Código	Nome popular	Local
1	AP01	Amarela Minas	Apiacás/MT	49	MA04	Angelina	Maraã/AM
2	AP02	Liberata	Apiacás/MT	50	MT01	Branquinha	Matupa/MT
3	AP03	Manteiguinha	Apiacás/MT	51	MT02	Casca roxa 02	Matupa/MT
4	AF01	Cacau arara	Alta Floresta/MT	52	MT03	Castelinha	Matupa/MT
5	AF02	Cenoura	Alta Floresta/MT	53	NM01	Camanducaia	Nova Mutum/MT
6	AF03	Branca comum	Alta Floresta/MT	54	NM02	Paraná	Nova Mutum/MT
7	AF04	Branca do Baiano	Alta Floresta/MT	55	NM03	Cascatinha	Nova Mutum/MT
8	AF05	Amarela III	Alta Floresta/MT	56	NM04	Liberata	Nova Mutum/MT
9	AF06	Amarela da Bahia	Alta Floresta/MT	57	NM05	Mandioca sopa	Nova Mutum/MT
10	AF07	Folha roxa	Alta Floresta/MT	58	NM06	Amarelinha	Nova Mutum/MT
11	AF08	Mandioca 3 meses	Alta Floresta/MT	59	NM07	Talo avermelhado	Nova Mutum/MT
12	AF09	Pramuquem	Alta Floresta/MT	60	PX01	Cacau	Peixoto Azevedo/MT
13	AF10	Mandioca Bahia	Alta Floresta/MT	61	PX02	Vassourinha	Peixoto Azevedo/MT
14	AL01	Manteguinha	Alvarães/AM	62	PX03	Branquinha	Peixoto Azevedo/MT
15	AL02	João Gonçalo	Alvarães/AM	63	PC01	Brava	Poconé/MT
16	AL03	Catombinho	Alvarães/AM	64	PC02	Cacau	Poconé/MT
17	AL04	Catombo	Alvarães/AM	65	PC03	Brava	Poconé/MT
18	AL05	Macaxeira branca	Alvarães/AM	66	PC04	Não identificada	Poconé/MT
19	AL06	Catombo	Alvarães/AM	67	SH01	Mandioca roxa	Santa Helena/MT
20	CB01	Pão	Cuiabá/MT	68	SH02	Branca 4 meses	Santa Helena
21	CB02	Abóbora	Cuiabá/MT	69	SH03	Cacau branca	Santa Helena
22	CB03	Urubu	Cuiabá/MT	70	SP01	Talo roxo	Sinop/MT
23	CB04	Canela de ema	Cuiabá/MT	71	SP02	Mandioca pão	Sinop/MT
24	CB05	Osso	Cuiabá/MT	72	SP03	Talo vermelho	Sinop/MT
25	CB06	Juruti	Cuiabá/MT	73	SP04	Branca	Sinop/MT

26	CB07	Paraguinha	Cuiabá/MT	74	SP05	Amarelinha	Sinop/MT
27	CB08	Roxona	Cuiabá/MT	75	SR01	Amarela 02	Sorriso/MT
28	CB09	Guarapé	Cuiabá/MT	76	SR02	Branca	Sorriso/MT
29	CB10	Não identificada	Cuiabá/MT	77	SR03	Amarela alta	Sorriso/MT
30	CB11	Não identificada	Cuiabá/MT	78	SR04	Cacau	Sorriso/MT
31	CB12	Liberatinha	Cuiabá/MT	79	SR05	Amarelinha	Sorriso/MT
32	CB13	Pele roxa	Cuiabá/MT	80	TF01	Não identificada	Tefé/AM
33	IT01	Casca roxa	Itaúba/MT	81	TF02	Catombo	Tefé/AM
34	IT02	Mandioca pão	Itaúba/MT	82	TF03	Catombinho	Tefé/AM
35	IT03	Mandioca 6 meses	Itaúba/MT	83	TF04	Não identificada	Tefé/AM
36	IT04	Amarela	Itaúba/MT	84	TF05	Não identificada	Tefé/AM
37	IT05	Branca 02	Itaúba/MT	85	TF06	Não identificada	Tefé/AM
38	LC01	Amarela 01	Lucas Rio Verde/MT	86	TF07	Não identificada	Tefé/AM
39	LC02	Amarela 03	Lucas Rio Verde/MT	87	UR01	Manivão	Uarini/AM
40	LC03	Branca 01	Lucas Rio Verde/MT	88	UR02	Antinha preta	Uarini/AM
41	LC04	Branca 02	Lucas Rio Verde/MT	89	UR03	Vermelhinha	Uarini/AM
42	LC05	Folha roxa	Lucas Rio Verde/MT	90	UR04	Antinha branca	Uarini/AM
43	LC06	Mandioca de fritar	Lucas Rio Verde/MT	91	UR05	Catombo normal	Uarini/AM
44	LC07	Talo roxo	Lucas Rio Verde/MT	92	UR06	Antinha	Uarini/AM
45	LC08	Mandioca roxa	Lucas Rio Verde/MT	93	UR07	Catombo normal	Uarini/AM
46	MA01	Angelina	Maraã/AM	94	UR08	Catombo normal	Uarini/AM
47	MA02	Catombinho	Maraã/AM	95	UR09	Catombo direita	Uarini/AM
48	MA03	Baixotinha	Maraã/AM	96	UR10	Antinha	Uarini/AM

Fonte: Autores

2.2 DNA DAS AMOSTRAS ANALISADAS

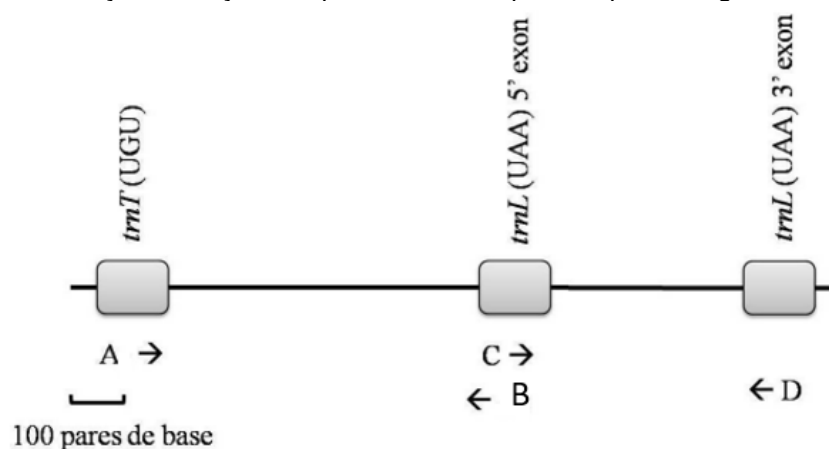
Amostras de DNA total conservadas em -80°C foram selecionadas e analisadas neste estudo. A qualidade desse material biológico foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1% e a concentração determinada em Espectrofotômetro Nanodrop-2000 (Thermo Scientific). A concentração das amostras foi padronizada para aproximadamente 10 ng/μL, utilizando água ultrapura Milli-Q e armazenadas a -20°C, para uso nas reações de amplificação.

2.3 AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO CPDNa

A região espaçadora entre os genes de RNA transportador de treonina e de leucina (*trnT-trnL*) do genoma de cloroplasto foi amplificada utilizando os

iniciadores A (5'-CATTACAAATGCGATGCTCT-3') e B (5'-TCTACCGATTTCGCCATATC-3') de Taberlet *et al.* (1991). Esse par de iniciadores amplifica a região espaçadora intergênica entre o éxon 5' de *trnT* (UGU) e *trnL* (UAA). A segunda reação foi conduzida com os primers C (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3') e D (5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3') para amplificação do íntron *trnL* (UAA) (Taberlet *et al.*, 1991) (Figura 1).

Figura 1. Posição e direção dos primers usados para amplificar regiões do cpDNA.



Fonte: Adaptado de Taberlet *et al.* (1991).

As reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em volume final de 25 µL, contendo: 5µL de tampão IVB 5x (Phoneutria Biotecnologia e Serviços), 1,5µL de MgCl₂ (50mM), 2µL de dNTP's (2,5 mM), 2,5µL de cada primer (5µM), 1,25µL de DMSO, 0,25µL de Taq DNA polimerase, aproximadamente 10 ng/ µL de DNA e água ultrapura para completar o volume.

As amplificações foram conduzidas em termociclador BIO-RAD T100™. Para amplificar a região espaçadora intergênica entre o éxon 5' de *trnT-trnL* (região “AB”) foi realizado um ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 1 minuto, 53°C por 1 minuto, 72 °C por 1 minuto e 1 ciclo de extensão final de 72 °C por 5 minutos (Dardengo, 2017). A região do íntron *trnL* (região “CD”) foi amplificada com um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 5 minutos, um programa *touchdown* de sete ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto, 72°C por 2 minutos, seguidos por 28 ciclos

de 94°C por 1 minuto, 52°C por 1 minuto, 72°C por 1,5 minutos e 1 ciclo de extensão final de 72°C por 7 minutos (Zortéa, 2022).

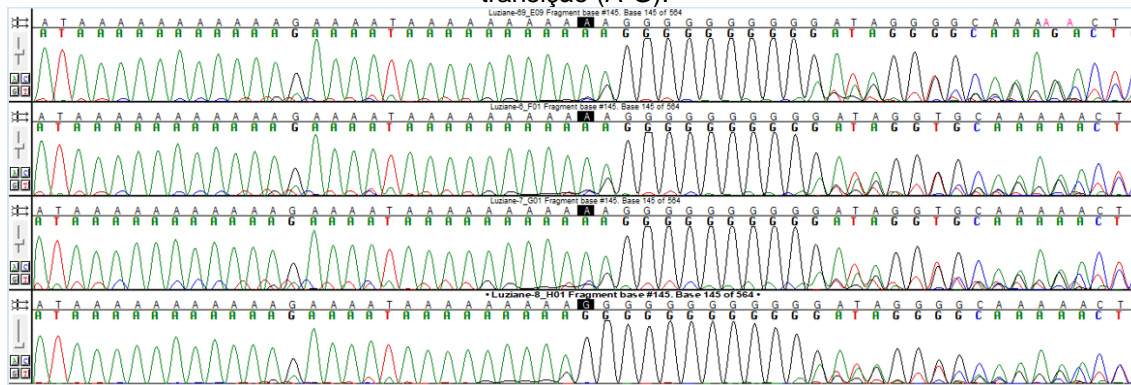
Os produtos de PCR foram aplicados em gel de agarose 1,5% para verificar a amplificação. Posteriormente as amostras foram purificadas e sequenciadas. A purificação das amostras amplificadas foi realizada utilizando o kit de enzimas Exo + SAP (Cellco Biotecnologia) na proporção 4 µl da enzima para 10 µl de reação. As reações foram incubadas em banho maria por 10 minutos à 37°C para degradar os nucleotídeos não incorporados e remanescentes de iniciadores e depois incubados à 80°C por 10 minutos para inativar a enzima Exo+SAP. O material foi armazenado à -80°C até o envio para sequenciamento no Instituto René Rachou (Fiocruz - Minas Gerais), utilizando o sequenciador automático ABI 3730 xL.

2.4 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS DO CPDNA E ESTIMATIVA DA REDE DE HAPLÓTIPOS

As regiões *trnT-trnL* resultaram em dois fragmentos, que não se sobrepõem. As 96 sequências das duas regiões foram importadas para o software Sequencher versão 4.1.4 editadas e corrigidas manualmente (Figura 2). Os dois fragmentos amplificados foram unidos e elaborado uma matriz das amostras de cpDNA. O fragmento da junção das duas regiões do genoma cloroplastídico resultou nos haplótipos.

O alinhamento das sequências obtidas da união entre as regiões “AB” e “CD” foi realizado no MAFFT versão 7 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) e o arquivo em formato Fasta foi exportado para o programa DnaSP v. 6 (Rozas *et al.*, 2017) para obter o número de haplótipos (H), a diversidade nucleotídica (pi), a diversidade haplotípica (Hd), o número de sítios polimórficos (S) e os testes de neutralidade pelos métodos Fs de Fu’s e D de Tajima. O agrupamento hierárquico pelo método UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) foi elaborado no software Past versão 4.09 (Hammer *et al.*, 2001) a partir do arquivo de alinhamento das sequências no formato Fasta usando o índice de Bray-Curtis.

Figura 2. Eletroferograma de quatro sequências da região espaçadora intergênica entre o éxon 5' de *trnT* (UGU) e *trnL* (UAA) do genoma de cloroplasto de mandioca, analisados no software Sequencher versão 4.1.4, onde pode ser visualizada a presença de uma mutação pontual de transição (A-G).



Para determinar os haplótipos presentes no conjunto de dados foi usado o programa DnaSP (Rozas *et al.*, 2017) uma rede de haplótipos *Median-Joining* foi gerada através do programa PopArt (Bandelt *et al.*, 1999). A frequência dos haplótipos nos municípios foi plotada em um mapa, com auxílio do programa QGIS 3.28.10.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 HAPLÓTIPOS DA REGIÃO ESPAÇADORA *TRNT-TRNL* DO GENOMA DE CLOROPLASTO

As regiões espaçadora intergênica entre o éxon 5' de *trnT* (UGU) e *trnL* (UAA) e o íntron *trnL* (UAA) geraram dois fragmentos de 568 pares de bases (bp) e 418 bp, respectivamente. A união dos fragmentos das regiões espaçadora *trnT-trnL* (região “AB”) com o íntron *trnL* (região “CD”) alinhados resultaram em uma sequência de 984 pb e nove haplótipos.

O alinhamento dos 984 pares de bases das 96 amostras de mandioca revelou a presença de dez sítios polimórficos, caracterizados como substituições de bases, sendo quatro do tipo transição e seis do tipo transversão. A maior parte dos sítios polimórficos ocorreram na região espaçadora intergênica entre o éxon 5' de *trnT* (UGU) e *trnL* (UAA) com 8 sítios polimórficos e dois sítios polimórficos na região do íntron *trnL* (UAA) (Figura 3).

Figura 3. Alinhamento dos sítios polimórficos da região espaçadora *trnT-trnL* do genoma de cloroplasto que definem os nove haplótipos (HAP) em etnovarietades de mandioca oriundas do Mato Grosso e Amazonas. Cada fragmento combina 568 bp da região espaçadora intergênica entre o éxon 5' do *trnT* (UGU) e *trnL* (UAA) (segmento "AB") e 418 bp do íntron do *trnL* (segmento "CD"). Os números acima do alinhamento representam a posição do sítio polimórfico no alinhamento. Os pontos indicam similaridade ao Haplótipo A e # indica o número de ocorrências de cada haplótipo entre as 96 sequências analisadas.

	Base	#	001	004	005	018	132	137	147	148	153	362	461	576	984
HAP	A	88	A	A	A	C	G	T	A	A	G	T	T	A	C
	B	1	G
	C	1	G	G
	D	1	G	.
	E	1	.	.	.	G
	F	1	.	C	T
	G	1	A	A	.	.	.	A	.	.	.
	H	1	A	.	.
	I	1	G	.	A	.	.	.
			AB										CD		

Fonte: Autores

Os índices de diversidade para a espécie de forma geral e para cada município amostrado estão representados na tabela 2. Não foi possível calcular os índices para os municípios de Apiacás, Cuiabá, Lucas do Rio Verde, Sorriso, Sinop, Nova Mutum, Santa Helena e Matupá no estado de Mato Grosso e os municípios de Alvarães, Maraã e Tefé no Amazonas, devido estes apresentarem apenas um haplótipo.

Os valores de diversidade haplotípica (H_d) e nucleotídica (P_i) total das populações estudadas foram 0,161 e 0,00027, respectivamente (Tabela 2). Ao analisar individualmente cada município esses valores foram superiores, com os municípios de Itaúba ($H_d=0,700$ e $P_i=0,00204$) e Peixoto de Azevedo ($H_d=0,667$ e $P_i=0,00136$) apresentando os maiores valores (Tabela 2). As diversidades haplotípica e nucleotídica quando comparadas podem definir a história demográfica de um grupo (Anvise, 2000).

TABELA 2. Diversidade haplotípica (Hd); diversidade nucleotídica (Pi) e total de indivíduos sequenciados por região cloroplastidial (N) considerando todas as amostras do DNA de etnovarietades de mandiocas oriundas do Mato Grosso e Amazonas.

Municípios	N	H	Hd	Pi	S	Tajima's	Fu'sFs
Todos	96	9	0,161	0,00027	1	-2,21597 (P < 0,01)	-4,17565 P < 0,02)
Apiacás/MT	3	1	0,000	0,00	0	0,00	0,00
Alta Floresta/MT	10	3	0,378	0,00057	2	-0,69098	-0,42293
Poconé/MT	4	2	0,500	0,00051	1	-0,61237	-0,47871
Cuiabá/MT	13	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Uarini/AM	10	3	0,378	0,00041	2	-1,40085	-1,71902
Alvarães/AM	6	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Maraã/AM	4	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Tefé/AM	7	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Nova Mutum/MT	7	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Lucas do Rio Verde/MT	8	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Sorriso/MT	5	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Sinop/MT	5	3	0,700	0,00204	5	-1,12397	-1,71902
Itaúba/MT	3	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Santa Helena/MT	3	2	0,667	0,00136	2	-	-
Peixoto de Azevedo/MT	3	1	0,00	0,00	0	0,00	0,00
Matupá/MT							

N: Número amostral; H: Número de haplótipos; Hd: Diversidade haplotípica; Pi: Diversidade nucleotídica; S: Sítios polimórficos. (-) número insuficiente de sequências para análises (pelo menos 4 sequências). Fonte: Autores.

O presente estudo apresenta baixa diversidade de haplótipos e nucleotídeos, o que pode indicar, segundo Grant e Bowen (1998), a ocorrência de um gargalo populacional recente ou um efeito fundador, em que a população foi reduzida a uma única linhagem. Olsen e Schaal (2001), em estudo com cinco loci microssatélites, investigaram as origens evolutivas e geográficas da mandioca no sul da Amazônia e sugeriram que domesticação da espécie ocorreu a partir da seleção de poucos indivíduos selvagens que apresentavam características desejáveis, como maior produção de raízes, menor toxicidade e facilidade de propagação. Esse processo resultou em um gargalo genético, reduzindo significativamente a variabilidade da espécie cultivada em comparação às populações silvestres (Olsen; Schaal, 1999). A mudança da propagação sexual para a clonal por meio de estacas (reprodução vegetativa) mantém os genótipos selecionados ao longo do tempo, mas não favorece a recombinação genética, o que limita o surgimento de novas variações (McKey *et al.*, 2010).

Os testes de neutralidade D de Tajima e F_s de Fu foram negativos e significativos para análise do conjunto de dados (-2,21597 e -4,17565). Valores negativos para o conjunto de populações, sugere uma expansão recente ou seleção purificadora (Tajima, 1989). A seleção purificadora refere-se ao processo por quais variantes genéticas específicas ou desfavoráveis são eliminadas ao longo das gerações, preservando as características vantajosas ou essenciais para a sobrevivência e produtividade da planta (Palozzi *et al.*, 2018). Esse tipo de seleção é particularmente importante no contexto da mandioca, uma das principais culturas de subsistência e comerciais em regiões tropicais. A sua propagação por estacas reduz a variabilidade genética nas gerações subsequentes e seleciona indivíduos mais produtivos e adaptados, o que intensifica o impacto da seleção purificadora ao eliminar mutações deletérias que poderiam comprometer a planta (Alves, 2002).

3.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS HAPLÓTIPOS

O haplótipo A apresentou maior frequência, presente em todos os municípios estudados (Tabela 3), representando 88 das 96 amostras sequenciadas; o que pode indicar que seja o mais antigo e que há um fluxo gênico entre essas localidades. Segundo a teoria da coalescência de Kingman (1982) os haplótipos mais antigos são aqueles que possuem maior frequência, apresentam amplas distribuições geográficas e estão no centro das redes de haplótipos (Freeland, 2005).

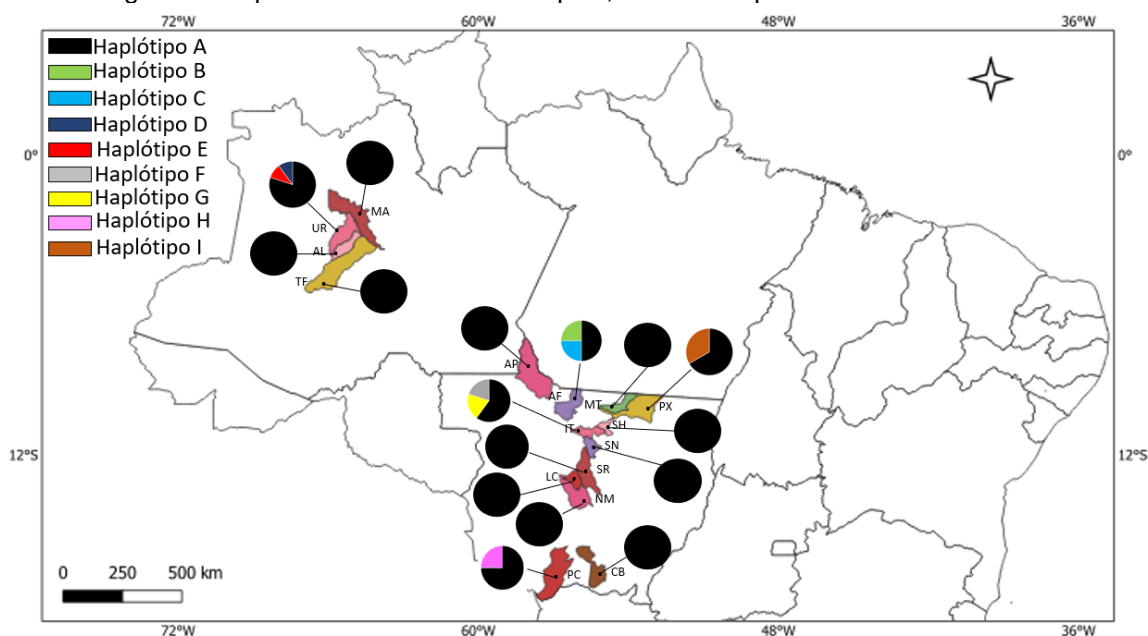
Os demais haplótipos B, C, D, E, F, G, H e I apareceram apenas uma vez. Nos municípios do Mato grosso (Alta Floresta com os haplótipos “B” e “C”; Itaúba “F” e “G”; Poconé haplótipo “H” e Peixoto de Azevedo o “I”). No Amazonas o município de Uarini com os haplótipos “D” e “E” (Tabela 3) e (Figura 4).

Tabela 3. Distribuição dos nove haplótipos referentes a região espaçadora *trnT-trnL* do genoma de cloroplasto obtidos a partir da análise de 96 amostras do DNA de etnovarietades de mandioca oriundas do Mato Grosso e Amazonas. O número de amostras de sequências analisadas (N) e o número total de haplótipos (NH) encontrados por regiões são indicados.

Municípios	Código	N	Distribuição dos Haplótipos									NH
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	
Apiacás/MT	AP	3	3									1
Alta Floresta/MT	AF	10	8	1	1							3
Alvarães/AM	AL	6	6									1
Cuiabá/MT	CB	13	13									1
Itaúba/MT	IT	5	3					1	1			3
Lucas do Rio Verde/MT	LC	8	8									1
Maraã/AM	MA	4	4									1
Matupá/MT	MT	3	3									1
Nova Mutum/MT	NM	7	7									1
Peixoto de Azevedo/MT	PX	3	2								1	2
Poconé/MT	PC	4	3							1		2
Santa Helena/MT	SH	3	3									1
Sinop/MT	SP	5	5									1
Sorriso/MT	SR	5	5									1
Tefé/AM	TF	7	7									2
Uarini/AM	UR	10	8			1	1					3
Total		96	88	1	1	1	1	1	1	1	1	

Fonte: Autores.

Figura 4. Distribuição geográfica dos haplótipos das amostras de cpDNA de *M. esculenta*. As siglas no mapa referem-se aos municípios, conforme apresentado na tabela 1.



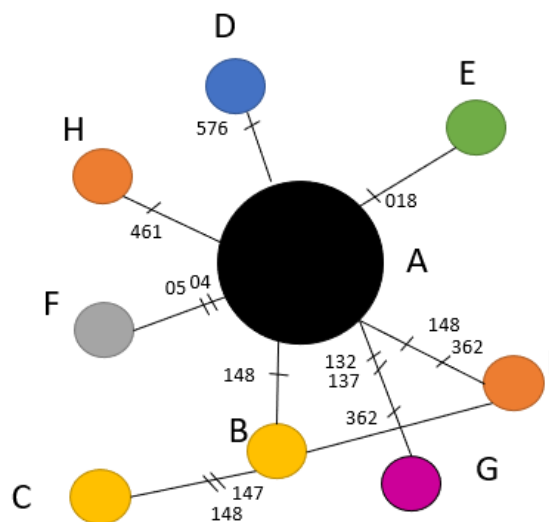
Fonte: autores

A rede de haplótipos criada na região *trnT-trnL* do genoma de cloroplasto da espécie estudada está apresentada na Figura 5. O formato de estrela da rede de haplótipos é um indicativo de aumento na população, sugerindo que a espécie

enfrentou um período de gargalo populacional, seguida por uma recente expansão populacional (Rodrigues, 2008) o que foi sustentado pelos testes de neutralidade e D de Tajima e Fs de Fu.

Os haplótipos B, C e I apresentam a mesma alteração de nucleotídeos na posição (148, A-G) e os haplótipos I e G na posição (362, T-A).

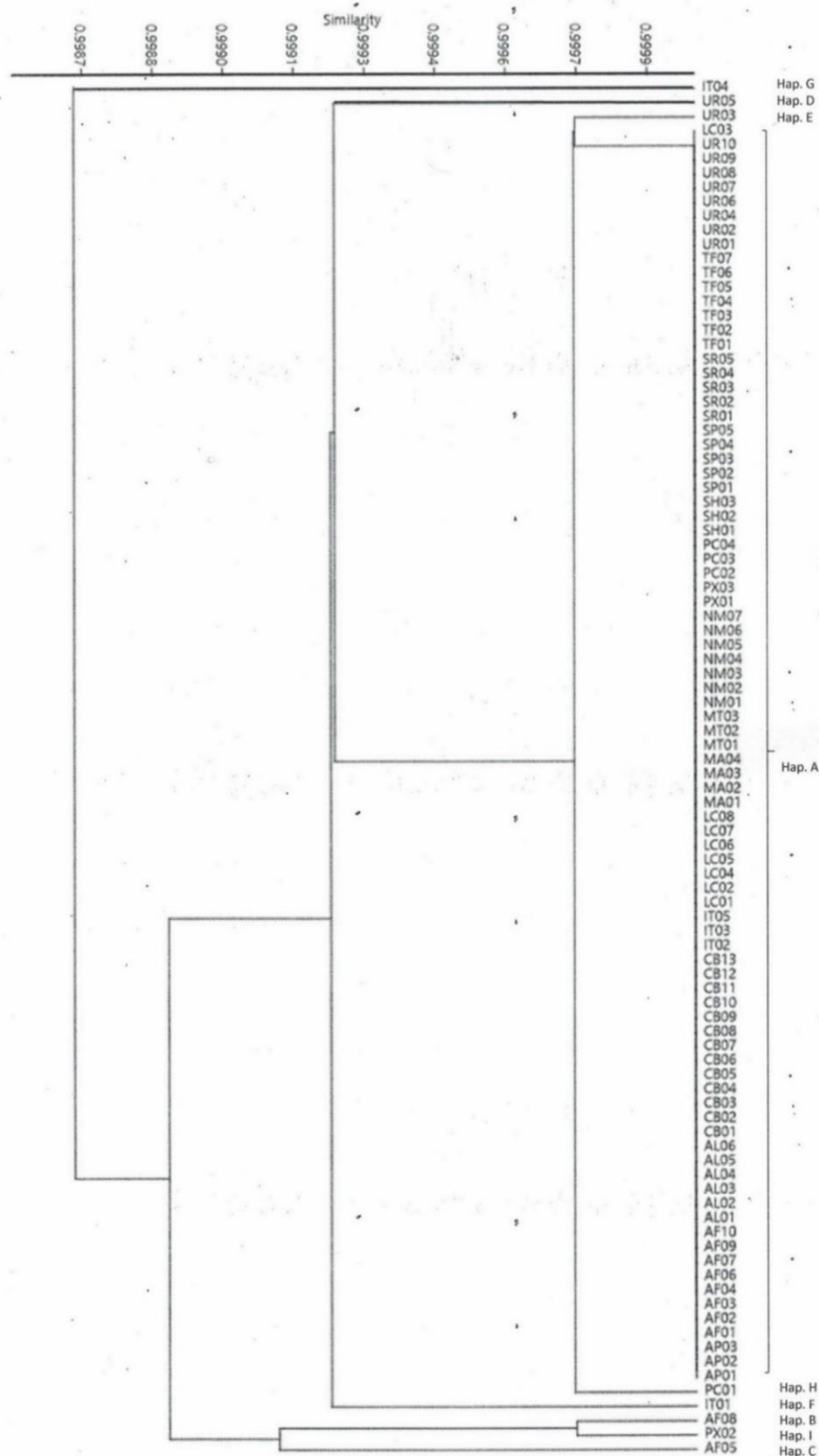
Figura 5. Rede de haplótipos Median-joining mostrando as relações entre os haplótipos de *trnT-trnL* em *Manihot esculenta*. Círculos representam haplótipos (codificados por letras), o tamanho do círculo é proporcional à frequência relativa do haplótipo e as cores dentro dos círculos denotam os haplótipos. As barras indicam o número de mutações e os números o local onde ocorreu mutação.



Fonte: Autores

O dendrograma (Figura 6) representa a similaridade entre as 96 amostras do cpDNA, observa-se a formação de nove grupos, o grupo do haplótipo G formado pela amostra IT04 é a mais divergente, nessa sequência ocorreram três substituições de bases nucleotídicas uma de transição (132, G-A) e duas transversões (137, T-A e 362, T-A). Os haplótipos B, C e I apresentam em comum uma substituição de bases de transição na posição (148, A-G).

Figura 6. Agrupamento hierárquico obtido a partir do índice de Bray-Curtis encontrada entre as 96 amostras avaliadas pelo método UPGMA. Coeficiente de Correlação Cofenética: 0.997. A identificação das amostras está baseada nos códigos apresentados na Tabela 1. Hap: Haplótipo.



Fonte: Autores

Ao correlacionar a rede de haplótipos com o dendrograma observa uma maior proximidade entre os haplótipos “B”, “C” (Alta Floresta) e “I” (Peixoto de Azevedo). Os haplótipos “C” e “I” estão a um passo mutacional do haplótipo “B”, demonstrando a pequena distância genética desses haplótipos. Esses haplótipos, provavelmente surgiram à medida que a população se recupera.

A troca de material de propagação (manivas) é um dos principais fatores que contribuem para o aumento da diversidade (Figueredo *et al.* 2019, Tiago *et al.* 2019), essa troca de manivas se estende para além dos municípios e até das regiões (Pedri *et al.*, 2021).

A mandioca é uma espécie alógama, monóica, diploide e altamente heterozigótica (Fukuda, 1999). Apesar da propagação vegetativa ser a forma mais comum de plantio praticada pelos agricultores, a planta não perdeu sua capacidade de reprodução sexual.

A propagação por sementes ainda ocorre principalmente na região Amazônica e no Cerrado, através de práticas agrícolas tradicionais (Kistler *et al.*, 2025). Os agricultores tradicionais geralmente cultivam na mesma área diferentes etnovariedades de mandiocas, que florescem e produzem sementes férteis (Rival; Mckey, 2008). As mudas espontâneas germinam e crescem juntamente com as plantas cultivadas, essas plantas ao atingirem o crescimento adequado são avaliadas pelos agricultores, podendo ser descartadas ou selecionadas para propagação vegetativa (Emperaire; Peroni, 2007; Peroni, 2007), surgindo novas combinações e, portanto, novas etnovariedades.

A recombinação da reprodução sexuada que ocorre de forma espontânea nas roças com a produção de flores e sementes pode contribuir para a formação de novos haplótipos. Segundo McCauley (1995) o fluxo gênico pode ser promovido pela dispersão de pólenes e sementes, porém o cpDNA é maternalmente herdado na mandioca, assim como na maioria das angiospermas, ele é movido unicamente através da dispersão das sementes. A taxa de migração do cpDNA em angiospermas são menores do que as taxas de migrações dos genes nucleares que podem ser dispersos por pólenes e sementes. Portanto, a incorporação de plântulas oriundas de sementes colabora

para aumentar a diversidade genética intraespecífica do cultivo da mandioca (Duputié *et al.*, 2009; Pereira, 2015).

4 CONCLUSÃO

A partir das análises realizadas com genomas de cloroplastos, é possível evidenciar a diversidade genética existente entre as amostras avaliadas. Os resultados obtidos indicam que a população de mandioca sofreu um gargalo genético, seguido por uma recente expansão populacional. A forma de propagação da espécie pode ser responsável por esse cenário. Ademais, observa-se uma variabilidade genética recente entre os haplótipos, a qual pode favorecer o surgimento ou preservação de características desejáveis para o consumo ou fins comerciais. A diversidade genética entre as variedades de mandiocas estudadas representa um fator importante para a preservação da espécie, além de seu uso em programas de conservação e melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. A. C. Cassava botany and physiology. In: HILLOCKS, R. J.; THRESH, J. M.; BELLOTTI, A. C. (ed.). **Cassava: Biology, Production and Utilization**. Wallingford: CABI Publishing, p. 67–89, 2002.
- AVISE, J. C. **Phylogeography: the history and formation of species**. Cambridge: Harvard Univ. Press, 2000.
- BANDELT, H.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v.16, n.1, p. 37–48, 1999.
- BARROS, G. C. C. **Desenvolvimento de recursos genômicos e transcricionais em *Quillaja brasiliensis***. Dissertação (Biologia Vegetal) – Ciências Biológicas- Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 2022.
- CHONG, W.; JIAO, C.; YANG, X.; ZHANG, W.; JIAN, L.; CHAI, S.; WANG, L.; TIAN, X. H. Análise sequencial da diversidade genética do germoplasma da batata-doce. **Jornal da Agricultura do Sul**, v. 52, n.6, p. 1536-1544, 2021.
- CLOUTIER, D.; PÓVOA, J. S. R.; PROCOPIO, L. C.; LEÃO, N. V. M.; WADT, L. H. O.; CIAMPI, A. Y.; SCHOEN, D. J. Chloroplast DNA variation of *Carapa guianensis* in the Amazon basin. **Silva e Genética**, v. 54, n. 1-6, p. 270-274, 2005.
- DARDENGO, J. F. E. **Estrutura de populações e Filogeografia molecular de *Theobroma speciosum* Willd. ex. Spreng. (Malvaceae)**. Tese (Doutorado de Biodiversidade e Biotecnologia), Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochem Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.
- FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Produção global de mandioca**. Roma, 2023. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 20 jun. 2024.
- FAO – Food and Agriculture Organization. **Save and grow: Cassava – A guide to sustainable production intensification**. Rome: FAO, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/publications>>. Acesso em: 20 maio 2025.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019) **Participação dos continentes na produção de mandioca em 2019**. FAOSTAT Database Gateway— FAO. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 18 maio 2023.
- FREELAND, J. R. **Molecular Ecology**. John Wiley & Sons, Chichester, 2005.

FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores morfológicos e agrônômicos para a caracterização de mandioca** (*Manihot esculenta* Crantz). Cruz das Almas: CNPMF, 1998, 38p. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/638631>>. Acesso em: 21 maio 2023.

FUKUDA, W. M. G. Melhoramento de mandioca. In: BÓREM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 969 p., 1999.

GRANT, W. S.; BOWEN, B. W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **The American Genetic Association**, v. 89, p. 415–426, 1998.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v. 4, n. 9, 9p, 2001.

KISTLER L. *et al.* Historic manioc genomes illuminate maintenance of diversity under long-lived clonal cultivation. **Science**, v. 387, Edição 6738, 2025.

LIMA, L. A.; XAVIER, A. R.; AMORIM, A. V.; VASCONCELOS, J. G. Saberes tradicionais, sustentabilidade cultural e caracterização de etnovarietades da mandioca: estudo em uma comunidade no interior do Ceará. Research, **Society and Development**, v. 10, n.13, 2021. ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.20941>

MCCAULEY, D. F. The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. **Trends Ecol Evol.**, v. 10, p. 198-202, 1995.

MCKEY, D. *et al.* The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. **New Phytologist**, London, v. 186, n. 2, p. 318–332, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03210.x>. Acesso em: 20 maio 2025.

MEZETTE, T. F.; BLUMER, C. G.; VEASEY, E. A. Morphological and molecular diversity among cassava genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 510-518, 2013.

OLER, J. R. L.; AMOROZO, M. C. D. M. Etnobotânica e conservação *on farm* de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na agricultura de pequena escala no Estado de Mato Grosso, Brasil. **Interações**, v. 18, p. 137-153, 2017.

OLER, J. L. R.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; TIAGO, A. V.; PINTO, J. M. A. Etnobotânica e análise da diversidade genética de variedades de mandioca cultivadas em Poconé, Mato Grosso. In: SILVA, E. da. (org.). **Principais temas da pesquisa em ciências biológicas 2**. Ponta Grossa, PR: Atena, 2023.

OLSEN, K. M.; SCHAAL, B. A. Evidence on the origin of cassava: Phylogeography of *Manihot esculenta*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 96, n. 10, p. 5586–5591, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.96.10.5586>. Acesso em: 20 maio 2025.

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. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 88, n. 1, p. 131–142, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2657133>. Acesso em: 20 maio 2025.

PALOZZI, J. M.; JEEDIGUNTA, S. P.; HURD, T. R. Mitochondrial DNA purifying selection in mammals and invertebrates. **Journal of Molecular Biology**. v. 430, n. 24, p. 4834-4848, 2018.

PETIT, R. J.; VENDRAMIN, G. G. Plant phylogeography based on organelle genes: an introduction. In: WEISS, S.; FERRAND, N. (Eds.). *Phylogeography of Southern European Refugia*. **Dordrecht: Springer**, 2007. DOI:10.1007/1-4020-4904-8_2

RODRIGUES, S. H.; SANTOS S. Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (*Cynoscion acoupa*, Sciaenidae) from the Northern coast of Brazil. **Genet Mol Biol**. v. 31, n.2, p. 487-492, 2008.

RODRIGUES, M. S. **Lacunas e tendências em estudos de diversidade genética de espécies amazônicas**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação), Universidade Federal do Pará, Altamira, 2022.

ROZAS, J.; FERRER-MATA, A.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J. C.; GUIRÃO-RICO, S.; LIBRADO, P.; RAMOS-ONSINS, S. E.; SANCHES-GRACIA, A. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 12, p. 3299-3302, 2017. DOI: 10.1093/molbev/msx248

SANITÁ LIMA, M. *et al.* The (in) complete organelle genome: exploring the use and nonuse of available technologies for characterizing mitochondrial and plastid chromosomes. **Molecular Ecology Resources**, v. 16, n. 6, p. 1279-1286, 2016.

TABERLET, P.; GIELLY, L.; PANTAOU, G.; BOUVET, J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**, v. 17, n. 5 p. 1105-1109, 1991.

TEKPINAR, A. D.; AKTAŞ, C.; KANSU, Ç; DUMAN, H.; KAYA, Z. Phylogeography and phylogeny of genus *Quercus* L. (Fagaceae) in Turkey implied by variations of trnT (UGU) -L (UAA) -F (GAA) chloroplast DNA Region.

Tree Genetics & Genomes, v. 17, n. 5, número do artigo 40, 2021. DOI:
<https://doi.org/10.1007/s11295-021-01522-x>

TIAGO, A. V. *et al.* Genetic diversity in cassava landraces grown *on farms* in Alta Floresta-MT, Brazil. **Genetics and Molecular Research (GMR)**, v. 15, n. 3, p. 1-10, 2016.

TIAGO, A. V.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; PEDRI, E. C. M.; CARDOSO, E. D. S.; PINTO, J.; PENA, G.; ROSSI, A. Genetic diversity and population structure of cassava ethno-varieties grown in six municipalities in the state of Mato Grosso, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 4, p. 1-17, 2019.

ZOTÉA, K. E. M.; **Relações filogeográficas em populações de cambará** (*Vochysia divergens* Pohl.) **nativas dos biomas Amazônia, cerrado e Pantanal, Brasil**. Tese. (Biodiversidade e Biotecnologia). Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, 2022.