

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**ESTUDOS GENÉTICOS DO GERMOPLASMA DE MANDIOCA (*Manihot  
esculenta* Crantz) PARA QUALIDADE DA RAIZ**

**FERNANDA ALVES SANTANA**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**ABRIL – 2014**

**ESTUDOS GENÉTICOS DO GERMOPLASMA DE MANDIOCA (*Manihot  
esculenta* Crantz) PARA QUALIDADE DA RAIZ**

**FERNANDA ALVES SANTANA**

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2010

Dissertação submetida ao colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira**

**Co-orientadora: Dra. Luciana Alves de Oliveira**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CRUZ DAS ALMAS – BAHIA – 2014

## FICHA CATALOGRÁFICA

Santana, Fernanda Alves.

Estudos genéticos do germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) para qualidade da raiz./ Fernanda Alves Santana.– Cruz das Almas, 2014.

78 f. il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira.

Co-Orientador: Dra. Luciana Alves de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2014.

1. Mandioca. 2. Melhoramento vegetal. 3. Produção vegetal. I. Oliveira, Eder Jorge de. II. Oliveira, Luciana Alves de. IV. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Título.

CDD: 633.682 – 21. ed.

CDU: 633.49

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA ALUNA  
FERNANDA ALVES SANTANA



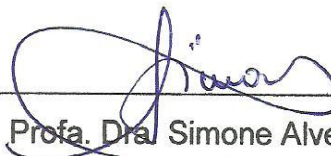
---

Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Orientador



---

Dr. Vanderlei da Silva Santos  
Embrapa Mandioca e Fruticultura



---

Profa. Dra. Simone Alves Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos  
Genéticos Vegetais em .....  
Conferindo o Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em .....  
.....

À Deus,  
À minha família,  
Aos verdadeiros amigos,

Em especial a minha mãe, Arcelina Florinda Alves Santana, por sempre apoiar meus estudos e minha formação profissional, além de me incentivar a lutar por conquistas ainda maiores. A senhora é para mim a referência de uma mulher batalhadora e estímulo para não desistir jamais.

Dedico

A minha querida sobrinha Yasmim Fantine. Que a minha conquista venha servir de incentivo para as suas realizações.

Ofereço

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser o meu refúgio e fortaleza nas horas de angústia.

A minha mãe, por estar sempre ao meu lado, intercedendo a Deus pela minha vitória.

Ao meu amigo Pedro, por todo incentivo, por se fazer presente em minha vida, dando-me conselhos e orientações, nos momentos em que preciso e mesmo quando não preciso.

Ao orientador Dr. Eder Jorge de oliveira pelo acolhimento na Embrapa, pelo acompanhamento das atividades e pelas correções.

A co-orientadora Dra. Luciana Alves de Oliveira pelos ensinamentos e paciência.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio institucional e por permitir a realização do trabalho em seu laboratório.

À funcionária da Embrapa Mandioca e Fruticultura por contribuir para a realização deste trabalho com dedicação: Tatiane da Silva Amorim.

Aos estagiários do Laboratório de Tecnologia de alimentos que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

A equipe de trabalhadores do campo: Zara e demais funcionários.

A todos os professores do curso de Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais, em especial as professoras Dr<sup>a</sup> Janay Almeida dos Santos Serejo e Dr<sup>a</sup> Maria Angélica Pereira de Carvalho.

À coordenadora do curso de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Dr<sup>a</sup> Ana Cristina Velo Loyola Dantas, por sua dedicação e compreensão.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade de realização do curso.

A Fapesb pela concessão da bolsa.

E a tantos outros que contribuíram direta ou indiretamente para que eu chegasse até aqui.

Obrigada por tudo.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	01
Importância econômica.....	01
Centro de origem.....	02
Aspectos botânicos.....	04
Compostos cianogênicos.....	05
Amido.....	07
Melhoramento genético da mandioca.....	10
Parâmetros genéticos.....	12
Bancos de Germoplasma.....	13
Diversidade genética.....	15
Referências.....	17
<b>Capítulo I</b>	
PARÂMETROS GENÉTICOS E PREDIÇÃO DE VALORES GENOTÍPICOS EM MANDIOCA PARA CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DA RAIZ UTILIZANDO O PROCEDIMENTO REML/BLUP.....	27
<b>Capítulo II</b>	
VARIABILIDADE GENOTÍPICA PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS A QUALIDADE DA RAIZ DE MANDIOCA.....	58
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78

# **ESTUDOS GENÉTICOS DO GERMOPLASMA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz) PARA QUALIDADE DA RAIZ**

Autor(a): Fernanda Alves Santana

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira

Co-orientadora: Dra. Luciana Alves de Oliveira

**RESUMO:** Os objetivos deste trabalho foram estimar parâmetros genéticos, selecionar genótipos, bem como estimar e agrupar a variação genética de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) para caracteres de qualidade de raízes. Foram avaliados 474 acessos em experimentos instalados em dois anos de cultivo. As características avaliadas foram teor de amilose (AML), matéria seca da raiz (MS), compostos cianogênicos (CCiano) e produtividade de amido (PROD-AMD). A análise de deviance apresentou diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ( $P < 0,05$ ) para todas as características avaliadas. A herdabilidade individual no sentido amplo foi baixa para AML ( $h_g^2 = 0,07 \pm 0,02$ ), porém de magnitude mediana para PROD-AMD e MS e elevada para CCiano. Os ganhos com a seleção dos 30 melhores genótipos para cada uma das características foi de 4,8 e 3,2% para aumento e redução de AML, respectivamente; aumento de 10,75% para MS e 74,62% para PROD-AMD, e redução de 89,60% para CCiano, em relação à média geral dos valores genotípicos. Com relação à estimativa de variabilidade genética, o algoritmo AP (*affinity propagation*) possibilitou a formação de nove grupos divergentes, onde se observou uma grande homogeneidade das distâncias genéticas, com exceção de dois grupos. Nenhuma relação entre estrutura genética e teor de compostos cianogênicos foi observada. A presença de diferenças significativas entre os agrupamentos foi confirmada pela análise multivariada de variância dos nove clusters. Os resultados observados neste estudo indicam a necessidade de se utilizar estratégias para aumentar a eficiência seletiva para características de baixa herdabilidade, bem como a disponibilidade de variabilidade genética suficiente para uso em programas de melhoramento por hibridação para melhorar a qualidade das raízes de mandioca.

**Palavras chave:** melhoramento, valor genotípico, modelos mistos, variabilidade.



## **GENETIC STUDIES OF CASSAVA GERMOPLASM (*Manihot esculenta* Crantz) FOR ROOT QUALITY**

Author (a): Fernanda Alves Santana

Advisor: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira

Co-advisor: Dra. Luciana Alves de Oliveira

**ABSTRACT:** The objectives of this study were to estimate the genetic parameters, select genotypes, estimate and cluster the genetic variation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) for root quality traits. 474 accessions were evaluated in experiments carried out along a two-year-cultivation. The traits evaluated were amylose (AML), dry matter content (DMC), cyanogenic compounds (CyC) and starch yield (StYi). The deviance analysis showed a significant difference by Chi-square test ( $P < 0.05$ ) for all traits. The estimate for individual heritability in a broad sense was low for AML ( $h_g^2 = 0.07 \pm 0.02$ ), but had a median magnitude for StYi and DMC and it was high for CyC. The genetic gains from the selection of the best 30 genotypes for each trait was 4.8 and 3.2% for increase and decrease of AML, respectively, an increase from 10.75% for DMC and 74.62% for StYi, and a reduction of 89.60% for CyC, comparing to the average genotypic values. Regarding to the estimation of genetic variability, the AP (affinity propagation) algorithm allowed the formation of nine diversity groups, which revealed great homogeneity of genetic distances were observed within groups, except for two groups in which there was a partial overlap with others. No relationship between genetic structure and cyanogenic compounds was observed. The presence of significant differences between groups was confirmed by multivariate analysis of variance of the nine clusters. The results of this study indicate the need to use strategies to increase selection efficiency for traits with low heritability, as well as the availability of enough genetic variability to be used in breeding programs by hybridization to improve the root quality of cassava.

**Keywords:** breeding, genotypic value, mixed models, variability.

## INTRODUÇÃO GERAL

### Importância econômica

A cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é capaz de alcançar produções satisfatórias sob condições adversas de solo e clima, sendo cultivada principalmente por populações carentes em recursos técnicos e econômicos (SOUZA, 2006).

A mandioca é um produto de alta importância socioeconômica, destacando-se por ser uma planta de muitos usos, desde a alimentação humana e animal, ao uso industrial. É a principal fonte de carboidratos para mais de 700 milhões de pessoas no Mundo, especialmente nos países em desenvolvimento (SOUZA, 2006). A mandioca é considerada uma das culturas mais importantes na alimentação humana dos trópicos, principalmente para as populações de baixa renda. É uma cultura que exige baixos custos de produção, sendo em países subdesenvolvidos considerada a base alimentar, onde a disponibilidade de variedades nutricionalmente mais ricas poderia suprir algumas deficiências, sobretudo na população mais carente (MEZETTE, 2009).

O Brasil continua entre os principais países produtores de mandioca e ocupa a 3ª colocação no ranking mundial com 23,41 milhões de toneladas, apresentando área colhida de 1,70 milhões de hectares de mandioca. Em primeiro lugar em termos de produção encontra-se a Nigéria com uma produção de 54,00 milhões de toneladas, seguido pela Indonésia com uma produção de 23,92 milhões de toneladas de mandioca (FAO, 2013).

A mandioca é cultivada em todas as regiões brasileiras. As regiões Norte e Nordeste são as maiores produtoras e juntas produziram o equivalente a 58,32% da produção nacional. Também merece destaque a região Sul, com 24,26% de participação na produção. Entretanto, as maiores produtividades estão na região Sul (20,93 t.ha<sup>-1</sup>), seguida pelo Sudeste e Centro-oeste, com 18,20 t.ha<sup>-1</sup> e 17,57 t.ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Por outro lado, as regiões Norte e Nordeste apresentam produtividades médias de 15,23 e 8,41 t.ha<sup>-1</sup>, respectivamente (IBGE, 2012). Além das condições edafoclimáticas, os diferentes sistemas de produção utilizados entre as regiões produtoras influenciam expressivamente a produtividade.

A área cultivada com a mandioca é maior em regiões de menor industrialização, como é o caso das regiões Norte e Nordeste, cujo destino da raiz está mais voltado para a produção de farinha. Porém, não existe um mercado internacional significativo para a farinha de mandioca, que é consumida essencialmente no Brasil e em vários países da África, além de contar com um mercado pequeno nos países desenvolvidos, destinado a africanos e brasileiros. Entre os derivados de mandioca produzidos no Brasil, a fécula é o único produto com mercado internacional. Os *chips* e *pelets*, outros derivados de mandioca com grande mercado internacional, não são produzidos em escala comercial no país (VILPOUX, 2008).

Em nível nacional, a mandioca compete com outras culturas, tanto em área de plantio quanto no mercado. No primeiro caso, as culturas que mais ameaçam a mandioca são as *commodities*, como soja, milho e cana-de-açúcar. Em relação à competição por mercado, o milho é o principal concorrente da mandioca, principalmente no mercado de fécula. O Brasil está perdendo a competitividade no mercado internacional de fécula para países da Ásia, principalmente Tailândia, Indonésia e Vietnã. A produtividade da cultura cresceu muito mais rapidamente nesses países que no Brasil. Em nível nacional, se comparada com outras culturas, a mandioca apresenta produtividade estagnada, enquanto o milho passou por grande evolução nos últimos anos. Neste caso, além de perder em produtividade para a Ásia no mercado internacional de amido, as fecularias brasileiras perdem terreno para as empresas de amido de milho no mercado nacional. A solução para o setor feculeiro nacional é o investimento em pesquisas modernas e mais eficientes, para dinamizar a produtividade da mandioca (VILPOUX, 2008).

### **Centro de origem**

A mandioca é a única espécie cultivada do gênero *Manihot*, com extensão de plantio em regiões tropicais e subtropicais. A mandioca é originária do continente americano, possivelmente no Brasil Central, amplamente cultivada pelos indígenas já na época do descobrimento. Os indígenas foram os responsáveis pela sua disseminação pela América, e os portugueses e espanhóis

pela difusão por outros continentes, especialmente África e Ásia (LORENZI, 2003).

Das regiões tropicais se originam as culturas de raízes e tubérculos, existindo três regiões em que elas foram independentemente domesticadas sendo elas: Sudeste da Ásia, África-Madagascar e América Tropical, sendo este último o local onde ocorreu a domesticação da mandioca (LÉON, 1977). As primeiras proposições sobre o centro de origem da mandioca foi feita por De Candolle (1882) apud Renvoize (1972), sugerindo um centro Brasileiro Paraguaio, baseando a sua hipótese no fato de haver abundância de espécies selvagens nessa região, e também devido à antiguidade do cultivo da mandioca e à diversidade de espécies do gênero no nordeste brasileiro. A teoria de Vavilov propunha que a área de origem de uma planta cultivada é indicada pela máxima diversidade varietal das espécies (RENVOIZE, 1972; NASSAR, 1978). Assim foi por muito tempo sustentada a sugestão de De Candolle (1882). HARLAN (1951) mostrou que o centro de diversidade de uma dada cultura pode ocorrer distante do seu centro de origem. Posteriormente esse mesmo autor enfatizou também que uma cultura não se origina necessariamente em uma área delimitada e dela se dispersa (“centro”), podendo se originar sobre uma vasta área, sem um local preciso (“não centro”), e tanto os “centros” quanto os “não centro” podem ter pequenos locais de grande diversidade de determinada espécie. Esses pontos de diversidade foram definidos como microcentros.

ROGERS e APPAN (1973) reconheceram para *Manihot* 98 espécies distribuídas da região central do México até o norte da Argentina, concentrando-se nas regiões centro-oeste mexicana e centro-leste brasileira (ROGERS E APPAN, 1973; OLSEN e SCHAAL, 1999; ALLEM, 2002). O Brasil é responsável por abrigar a grande maioria das espécies, cerca de 68, o que corresponde a 80% da diversidade conhecida (ALLEM, 2002); em seguida vem o México, com 17 espécies. A maior parte das espécies ocorre no norte da América do Sul, enquanto que um centro secundário de diversidade do gênero ocorre na América Central e no México (OLSEN e SCHAAL, 1999; OLSEN, 2004).

Todas as espécies de *Manihot* são nativas das regiões tropicais do Novo Mundo, especialmente Brasil e México. Nassar (2000) definiu quatro centros de diversidade para essas espécies: México e Nordeste, Centro e Sudeste do Brasil.

Microcentros de diversidade dessas espécies existem no Brasil Central. A formação desses microcentros é devido à frequente hibridização entre espécies e à heterogeneidade da topografia de seus habitats, que ajudam a isolar populações que iniciam a especiação.

### **Aspectos botânicos**

De acordo com a classificação botânica, a mandioca pertence à classe *Equisetopsida*, subclasse *Magnoliidae*, ordem *Malpighiales*, família *Euphorbiaceae*, gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta* Crantz (TROPICOS, 2012).

CARVALHO e GUERRA (2002), avaliando 39 variedades de mandioca e oito parentais silvestres, revelaram que todos os genótipos apresentaram  $n=18$  ou  $2n=36$ . Assim, a ampla variabilidade da espécie indica a ocorrência de hibridação intra-específica, em virtude da alogamia.

A mandioca possui um sistema radicular superficial, pivotante com pequenos números de raízes, sendo considerado pseudofasciculado com raízes laterais e basais em relação à copa. Parte do sistema radicular acumula amido, formando raízes tuberosas, sendo que o acúmulo de amido é a característica principal das raízes de mandioca. O caule apresenta altura de um a três metros dependendo da cultivar, fertilidade do solo e da época de plantio. No início do desenvolvimento, o caule é esverdeado e posteriormente assume a coloração cinza ou marrom. A formação das folhas da planta de mandioca inicia-se nos meristemas axilares, localizados nos nós do caule. As folhas são simples, alternadas, lobadas e com pecíolo longo de 9 a 20 cm de comprimento, inseridas no caule de forma espiralada. O formato das folhas é variado, assim como a coloração, que varia de verde claro, verde escuro até roxo, com três a nove lóbulos por folha. A mandioca é uma planta monoica, pois possui suas flores femininas e masculinas na mesma planta, é considerada arbustiva com ramificação simpoidal. As flores são dispostas em inflorescências, localizadas nas axilas das ramificações. As flores masculinas localizam-se em posição superior às femininas. A polinização é cruzada e realizada principalmente por insetos (TAKAHASHI et al., 2002). “Em *Manihot* verifica-se o fruto equizocarpáceo, com a

formação de cocas e a presença do carpóforo (coluna central), que persiste na planta após a deiscência do fruto” ( CARVALHO e FUKUDA, 2006).

### **Compostos cianogênicos**

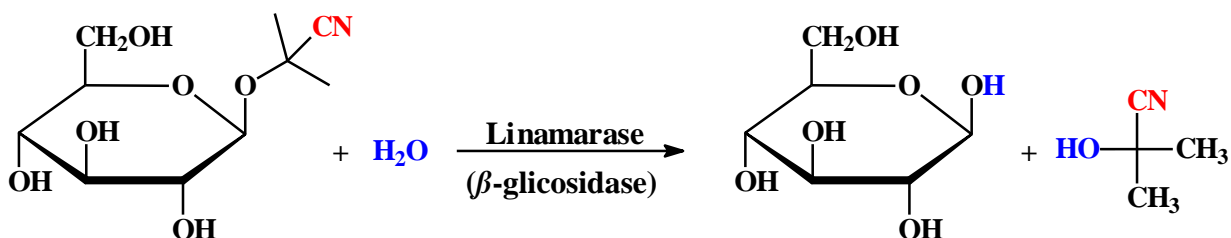
Um fator que limita o uso da mandioca na alimentação humana e animal é o seu grau de toxicidade, tornando-se assim objeto de muitas discussões (PENTEADO e FLORES, 2001). A mandioca é uma das poucas plantas em que o conteúdo de cianeto pode causar problemas de toxicidade, podendo ser considerada uma planta cianogênica e, dependendo da variedade, pode ocasionar problemas de intoxicação e morte de animais (incluindo o homem).

A mandioca pertence ao grupo de plantas cianogênicas por apresentar compostos cianogênicos e enzimas distribuídas em concentrações variáveis nas diferentes partes da planta. As cultivares de mandioca são popularmente classificadas em doces e amargas de acordo com o teor de compostos cianogênicos (CCiano) contido em suas raízes. As doces são também conhecidas como aipim, macaxeira ou mandioca mansa e são comumente utilizadas para consumo fresco humano. As amargas, destinadas principalmente para a indústria, são conhecidas como mandioca brava (FUKUDA et al., 2006).

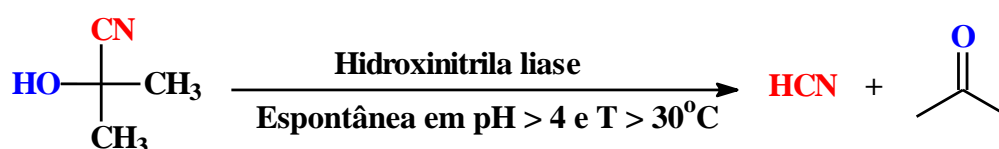
Os glicosídeos acumulados na mandioca são a linamarina, que representa 95% do conteúdo total de compostos cianogênicos, e a lotaustralina, representando 5% (MONTAGNAC et. al., 2009). Quando a estrutura celular de qualquer parte da planta se rompe, a enzima linamarase, que encontra-se na parede celular, catalisa a hidrólise dos glicosídeos cianogênicos, formando glicose e a cianidrina. As cianidrininas, então, se decompõem espontaneamente ou por meio da ação da enzima  $\alpha$ -hidroxinitrila liase, a cianeto (CEREDA, 2004; MONTAGNAC et. al., 2009). Este processo é ilustrado na Figura 1.

Do ponto de vista toxicológico, as variedades de mandioca podem ser classificadas em três categorias com base em seu conteúdo cianogênico: a) inócuas: quando possuem menos que 50 mg HCN/Kg de raízes frescas; b) moderadamente tóxicas: quando possuem entre 50 mg HCN/Kg e 100 mg HCN/Kg de polpa fresca; c) perigosamente tóxicas (mandioca brava): quando possuem acima de 100 mg HCN/Kg de raízes frescas (BOURDOUX et al., 1982). Popularmente a mandioca pode também ser classificada em duas categorias,

com base em seu conteúdo cianogênico: mansa (menos do que 100 mg HCN/Kg de raízes frescas) e bravas ou venenosas (acima de 100 mg HCN/Kg de raízes frescas) (BORGES et al., 2002).



Linamarina Glicose Cianidrina



Cianidrina Propanona

**Figura 1.** Ação das enzimas responsáveis pela liberação do cianeto (MONTAGNAC et al., 2009).

O HCN atua, principalmente, no sistema respiratório, e a maioria dos sintomas de intoxicação está associada com a afinidade do HCN com os íons metálicos, como o ferro e cobre. O radical  $-CN$  do ácido reage com o íon ferro da hemoglobina, fato que impossibilita o transporte de oxigênio no sangue. A enzima rodanase constitui uma via metabólica muito importante, pois catalisa a reação do cianeto com o aminoácido metionina, produzindo tiocianato, o qual é excretado pela urina, ocorrendo dessa forma à eliminação do cianeto absorvido pelo organismo. Este é o principal mecanismo de desintoxicação de ácido cianídrico (RODRIGUES e CAMPOS, 2001). Segundo FIORETTO (1986), a presença dos glicocianetos na mandioca pode ser um mecanismo de defesa da planta contra ataque de insetos, ou mesmo para proteção da planta contra algum tipo de dano mecânico que a mesma venha a sofrer. Quando a planta sofre algum tipo de lesão pode desencadear, através de enzimas, a liberação de ácido cianídrico (HCN), como tentativa de proteger a planta da ação de microrganismos

patogênicos; o HCN atua na cadeia de transporte de elétrons impedindo a passagem de oxigênio na célula, ou seja, a respiração celular.

Microrganismos podem desenvolver-se em substrato contendo cianeto, por possuírem metabolismo anaeróbio, metabolismo alternativo à cadeia respiratória, ou serem capazes de eliminar o cianeto pela cisão do radical em carbono e nitrogênio, o que explicaria em parte o efeito de adubo dos despejos de água residual de processamento de mandioca (CEREDA, 2001).

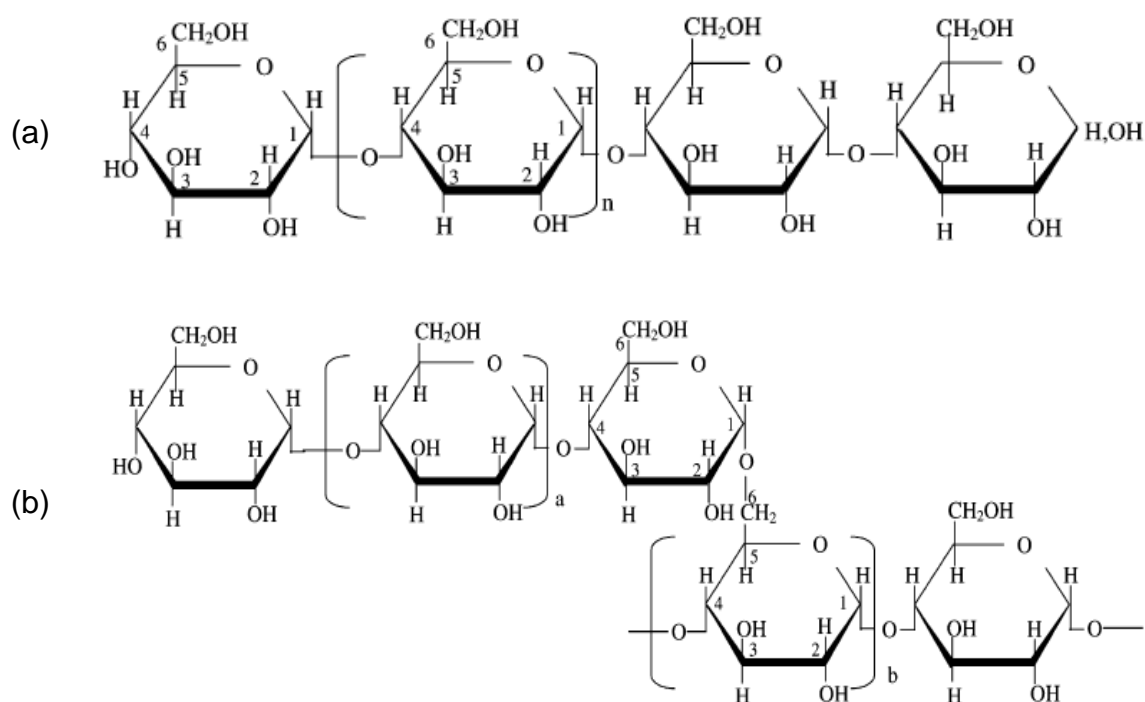
## **Amido**

O produto de maior valor agregado da mandioca é o amido, um carboidrato encontrado em abundância na natureza, que se apresenta na forma de grânulos, com formato e tamanho dependentes da sua fonte botânica. Devido às suas propriedades físico-químicas e funcionais exclusivas, este carboidrato tem grande importância nos mais diversos setores industriais. É utilizado como ingrediente de vários produtos alimentícios, podendo, entre outras funções, facilitar o processamento, fornecer textura, servir como espessante, fornecer sólidos em suspensão ou proteger os alimentos durante o processamento (FRANCO et al., 2001). O amido pode sofrer modificações para atender às diversas aplicações por meio de métodos de baixo custo, tornando-o ideal para diversos usos, tal como na indústria de alimentos para aplicação em congelados, molho de tomate, molho de salada, entre outros (SATIN, 2006).

O amido é um polissacarídeo constituído apenas de resíduos de  $\alpha$ -D-glicose. Seus grânulos são misturas heterogêneas de duas macromoléculas, amilose e amilopectina (Figura 2), que diferem no tamanho molecular e grau de ramificação (MIZUKAMI et al., 1999). A amilose é um polissacarídeo formado por unidades de glicoses ligadas entre si por ligações do tipo  $\alpha$ -1,4, já a amilopectina, além das ligações glicosídicas do tipo  $\alpha$ -1,4, possui ramificações por meio de ligações  $\alpha$ -1,6. A funcionalidade do amido, assim como a organização física da estrutura granular é atribuída a estes dois polímeros. Em geral, os amidos apresentam de 15 a 30% de amilose, no entanto existem algumas espécies que podem produzir essencialmente 100% de amilopectina (ceroso) e outras mais de 75% de amilose (alta amilose) (GIDLEY e BOCIEK, 1985).



Como um ingrediente alimentar funcional emergente, o amido resistente tem demonstrado ter efeito equivalente e/ou superior para a saúde humana, semelhantes à fibra convencional. Ao contrário de alguns carboidratos e amidos digeríveis, o AR resiste à hidrólise enzimática no trato gastrointestinal superior, o que resulta na absorção de pouca glicose ou nenhuma. O consumo de amido resistente é uma fonte de fibra reconhecida recentemente pelos seus diversos efeitos benéficos a saúde. Como fonte de fibra funcional tem sido relacionado com a redução da glicemia pós-prandial e respostas insulinêmicas, uma vez que possuem funções fisiológicas semelhantes aos da fibra dietética, sendo benéfico no tratamento de pacientes com *Diabetes Mellitus* tipo 2. (MONTEIRO et al., 2013)



**Figura 2.** Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b). (Morrison, 1996).

A compreensão da estrutura dos grânulos de amido é importante para entender suas propriedades físico-químicas, as quais determinam o comportamento do amido, nos mais diversos processos industriais a que normalmente são submetidos (BEMILLER, 1997).

A depender da espécie, pode ocorrer variação no tamanho e forma dos grânulos de amido, o estágio de desenvolvimento da planta e a forma de tuberização pode causar variação na distribuição de tamanho dos grânulos, podendo ainda ocorrer diferenças nos grânulos entre variedades (AMANTE, 1986).

As propriedades do amido são resultados de características tais como tamanho do grânulo, teores de amilose e amilopectina, e dependem também de outros constituintes que estão presentes no amido como resíduos da extração (CEREDA et al., 2001).

O teor de amilose e amilopectina varia de uma fonte para outra e com o grau de maturação das plantas sendo que, as diferentes proporções destes polímeros influenciam na viscosidade e gelatinização do amido (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

A amilopectina absorve muita água durante a cocção do amido, sendo a grande responsável pelo inchamento do grânulo. Portanto, amidos ricos em amilopectina são mais solúveis em água a 95°C do que os que contêm muita amilose. No entanto, a amilose contribui com a viscosidade na fase da dispersão amido-água, durante o aquecimento do grânulo de amido em meio aquoso (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997). Das duas frações, a amilopectina é estrutural e funcionalmente a mais importante, pois tem a capacidade de formar o grânulo sozinha, como ocorre em mutantes que são desprovidos de amilose. O principal papel da amilopectina é na cristalinidade dos grânulos. Altas temperaturas de gelatinização estão associadas ao alto grau de cristalinidade, que fornece estabilidade estrutural aos grânulos e maior resistência à gelatinização. Portanto, a presença da amilose reduz o ponto de fusão das regiões cristalinas e a energia para iniciar a gelatinização, uma vez que é requerida maior temperatura para dissociar completamente as longas cadeias de amilopectina. Amidos com altos conteúdos de amilose perdem a cristalinidade em temperaturas menores de gelatinização (SINGH et al., 2003).

O amido de mandioca, quando aquecido em água apresenta alta viscosidade e baixa tendência à retrogradação, sua pasta é transparente e apresenta boa claridade. Dentre os amidos de raízes e tubérculos, é um dos que apresentam menor temperatura inicial de gelatinização, que em média, gira em torno de 60°C (HOOVER, 2001).

Apesar da pouca estabilidade térmica que o gel de amido de mandioca apresenta, sua baixa temperatura de pasta, baixa tendência à retrogradação, alta claridade da pasta, além do sabor neutro, o qualificam como um bom ingrediente a ser utilizado em diversos produtos alimentícios (Oliveira, 2011 p. 46).

Em relação aos demais amidos, o amido de mandioca destaca-se em virtude de sua alta capacidade de retenção de água, baixa temperatura de gelatinização e por não apresentar odor característico de cereal. O amido é muito utilizado na indústria de alimentos, no entanto apresenta certas limitações que dificultam sua utilização na forma nativa, em determinados produtos. Caracteriza-se pela insolubilidade em água fria, baixa estabilidade a ciclos de congelamento e descongelamento e tendência à retrogradação. A fim de ampliar seu uso na indústria, o amido nativo pode ser modificado, para anular alguma dessas características indesejáveis (SINGH; KAUR, MCCARTHY, 2007).

### **Melhoramento genético da mandioca**

O melhoramento genético de plantas tem contribuído sobremaneira para o aumento da produção em diversas espécies de grande importância econômica e/ou social, beneficiando bilhões de pessoas, especialmente aquelas de menor poder aquisitivo, que vivem em países em desenvolvimento distribuídos em todo o mundo.

Os objetivos de um programa de melhoramento de mandioca são estabelecidos em função das demandas de produção, processamento e mercado e em virtude da diversidade cultural no consumo da mandioca, sendo esses mecanismos específicos para cada país ou região. Contudo, alguns objetivos são comuns a todas as regiões, como aumento da produtividade de raízes e resistência a pragas e doenças (FUKUDA e SILVA, 2002).

Um ponto importante do melhoramento genético da mandioca é a relação com o ecossistema e a finalidade de exploração de cultivo. A mandioca, apesar de possuir uma grande adaptação às diferentes condições edafoclimáticas, apresenta alta interação dos genótipos com o ambiente. Isso indica que os genótipos iguais dificilmente se comportam de maneira semelhante em ambientes diferentes. A alta incidência de pragas e doenças que afetam a espécie é uma

consequência desse fato, cuja gravidade é limitada a condições edafoclimáticas específicas e restritas a determinados ecossistemas. Estresses ambientais também podem afetar a mandioca, limitando ou até inviabilizando o desenvolvimento de uma única variedade em diferentes ecossistemas (BORÉM, 2005).

Para que qualquer programa de melhoramento genético logre êxito é necessária a existência de variabilidade genética para as características que se deseja melhorar. Estudos para quantificar a variabilidade genética existente entre acessos de mandioca com diferentes cores de polpa de raiz e, principalmente, entre acessos com a mesma cor de polpa de raiz são estratégicos para subsidiar programas de conservação e uso de germoplasma e de melhoramento genético.

Os métodos de melhoramento genético de um cultivo são definidos, basicamente, em função de seu modo de reprodução e propagação, da variabilidade genética disponível, e dos objetivos do programa de melhoramento. Na cultura da mandioca, alguns fatores influenciam a escolha dos métodos de melhoramento. A hibridação é um dos métodos mais utilizados na cultura da mandioca, onde normalmente são empregados dois métodos de polinização: aberta e controlada. A polinização controlada é a mais eficiente, pois permite o controle da identidade de ambos os parentais, feminino e masculino, descartando-se os riscos de cruzamentos indesejáveis e de autofecundações. No entanto, o número de sementes produzidas por cruzamento é menor, e os custos de obtenção das mesmas, mais elevados. A polinização controlada em mandioca pode ser realizada manualmente, ou por meio de cruzamentos dialélicos (FUKUDA e IGLESIAS, 2006).

De acordo com Falconer (1987), a variabilidade genética de uma população segregante, necessária nos processos seletivos, é resultante da divergência genética entre os parentais envolvidos nos cruzamentos. Ainda, segundo esse autor, a expressão da heterose no híbrido intervarietal é dependente dos efeitos da dominância gênica, na manifestação do caráter. A hibridação representa uma técnica importante para o melhoramento de plantas, uma vez que possibilita a recombinação da variabilidade disponível, permitindo a obtenção de novos materiais, geneticamente superiores. A escolha dos parentais a serem utilizados em programas de hibridação e que possibilitem a formação de

progênes superiores representa uma atividade indispensável, que exige critérios e grande esforço do melhorista (RAMALHO et al., 1993).

### **Parâmetros genéticos**

A variabilidade genética provocada pelos efeitos gênicos presentes nos indivíduos e nas condições de ambiente onde ocorrem, exerce influência na estrutura genética de uma população. Os caracteres fenotípicos resultantes de uma população natural (*per se*) ou oriunda de cruzamentos são objetos de estudos dentro de um programa de melhoramento genético, para seleção de materiais superiores. Portanto, é necessário dimensionar as magnitudes das variâncias de origem genética versus aquelas devido ao ambiente, para se estimar adequadamente o potencial da população em resposta à seleção (FALCONER, 1987; HALLAUER e MIRANDA FILHO, 1982). O sucesso da seleção tendo como base o fenótipo de indivíduos de uma dada geração é função do grau de associação da variância genética destes com a variância genética da geração subsequente, expressa pela herdabilidade (FALCONER, 1987). Portanto, o ganho genético depende, da herdabilidade do caráter sob seleção e da intensidade de seleção praticada, bem como do controle do ambiente. Quanto maior o nível de expressão da variabilidade genética em relação ao ambiente e, mais ainda, se a proporção desta variabilidade genética for devido na sua maior parte aos efeitos aditivos, maiores serão os ganhos estimados para a geração seguinte (HALLAUER e MIRANDA FILHO, 1982).

A determinação de parâmetros genéticos em populações é necessária para obter informações sobre a natureza da ação dos genes envolvidos na herança dos caracteres sob investigação e estabelecer a base para a escolha dos métodos aplicáveis à população (COCKERHAM, 1956).

A avaliação genotípica compreende a estimação de componentes de variância (parâmetros genéticos) e a predição de valores genotípicos. As estimativas de parâmetros genéticos, como herdabilidade e correlações genéticas são fundamentais para o delineamento de estratégias eficientes de melhoramento.

O procedimento ótimo de estimação e avaliação genotípica tem sido o REML/BLUP (*Restricted Maximum Likelihood / Best Linear Unbiased Prediction*),

também denominado genericamente de metodologia de modelos mistos. Este procedimento lida naturalmente com o desbalanceamento, conduzindo a estimativas e previsões mais precisas de parâmetros genéticos e valores genéticos, respectivamente, sendo considerado um dos principais procedimentos para a estimação dos parâmetros genéticos (RESENDE, 2007).

É indispensável o conhecimento sobre a natureza e intensidade das variações de origem genética e ambiental, para que as ações de melhoramento sejam realizadas de forma eficiente. A melhoria de determinadas características agrônomicas depende do conhecimento básico sobre a herança dos caracteres, da variabilidade genética disponível para o melhoramento e das estimativas dos parâmetros genéticos.

Um dos parâmetros de maior utilidade para os melhoristas é o coeficiente da herdabilidade ( $h^2$ ), que permite prever a possibilidade de sucesso com a seleção, por refletir a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada (RAMALHO et al., 1996). Descritores com alta herdabilidade refletem a menor influência do ambiente, o que aumenta o poder discriminatório dos mesmos. Já os descritores com baixa herdabilidade possuem forte componente ambiental, o que os faz variar aleatoriamente, diminuindo sua eficiência discriminatória. Baixos valores da herdabilidade podem refletir também a pequena variabilidade genética da característica no material estudado (SEVERINO et al., 2002).

### **Bancos de Germoplasma**

Todos os alelos de uma espécie ou de espécies afins com potencial para serem usados em programas de melhoramento que representam o conjunto de genótipos são chamados de germoplasma.

A principal razão para o estabelecimento e a manutenção de um banco de germoplasma é armazenar e disponibilizar germoplasma e prover informações a respeito de determinado acesso, com a identificação de características de importância para os programas de melhoramento genético (NASS e PATERNIANI, 2000; RAMOS et al., 2007; CARVALHO e QUESENBERRY, 2009). No entanto, segundo VALOIS (1998), menos de 8% dos recursos constantes em bancos de germoplasma são efetivamente utilizados pelos melhoristas. Dentre os principais fatores de baixa utilização de genitores nos programas de

melhoramento está o desconhecimento dos recursos genéticos disponíveis nos bancos de germoplasma por parte dos melhoristas (CARELLI et al., 2006). A disponibilização dos recursos genéticos para os melhoristas passa, necessariamente, pela caracterização e avaliação agronômica, fitopatológica e entomológica dos acessos registrados nos bancos de germoplasma (VALOIS, 1998).

A caracterização e a avaliação visam descrever os diversos acessos de uma coleção de germoplasma, por meio de características de interesse. No caso da mandioca tais características são: produtividade, qualidade de raízes e amido e resistência a pragas e doenças, entre outras. Assim, a partir desses dados, e com o uso de metodologias genético-estatísticas, é possível analisar a diversidade genética dos diferentes acessos, e avaliar seu potencial de uso em programas de melhoramento. Além disso, a caracterização dos recursos genéticos permite identificar acessos registrados em duplicata, em razão de sinonímias e diferentes doadores do mesmo germoplasma. A presença de tais duplicatas onera as atividades, por consumir recursos físicos, humanos e financeiros para a conservação do mesmo acesso. Assim, a caracterização permite não só a utilização dos recursos genéticos armazenados em bancos de germoplasma, mas também a redução dos custos de manutenção dos bancos, pela redução do número de acessos a serem conservados (VALOIS, 1998).

Outras informações podem ser obtidas a partir da caracterização dos recursos genéticos em bancos de germoplasma, tais como estudos de diversidade genética e, com base neles, a definição de possíveis cruzamentos entre acessos; determinar a importância dos caracteres na avaliação da diversidade existente e realizar eventuais descartes de descritores; determinar a relação entre caracteres; e desenvolver coleção nuclear (*core collection*) (UPADHYAYA et al., 2006; KOTTAPALLI et al., 2007).

A nível internacional, a primeira grande coleção de mandioca foi estabelecida na América Latina, no Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, no início da década de 70, e nacional na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia, Brasil, nesta mesma época (FUKUDA e IGLESIAS, 2006).

Segundo Costa e Morales (1994) são mantidos no mundo aproximadamente 8500 acessos de mandioca, dos quais 7500 apenas na América do Sul. Já foram catalogados aproximadamente 4132 acessos no Brasil (COSTA e MORALES, 1994; CORDEIRO et al., 1995), distribuídos em coleções e bancos ativos de germoplasmas (FUKUDA e ALVES, 1987). O maior banco ativo de germoplasma de mandioca da América Latina é mantido no CIAT, na Colômbia, com cerca de 5.035 acessos (IWANAGA e IGLESIAS, 1994). O segundo maior banco ativo de germoplasma de mandioca da América Latina, encontra-se no Brasil, precisamente na Embrapa Mandioca e Fruticultura, com cerca de 1500 acessos oriundos das diversas regiões do país e alguns acessos do exterior.

Apesar da reconhecida variabilidade genética existente nesses bancos, o germoplasma de mandioca tem sido pouco estudado, sob o ponto de vista genético. A escassez de informações, principalmente aquelas relacionadas à documentação e caracterização genética, tem culminando com a carência de estudos sobre o conhecimento da diversidade genética das espécies, com potencial econômico. Isto faz com que a conservação e a caracterização de germoplasma se tornem de suma importância para assegurar informações sobre essas fontes de genes para a utilização futura, o que, além de prevenir a perda desses recursos, é fundamental para garantir a competitividade e sustentabilidade da cultura.

### **Divergência genética**

No melhoramento genético, estudos de diversidade genética têm fundamental importância para a escolha de genótipos a serem utilizados como genitores, uma vez que a distância genética entre os parentais pode ser um indicativo da expressão heterótica nas progênes (CRUZ et al., 1994), o que aumenta a possibilidade de obtenção de indivíduos superiores nas populações segregantes.

Os estudos de divergência genética fornecem parâmetros para a identificação de genitores favoráveis à obtenção de populações segregantes, em programas de hibridação, que favorecem a seleção de genótipos superiores e, como consequência, a obtenção de populações geneticamente melhoradas. A



divergência genética, avaliada por meio de processos preditivos ou técnicas multivariadas, tem merecido destaque, uma vez que dispensam a obtenção de híbridos, como nas análises dialélicas, que requerem um grande número de cruzamentos (MIRANDA et al., 2003; CRUZ et al., 2004).

A avaliação da diversidade genética, como critério para a escolha de genitores em programas de melhoramento, foi relatada por diversos autores (MALUF et al., 1983; MIRANDA et al., 1988; DIAS e KAGEYAMA, 1997; VIDIGAL et al., 1997; RIBEIRO et al., 1999; FERRÃO et al., 2002).

Dentre as ferramentas utilizadas na estimativa da divergência genética em um conjunto de genótipos, destacam-se a utilização de marcadores moleculares e a de caracteres fenotípicos qualitativos ou quantitativos (VIEIRA et al., 2007). Caracteres fenotípicos qualitativos e quantitativos, em associação com as técnicas de análise multivariada, também vêm sendo empregados na quantificação da divergência genética em mandioca (MKUMBIRA et al., 2003; NICK et al., 2008). Entre os caracteres fenotípicos que podem ser utilizados, os mais influenciados pelo ambiente são os quantitativos. Entretanto, esses caracteres são muito importantes na avaliação de acessos, uma vez que refletem o real potencial produtivo dos acessos e a possibilidade de sua utilização de forma direta ou no melhoramento genético.

Diversas características dos genótipos de mandioca podem fornecer informações para se estimar a diversidade existente entre os genótipos encontrados nos bancos de germoplasma. Destacam-se caracteres moleculares, morfológicos e químicos (teor de compostos cianogênicos, carotenoides e amido, etc), além dos agrônômicos que irão subsidiar as estratégias dos programas de melhoramento genético.

BENESI et al. (2008), avaliaram genótipos de mandioca malaios, a fim de determinar o efeito do local sobre os genótipos e a estação do ano, em relação a produção e acúmulo de amido pelas raízes, buscando, assim, determinar o melhor momento para a colheita. Os resultados obtidos demonstraram que o maior efeito sobre a produção e o teor de amido das raízes ocorreu em função dos genótipos avaliados, demonstrando que existe grande variabilidade entre genótipos de mandioca.

A diversidade genética pode ser estimada avaliando-se a dissimilaridade ou similaridade por meio de técnicas biométricas, seja pela quantificação da heterose em estudos envolvendo análises dialélicas, seja pelo uso de métodos preditivos, que se baseiam em informações fenotípicas e genotípicas, acessadas pela observação de diferenças morfológicas, fisiológicas ou moleculares. Após sua quantificação, a diversidade genética pode ser melhor evidenciada por meio da aplicação de técnicas de estatística multivariada (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

A diversidade genética é sobremaneira importante, pois o sucesso de qualquer programa de melhoramento fundamenta-se na presença de variabilidade para a característica que se deseja melhorar.

### **Referências**

ALLEM, A C. The origin and taxonomy of cassava. In: HILLOCKS, R. J.; THRESH, J. M.; BELLOTTI, A. **Cassava**: biology, production and utilization. New York: Wallingford, UK, 2002. p. 1-16.

AMANTE, E. R. **Caracterização de Amidos de Variedades de Mandioca (*Maninot esculenta* Crantz) e de Batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. 1986. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986.

BEMILLER, J.N. Starch modification: challenges and prospects. **Starch/Stärke**, v. 49, n.4, p.127-131, 1997.

BENESI, I.R.M.; LABUSCHAGNE, M.T.; HERSELMAN, L.; MAHUNGU, N.M.; SAKA, J.K. The effect of genotype, location and season on cassava starch extraction. **Euphytica**, v.160, n.1, p.59–74, 2008.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à Química dos Alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 223 p., 1995.

BOREM, A. **Melhoramento de Plantas**. Editora UFV. Viçosa. 525 p., 2005.

BORGES, M. F.; FUKUDA, W. M. G.; ROSSETI, A. G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 11, p. 1559-1565, 2002.

BOURDOUX, P., SEGHERS, P., MAFUTA, M., VANDERPAS, J., VANDERPAS-RIVERA, M., DELANGE, F., ERMANS, A.M. Cassava products: HCN content and detoxification processes. In: DELANGE, F.; ITEKE, F.B.; ERMANS, A.M. (Eds.) **Nutritional factors involved in the goitrogenic action of cassava**. Ottawa: IDRC, 100p. (IDRC. Monographs, 184), 1982.

CAGNON, J.R.; CEREDA, M.P.; PANTAROTTO, S. **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargil, 2002.

CARELLI, B.P.; GERALD, L.T.S.; GRAZZIOTIN, F.G.; ECHEVERRIGARAY, S. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. Revealed by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.53, p.395-400, 2006.

CARVALHO, M.A.; QUESENBERRY, K.H. Morphological characterization of the USA *Arachis pintoi* Krap. and Greg. collection. **Plant Systematics and Evolution**, v.277, p.1-11, 2009.

CARVALHO, P.C.L. de; FUKUDA, W.M.G. Estrutura da planta e morfologia. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p.126-137, 2006.

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

CEREDA, M. P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. In: CEREDA, M.P (Ed.): **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da**

**Industrialização da Mandioca.** Vol IV. São Paulo: Fundação CARGILL, p.13-37, 2001.

CEREDA, M.P. Processamento da mandioca como mecanismo de detoxificação. In: CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F. (Coord.) **Tecnologia, uso e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas.** São Paulo: Fundação Cargil, 2004. (Culturas de Tuberosas Amiláceas Latinoamericanas, 3).

CEREDA, M.P.; FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. **Propriedades gerais do amido.** Campinas: Fundação Cargill, 2001, v.1., 221p.

COCKERHAM, C.C. Effects of linkage on the covariances between relatives. **Genetics**, v.41, p.138-141, 1956.

CORDEIRO, C.M.T.; MORALES, E.A.V.; FERREIRA, P.; ROCHA, D.M.S.; COSTA, I.R.S.; VALOIS, A.C.C.; SILVA, S. de O. e. Toward a brazilian core collection of cassava. In: HODGKIN, T.; BROWN, A.H.D.; HINTUM, T.J.L.; MORALES, E.A.V. **Core collection of plants genetic resources.** Chichester: John Wiley, p. 155-168, 1995.

COSTA, I.R.S.; MORALES, E.A.V. Cassava genetic resources in South America. In: INTERNATIONAL NETWORK FOR CASSAVA GENETIC RESOURCES, 1., 1994, Cali. **Report...** Cali: CIAT, 1994. P. 16-20.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 585p. 2003.

CRUZ, C.D.; CARVALHO, S.P. de; VENCOVSKY, R. Estudos sobre divergência genética: fatores que afetam a predição do comportamento de híbridos. **Revista Ceres**, v.41, p.179-182, 1994.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, p.223-375, 2004.

DIAS, L.A.S.; KAGEYAMA, P.Y. Multivariate genetic divergence and hybrid performance of cacao (*Theobroma cacao* L.). **Revista Brasileira de Genética**, v.20, p.63-70, 1997.

FALCONER, D.S. **Introdução à Genética quantitativa**. Viçosa: UFV, Imprensa. Universitária, 1987.

FAOSTAT. database. Disponível em <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em 6 de agosto de 2013.

FERRÃO, M.A.G.; VIEIRA, C.; CRUZ, C.D.; CARDOSO, A.A. Divergência genética em feijoeiro em condições de inverno tropical. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1089-1098, 2002.

FIORETTO, R. A. **Aplicação da água de prensagem da mandioca como herbicida e fertirrigação**. Curitiba, PR, 1986.

FRANCO, C. M. L. DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. Propriedades do Amido. In: Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, **Propriedades Gerais do Amido**. CEREDA, M.P. (coord.). São Paulo: Fundação Cargill. 2001, 224p.

FUKUDA, W.M.G.; ALVES, A.A.C. Banco ativo de germoplasma de mandioca do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura (1976-1988). **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v.2, p. 65-67, 1987.

FUKUDA, W.M.G.; IGLESIAS, C. Melhoramento genético. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. **Aspectos**

**socioeconômicos e agronômicos da mandioca.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 325-355, 2006.

FUKUDA, W.M.G.; IGLESIAS, C. Recursos genéticos. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. **Aspectos socioeconômicos e agronômicos da mandioca.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 301-318, 2006.

FUKUDA, W.M.G.; SILVA, S.O.E. Melhoramento de mandioca no Brasil. In: CEREDA, M.P. (Org.). **Agricultura: Tuberosas amiláceas latino americanas.** 1 ed. São Paulo: Fundação Cargil, v.2, p. 242-257, 2002.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, M. Microscopy of starch:evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, n.3-4, p.177-191, 1997.

GIDLEY, M.J.; BOCIEK, S.M. Molecular organization in starches: A C13 CP/MAS NMR study. **Journal of the American Chemical Society**, v.107, n.24, p.7040-7044, 1985.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding.** 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1982. 468 p.

HARLAN, J.R. Anatomy of the genes centers. **American Naturalist** n.85, p.97-103, 1951.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v.45, n.3, p.253-267, 2001.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal 2012. Disponível em: [WWW.ibge.gov.br](http://WWW.ibge.gov.br) . Acesso em 25 de Outubro de 2013.

IWANAGA, M.; IGLESIAS, C. Cassava genetic resources management at CIAT. In: INTERNATIONAL NETWORK FOR CASSAVA GENETIC RESOURCES, 1., 1994, Rome. **Proceedings...** Rome: IPGRI, 1994. p. 77-86.

KOTTAPALLI, K.R.; BUROW, M.D.; BUROW, G.; BURKE, J.; PUPPALA, N. Molecular characterization of the U.S. peanut mini core collection using microsatellite markers. **Crop Science**, v.47, p.1718-1727, 2007.

LEON, J. Origin, evolution and early dispersal of root and tuber crops. In Symposium of the international society tropical. **Root Crops**, p.20-36. 1977.

LORENZI, J.O. **Mandioca**. Boletim Técnico CATI – Campinas, n. 245, 116 p., 2003.

MALUF, W.R.; FERREIRA, P.E.; MIRANDA, J.E.C. Genetic divergence in tomatoes and its relationship with heterosis for yield in F1 hybrids. **Revista Brasileira de Genética**, v.6, p.453-460, 1983.

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

MIRANDA, G.V.; COIMBRA, R.R.; GODOY, C.L.; SOUZA, L.V.; GUIMARÃES, L.J.M.; MELO, A.V. de. Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho-pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.681-688, 2003.

MIRANDA, J.E.C. de; COSTA, C.P. da; CRUZ, C.D. Predição do comportamento de híbridos de pimentão (*Capsicum annum* L.) pela divergência genética dos progenitores. **Revista Brasileira de Genética**, v.11, p.929-937, 1988.

MIZUKAMI, H.; TAKEDA, Y.; HIZUKIRI, S. The structure of the hot-water soluble components in the starch granules of new Japanese rice cultivars. **Carbohydrate Polymers**, v.38, n.4, p.329-335, 1999.

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 farmer’s perception to characterization by molecular markers. **Euphytica**, v.132, p.7-22, 2003.

MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Processing techniques to reduce toxicity and antinutrientes of cassava for use as a staple food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Oxford, v. 8, n. 1, p. 17-27, 2009.

MONTEIRO, F.V.; Nascimento, K.O. do. Associação do consumo do amido resistente na prevenção e tratamento do diabetes mellitus tipo 2. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 12-19, 2013.

MORRISON, R.T.; BOYD, R. N. **Química Orgânica**. 13. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. p.1335-1339.

NASS, L.L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. **Scientia Agricola**, v.57, p.581-587, 2000.

NASSAR N.M.A. Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, genetic resources; Their collection, evaluation and manipulation. **Advances in Agronomy**, v.69, p.179-230, 2000.

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



NICK, C.; CARVALHO, M.; ASSIS, L.H.B.; CARVALHO, S.P. Genetic dissimilarity in cassava clones determined by multivariate techniques. **Crop Breeding and Applied Genetics**, v.8, p.104-110, 2008.

OLIVEIRA, D.C. **Caracterização e potencial tecnológico de amidos de diferentes cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011

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

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

PENTEADO, M.V.C; FLORES, C.I.O. Folhas de mandioca como fonte de nutrientes. In: CEREDA, M.P (coord): **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. Vol IV. São Paulo: Fundação CARGILL, p.49-65, 2001.

RAMALHO, M. A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.B. **Genética na agropecuária**. 5ed. São Paulo: Globo, 1996.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: Ed. da UFG, p.93-135, 1993.

RAMOS, S.R.R.; QUEIROZ, M.A. de; PEREIRA, T.N.S. Recursos genéticos vegetais: manejo e uso. **Magistra**, v.19, p.265-273, 2007.

RENVOIZE, B.S. The area of origin of *Manihot esculenta* Crantz as a crop plant: - a review of the evidence. **Economy Botanic**, v.26, p.352-360, 1972.

RESENDE, M.D.V. de. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 362 p, 2007.

RIBEIRO, F.E.; SOARES, A.R.; RAMALHO, M.A.P. Divergência genética entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.1615-1622, 1999.

RODRIGUES, A. de A.; CAMPOS, O.F. de. Resíduos industriais da raiz da mandioca na alimentação de bovinos. In: CEREDA, M.P (coord): **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. Vol IV. São Paulo: Fundação CARGILL, p. 240-258, 2001.

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

SATIN M. Functional properties of starches Chief, Agro-Industries and post harvest management service, FAO, Italy, [www.fao.org/ag/AGS/agssi/starch.2006](http://www.fao.org/ag/AGS/agssi/starch.2006).

SEVERINO, L. S.; SAKIYAMA, N. S.; PEREIRA, A. A.; MIRANDA, G. V.; ZAMBOLIM, L.; BARROS, U. V. Eficiência dos descritores de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) na discriminação de linhagens de “Catimor”. **Acta Scientiarum**, v.24, n.5, p.1487-1492, 2002.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O.J. Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications: a review. **Food Hydrocolloids**, v.21, p.1-22, 2007.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Review. Food Chemistry**, v.81, p.219-231, 2003.

SOUZA, L.D.; SOUZA, L. da S.; GOMES, J. de C. Exigências edáficas da cultura da mandioca. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 170-214, 2006.

SOUZA, L.S. (Ed.). **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas – BA. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 817p., 2006.

TAKAHASHI, M; FONSECA JUNIOR, N.S.; TORRECILLAS, S.M. Mandioca no Paraná: Antes, agora e sempre. Curitiba: IAPAR. Circular Técnica nº 123. 209p, 2002.

TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/12802182>> Acesso em: 14 dez. 2012.

UPADHYAYA, H.D.; REDDY, L.J.; GOWDA, C.L.L.; REDDY, K.N.; SINGH, S. Development of a mini core subset for enhanced and diversified utilization of pigeon pea germplasm resources. **Crop Science**, v.46, p.2127-2132, 2006.

VALOIS, A.C.C. **Genética aplicada a recursos fitogenéticos**. Brasília: UNB. 318p, 1998.

VIDIGAL, M.C.G.; VIDIGAL FILHO, P.S.; AMARAL JÚNIOR, A.T. do; BRACCINI, A.L. Divergência genética entre cultivares de mandioca por meio de estatística multivariada. **Bragantia**, v.56, p.263-271, 1997.

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; SILVA, M.S. Caracterização molecular de acessos de mandioca biofortificados com potencial de uso no melhoramento genético. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, p.457-463, 2011.

VILPOUX, F.O. Competitividade da mandioca no Brasil, como matéria-prima para amido. **Informações Econômicas**, v.38, n.11, p.27-38, 2008.

# CAPÍTULO I

## PARÂMETROS GENÉTICOS E PREDIÇÃO DE VALORES GENOTÍPICOS EM MANDIOCA PARA CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DA RAIZ UTILIZANDO O PROCEDIMENTO REML/BLUP<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> O artigo foi submetido ao comitê editorial do periódico científico Genetics and Molecular Research

## **Parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos em mandioca para características de qualidade da raiz utilizando o procedimento REML/BLUP**

**Resumo** - O objetivo deste trabalho foi estimar os parâmetros genéticos e prever os valores genotípicos em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) utilizando os procedimentos REML (*Restricted Maximum Likelihood*) e BLUP (*Best linear Unbiased Prediction*). Foram avaliados 474 acessos em experimentos instalados em dois anos de cultivo. As características avaliadas foram teor de amilose (AML), matéria seca da raiz (MS), compostos cianogênicos (CCiano) e produtividade de amido (PROD-AMD). A análise de deviance demonstrou a existência de diferenças significativas pelo teste de Qui-quadrado ( $P < 0,05$ ) para todas as características. A estimativa de herdabilidade individual no sentido amplo foi baixa para AML ( $h_g^2 = 0,07 \pm 0,02$ ), porém de magnitude mediana para PROD-AMD e MS, e elevada para CCiano. Isto indica que um rápido progresso de seleção pode ser obtido para estas últimas características, utilizando procedimentos simples de seleção. A característica AML teve sua herdabilidade substancialmente melhorada na média dos acessos ( $h_m^2 = 0,28$ ), o que indica que estratégias podem ser utilizadas para aumentar a eficiência seletiva a exemplo do aumento no número de repetições. De modo geral, observou-se que os valores genotípicos estão bem próximos da nova média da população melhorada, provavelmente em função da alta acurácia ( $> 0,90$ ), sobretudo para MS, CCiano e PROD-AMD. Os ganhos com a seleção dos 30 melhores genótipos para cada uma das características foi de 4,8 e 3,2% para aumento e redução de AML, respectivamente; aumento de 10,75% para MS e 74,62% para PROD-AMD, e redução de 89,60% para CCiano, em relação à média geral dos valores genotípicos. As correlações genotípicas entre as características de qualidade das raízes da mandioca obtidas neste estudo foram, em geral, favoráveis, embora de baixa magnitude. O método REML/BLUP mostrou-se adequado à estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento da mandioca, podendo ser empregado rotineiramente.

**Palavras chave:** melhoramento, germoplasma, *Manihot esculenta* Crantz, seleção, modelos mistos.

## Genetic parameters and genotypic values prediction for cassava root quality traits using REML / BLUP

**Abstract** - This study aimed to estimate genetic parameters and predict the genotypic values in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) using the REML (*Restricted Maximum Likelihood*) and BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) procedures. 474 accessions were evaluated in experiments carried out along a two-year-cultivation. The evaluated characteristics were amylase (AML), dry matter content (DMC), cyanogenic compounds (CyC) and starch yield (StYi). The deviance analysis demonstrated the existence of significant difference by Chi - square test at 5 % probability for all traits. The estimate for individual heritability in a broad sense was low for AML ( $h_g^2 = 0.07 \pm 0.02$ ), but had a medium magnitude for StYi and DMC and it was high for CyC. This indicates that a rapid selection progress can be obtained for these latter characteristics, using simple selection procedures. The AML characteristic had its heritability substantially improved the average of accessions ( $h_m^2 = 0.28$ ), which indicates strategies can be used to increase selectivity efficiency such as increasing the number of repetitions. Overall, it was observed that the genotypic values are very close to the new improved average population, probably due to the high accuracy ( $>0.90$ ), especially for DMC, CyC and StYi. The improvements from selection of the best 30 genotypes for each of the characteristics was 4.8 and 3.2% for increase and decrease of AML, respectively, an increase of 10.75 % for DMC and 74.62 % for StYi, and a reduction of 89.60 % to CyC, comparing to the average genotypic values. Genotypic correlations between the cassava roots quality obtained in this study were, in general, favorable, despite their low magnitude. The REML/BLUP method demonstrated being adequate to estimate genetic parameters and genotypic values prediction in cassava improvement, and it could be used routinely.

**Key-words:** breeding, germplasm, *Manihot esculenta* Crantz, selection, mixed models.

## INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é a terceira fonte de calorias mais importante na África, Ásia e América Latina, após o arroz e o milho, sendo caracterizada como cultura de segurança alimentar nestas regiões, onde a maior parte do cultivo é realizada por pequenos agricultores, muitas vezes em terras marginais. Segundo a organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2013) a mandioca tem potencial de se tornar a matéria-prima base para uma série de produtos processados que podem aumentar a demanda por mandioca e contribuir para a transformação da agricultura e do crescimento econômico nos países em desenvolvimento.

O melhoramento genético da mandioca tem resultado em progressos importantes, sobretudo no aumento do potencial produtivo da cultura por meio do desenvolvimento de novas variedades (Kawano, 2003; Akinwale et al., 2010). Por outro lado, além da produtividade e qualidade da raiz, cada vez mais o componente variedade desempenha um papel importante na diversificação do mercado de mandioca devido a características específicas do amido que permitem seu uso para os mais diversos fins (Zhang et al., 2010). Dentre estas características da raiz podemos mencionar o próprio teor de amido, de amilose, compostos cianogênicos, sólidos solúveis e opacidade do amido.

O amido, como o principal componente da raiz de mandioca, tem um papel importante na sua utilização como cultura alimentar e industrial (Ceballos et al., 2007). Além de sua ampla aplicação na indústria de alimentos, o amido também é utilizado na indústria têxtil, papel, metalurgia, farmácia e indústrias de plástico (Aryee et al., 2006; Afoakwa et al., 2012). De modo geral no Brasil, a produção de mandioca é utilizada basicamente para produção de farinha e amido. Assim, é fundamental que sejam desenvolvidas novas variedades com características diferenciadas de amido que tenham alguma vantagem competitiva em relação às aquelas tradicionalmente utilizadas no sistema de produção.

Mesmo em nível internacional, poucos são os programas de melhoramento de mandioca, e por isso ainda existem diversas lacunas a serem respondidas para otimizar os ganhos genéticos nesta cultura. Considerando que as principais características de importância econômica na cultura da mandioca são quantitativamente herdadas e, portanto altamente influenciadas pelas condições

ambientais, ainda são poucos os trabalhos que exploram a variabilidade genética da espécie para seleção de parentais para cruzamentos utilizando métodos de melhoramento adequados em função da herança das características específicas. Por outro lado, o progresso do melhoramento é determinado principalmente pela magnitude, natureza e inter-relação das variações genótípicas e fenotípicas das diversas características. Assim, a separação da variação total em seus componentes herdáveis e não herdáveis são fundamentais para se definir o progresso e as melhores estratégias de seleção. Estimativas precisas dos componentes de variância e dos fatores determinantes para seleção são de grande importância no melhoramento da mandioca. Estes podem ser obtidos com uso de procedimentos ótimos de estimação/predição, que possibilitam a maximização do ganho genético de seleção (Furlani et al., 2005).

Sendo o problema central do melhoramento de plantas a predição dos valores genéticos dos materiais superiores, já que a mesma necessita dos verdadeiros valores dos componentes de variância, torna-se imprescindível o uso dos métodos BLUP (*Best linear Unbiased Prediction*) e REML (*Restricted Maximum Likelihood*). A predição do BLUP presume o conhecimento dos valores de componentes de variância e, como isto não é possível, têm-se utilizado estimativas destes componentes via REML, ambos associados a um modelo linear misto. A utilização de modelos mistos visando a obtenção dos preditores dos valores genéticos (BLUP) é um método que vem sendo utilizado em diversas espécies perenes (Resende e Barbosa, 2006; Hiraoka et al., 2011) e anuais (Carvalho et al., 2008; Borges et al., 2010; Viana et al., 2010).

Este trabalho tem por objetivo estimar parâmetros genéticos e selecionar genótipos de mandioca utilizando metodologia de modelos mistos para obtenção do BLUP e o procedimento de máxima verossimilhança restrita (REML) para obtenção dos componentes de variância em características relacionadas à produtividade e qualidade do amido.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

Foram avaliados 474 acessos de germoplasma pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca (BAG-Mandioca) da Embrapa Mandioca e



Fruticultura (Cruz das Almas, Brasil), procedentes de vários ecossistemas do Brasil, bem como da Colômbia, Venezuela e Nigéria. Este banco é formado por landraces e variedades melhoradas resultante de procedimentos convencionais de melhoramento, tais como cruzamento e seleção, bem como pela seleção de landraces de alto potencial produtivo identificadas por agricultores ou instituições de pesquisa.

### **Delineamento experimental**

Foram implantados dois ensaios de campo nos anos de 2011 e 2012 no Setor de Campos Experimentais da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas (BA, Brasil). Em 2011 foi utilizado delineamento experimental de blocos casualizados com três repetições e parcela com 10 plantas e em 2012 foi utilizado delineamento em blocos aumentados com número de acessos distribuídos de forma bastante homogênea em 10 blocos, com parcela de 10 plantas. Como testemunhas do experimento foram utilizadas clones melhorados, porém ainda não recomendados (9624-09, 98150-06 e 9824-09), assim como variedades locais (Aipim Brasil, Cigana e Eucalipto) e variedades recomendadas (BRS Dourada, BRS Gema de Ovo, BRS Verdinha, BRS Tapioqueira e BRS Caipira).

O plantio foi realizado no início do período das chuvas na região (maio a julho) utilizando manivas de 15 a 20 cm em fileiras simples. O espaçamento utilizado foi de 0,90m entre linhas e 0,80m entre plantas, e os tratos culturais foram realizados de acordo com recomendações da cultura. A colheita foi realizada aos 11 meses do plantio.

### **Preparo das amostras**

A amostragem foi realizada conforme a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Para cada repetição foram colhidas todas as raízes de dez plantas de mandioca, as quais foram misturadas e retirou-se aleatoriamente uma sub-amostra de cinco a seis raízes representativas da média do lote. As raízes selecionadas foram lavadas em água corrente, cortadas em pedaços, descascadas, removendo-se a casca e entrecasca e cortadas em quartos. Utilizaram-se dois lados opostos das raízes para a extração de amido. Os outros dois lados opostos das raízes quarteadas foram picados, triturados em multiprocessador e em mixer até a formação de uma pasta homogênea, sendo

essa pasta a amostra utilizada nas análises de compostos cianogênicos e umidade.

Para extração do amido foram utilizadas 500 g de mandioca cortada em pedaços e triturada em liquidificador com hélice não cortante (hélices grossas) por um minuto, na proporção de 1:1 (500 g de mandioca para 500 mL de água gelada). Posteriormente, essa solução foi filtrada em peneira de 150 mesh, previamente coberta com pano “voil” e em seguida lavada com água gelada. Após este processo, a suspensão do amido recuperada foi mantida em câmara fria à temperatura de 5°C durante 12 h, para decantação do amido. Em seguida, descartou-se o sobrenadante, e o amido decantado foi lavado com aproximadamente 20 mL de álcool etílico 95%, e colocado para secar em estufa com circulação de ar forçada a 40°C, por 48 h. O amido seco foi triturado com o auxílio do grau e pistilo, até a obtenção de um pó de textura fina.

### **Análises físico-químicas**

A determinação dos compostos cianogênicos (CCiano), sobretudo glicosídeos cianogênicos,  $\alpha$ -hidroxinitrila e cianeto livre, presente nas amostras foi realizada segundo metodologia proposta por Essers (1994), a qual consiste na extração destes compostos com posterior reação com cloramina T e isonicotinato 1,3-dimetil barbiturato e determinação espectrofotométrica a 605 nm. Para a liberação do cianeto glicosídico, utilizou-se a enzima linamarase, a qual foi extraída da entrecasca da raiz de mandioca, segundo Cooke (1979). A análise de matéria seca (MS) foi realizada em estufa com circulação de ar forçada a 60°C por 48 horas até a obtenção de peso constante, utilizando-se como peso inicial, 60g de amostra, sendo os resultados expressos em porcentagem. O teor de amido foi obtido subtraindo a constante 4,65% do valor da MS, que se refere aos teores de cinzas, proteínas, lipídeos e fibras conforme Kawano et al. (1987). Em seguida, o teor de amido foi multiplicado pela produtividade média do acesso, gerando a característica denominada de produtividade de amido (PROD-AMD), em  $t.ha^{-1}$ .

O amido seco foi analisado com relação ao teor de amilose (AML) segundo a norma ISO (1987). A amostra de amido foi dispersa em álcool etílico P.A. 95%, gelatinizada com hidróxido de sódio e acidificada com ácido acético. Após a

adição de solução de iodo, o complexo formado de coloração azul foi quantificado por espectrofotômetro a 620 nm, modelo SP 220, Biospectro.

### **Modelo linear misto**

Na análise de modelos mistos com dados desbalanceados, os efeitos aleatórios do modelo são testados por meio da razão de verossimilhança (LTR), denominado análise de deviance.

Foi realizada uma análise combinada de diferentes delineamentos experimentais, utilizando modelos para blocos incompletos. Neste caso, todos os blocos são ajustados como efeitos aleatórios, enquanto os efeitos de delineamento foram tratados como fixos, ajustando os experimentos no delineamento de blocos completos e outro nível para os experimentos no delineamento de blocos incompletos. Neste caso, o modelo ajustou o efeito de blocos dentro de cada tipo de delineamento.

O modelo linear misto utilizado para descrever os dados foi  $y = Xb + Zg + Wp + e$  (Resende, 2002a), em que  $y$  é o vetor de dados;  $b$  é o vetor de efeitos fixos associados à média geral e efeito de blocos;  $g$  é o vetor de efeitos genéticos aleatórios;  $p$  é o vetor de efeitos aleatórios de parcelas;  $e$  é o vetor de erros aleatórios e  $X$ ,  $Z$  e  $W$  são matrizes de incidência, que associam os parâmetros não conhecidos  $b$ ,  $g$  e  $p$ , respectivamente, ao vetor de dados  $y$ .

As distribuições e estruturas de médias e variâncias foram dadas por:

$$y | b, V \sim N(Xb, V)$$

$$g | A, \sigma_g^2 \sim N(0, A\sigma_g^2)$$

$$p | \sigma_p^2 \sim N(0, I\sigma_p^2)$$

$$e | \sigma_e^2 \sim N(0, I\sigma_e^2)$$

As covariâncias entre todos os efeitos aleatórios do modelo são dadas por  $Cov(g, p') = 0$ ;  $Cov(g, e') = 0$  e  $Cov(p, e') = 0$ , de tal forma que:

$$E \begin{bmatrix} y \\ g \\ p \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Xb \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \text{ e } \text{Var} \begin{bmatrix} y \\ g \\ p \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} V & ZG & WC & R \\ GZ' & G & 0 & 0 \\ CW' & 0 & C & 0 \\ R & 0 & 0 & R \end{bmatrix}, \text{ em que } G = A\hat{\sigma}_g^2; \quad R = I\hat{\sigma}_p^2;$$

$$C = I\hat{\sigma}_e^2 \text{ e } V = ZA\hat{\sigma}_g^2Z' + WI\hat{\sigma}_p^2W + I\hat{\sigma}_e^2 = ZGZ' + WCW' + R$$

A metodologia de modelos mistos permite estimar  $b$  pelo procedimento de mínimos quadrados generalizados, e  $g$  e  $p$  pelo procedimento BLUP. O sistema de equações lineares (chamados de equações do modelo misto - EMM) utilizado para obter as soluções do modelo foi:

$$\begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{g} \\ \hat{p} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'W \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\lambda_1 & Z'W \\ W'X & W'Z & W'W + I\lambda_2 \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \end{bmatrix}, \text{ em que:}$$

$\lambda_1 = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_g^2} = \frac{1-h^2-c^2}{h^2}$ ,  $\lambda_2 = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_p^2} = \frac{1-h^2-c^2}{c^2}$  são os fatores de encolhimento dos efeitos aleatórios do modelo de equações mistas, em que  $\sigma_g^2$  é a variância genética aditiva;  $\sigma_p^2$  é a variância do efeito de parcela;  $\sigma_e^2$  é a variância residual (ambiente + não aditiva);  $A$ : matriz de correlação genética aditiva entre os indivíduos e  $I$  é a matriz identidade.

As estimativas REML dos componentes de variância foram obtidas por meio do algoritmo de EM (esperança e maximização), de acordo com as seguintes expressões:

$$\hat{\sigma}_e^2 = \frac{y'y - \hat{b}'X'y - \hat{g}'Z'y - \hat{p}'W'y}{N - r(x)}, \quad \hat{\sigma}_g^2 = \frac{\hat{g}'A^{-1}\hat{g} + \hat{\sigma}_e^2 \text{tr}(A^{-1}C^{22})}{q} \quad e$$

$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{\hat{p}'p + \hat{\sigma}_e^2 \text{tr}C^{33}}{s}$  em que  $C^{22}$  e  $C^{33}$  são derivados de:

$$C^{-1} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} \\ C_{21} & C_{22} & C_{23} \\ C_{31} & C_{32} & C_{33} \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} & C^{13} \\ C^{21} & C^{22} & C^{23} \\ C^{31} & C^{32} & C^{33} \end{bmatrix} \text{ que é a inversa generalizada dos}$$

coeficientes da matriz EMM,  $\text{tr}$  é o traço da uma matriz;  $r(x)$  é o posto da matriz  $X$ ;  $N - r(x)$  é o número de graus de liberdade do erro;  $q$  é o número de indivíduos;  $s$  é o número de parcelas e  $N$  é o número total de observações.

Os coeficientes de herdabilidade individual foram estimadas de acordo com

$\hat{h}_g^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2}$ . O desvio-padrão dos coeficientes de herdabilidade foi obtido a

partir da matriz de informação das equações de modelo misto. As demais

estimativas de variâncias e parâmetros genéticos são dadas por:  $\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_p^2 + \hat{\sigma}_e^2$ :

variância fenotípica individual;  $\hat{h}_m^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{b}}$ : herdabilidade ajustada para média do

acesso; em que  $b$  é o número de blocos. A acurácia da seleção de clones foi dada por  $Ac = \sqrt{\hat{h}_m^2}$ .

### **Ganho genético**

As estimativas de predição pelo procedimento REML/BLUP foram realizadas utilizando o programa *Selegen* (Resende, 2002b). O ganho genético foi calculado como a média dos valores genéticos dos indivíduos selecionados. A seleção foi praticada utilizando os valores genéticos preditos dos 30 melhores genótipos para cada característica individual.

Os valores genotípicos de cada clone foram obtidos somando-se cada efeito genotípico à média geral do experimento. O ganho genético equivale à média dos vetores dos efeitos genéticos preditos para os clones selecionados. A média geral somada ao ganho genético resulta na média da população melhorada. O desempenho relativo de cada clone foi obtido pela relação entre as médias da população melhorada de cada clone e a média do clone de maior ou menor valor genético, dependendo do sentido da seleção.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na Tabela 1 são apresentados os valores de deviance, cujos resultados demonstram a existência de diferenças significativas pelo teste de Qui-quadrado a 5% de probabilidade para as características analisadas, indicando a existência de alta variação genética entre os acessos de germoplasma de mandioca avaliados.

### **Estimativas dos parâmetros genéticos**

A predição de valores genéticos depende do conhecimento do controle genético do caráter e especialmente dos parâmetros de herdabilidade e repetibilidade individuais. Estimativas individuais de parâmetros genéticos, como a herdabilidade individual, são raras em mandioca, e por isso devem ser investigados.

**Tabela 1.** Estimativas de deviance para quatro características relacionadas à qualidade da raiz avaliadas em acessos de germoplasma de mandioca.

Efeito	AML		MS	
	Deviance	LRT	Deviance	LRT
Genótipo	3401,71	146,25**	4852,32	489,72**
Modelo completo	3547,96		5342,04	

Efeito	CCiano		PROD-AMD	
	Deviance	LRT	Deviance	LRT
Genótipo	9504,33	899,16**	5561,5	411,80**
Modelo completo	10403,49		5973,3	

AML: teor de amilose; MS: teor de matéria seca; CCiano: teor de compostos cianogênicos; PROD-AMD: produtividade do amido.

Os componentes de variância, estimativas de herdabilidade, coeficientes de variação e acurácia são apresentados na Tabela 2. Embora tenha sido observado diferenças significativas entre os acessos de mandioca, quanto à característica AML, a estimativa de herdabilidade individual no sentido amplo foi baixa ( $h_g^2 = 0,07 \pm 0,02$ ). Por outro lado, as estimativas de  $h_g^2$  foram de magnitude mediana para PROD-AMD (0,50) e MS (0,56) e de boa magnitude para CCiano (0,74). A  $h_g^2$  contém as variâncias aditiva e de dominância entre as unidades de seleção que efetivamente são utilizadas para a seleção de plantas superiores, considerando que a mandioca transmite toda variância genética adiante por meio de clonagem.

O desvio padrão da  $h_g^2$  foi sempre menor que 20% da estimativa da herdabilidade para todas estas características, exceto para AML, o que garante uma boa predição de valores genéticos, de acordo com Resende (2002a). Assim, observa-se uma situação favorável para a expressão destas características relacionadas à qualidade da raiz, e por consequência, mostra um grande potencial para seleção com boas perspectivas de avanço genético, pois o progresso esperado pela seleção depende diretamente da herdabilidade e da intensidade da seleção, e inversamente do desvio padrão fenotípico (Dudley e Moll, 1969).

As estimativas de herdabilidade individuais ajustadas para média apresentaram magnitudes medianas para MS e PROD-AMD, e alta para CCiano, porém conduziram a altos coeficientes de herdabilidade ao nível de médias de acessos ( $h_m^2$  de 0,80; 0,85 e 0,93 para PROD-AMD, MS e CCiano, respectivamente). A principal diferença observada entre  $h_g^2$  e  $h_m^2$  é atribuída à menor variação fenotípica no cálculo da herdabilidade, devido à redução da variância residual e ausência da variância da parcela.

**Tabela 2.** Estimativas de componentes de variância, herdabilidade, acurácia e coeficientes de variação para teor de amilose (AML), matéria seca (MS), compostos cianogênicos (CCiano) e produtividade de amido (PROD-AMD).

Parâmetro	AML	MS	CCiano	PROD-AMD
$\sigma_g^2$	0,37	8,46	438,97	11,27
$\sigma_b^2$	0,88	0,66	16,26	0,56
$\sigma_e^2$	3,85	6,07	139,34	10,93
$\sigma_f^2$	5,10	15,19	594,58	22,76
$h_g^2$	0,07±0,02	0,56±0,06	0,74±0,06	0,50±0,05
$c_b^2$	0,17	0,04	0,03	0,02
$h_m^2$	0,28	0,85	0,93	0,80
Ac	0,53	0,92	0,96	0,90
CVg	3,53	7,67	71,88	39,45
CVe	11,33	6,50	40,50	38,84
CVr	0,31	1,18	1,77	1,02
$\bar{X}_f$	17,32	37,93	29,15	8,51

$\sigma_g^2$ : variância genotípica;  $\sigma_b^2$ : variância ambiental entre blocos;  $\sigma_e^2$ : variância residual;  $\sigma_f^2$ : variância fenotípica individual;  $h_g^2$ : herdabilidade dos efeitos genotípicos totais;  $c_b^2$ : coeficiente de correlação intraclasses;  $h_m^2$ : herdabilidade ajustada para média de genótipo; Ac: acurácia da seleção de genótipos; CVg: coeficiente de variação genotípica; CVe: coeficiente de variação residual; CVr: coeficiente de variação relativa (CVg/CVe);  $\bar{X}_f$ : média geral do experimento.

Diferentes estimativas de herdabilidade no sentido amplo para MS têm sido relatadas na literatura, como 0,42 (Kizito et al., 2007), 0,56 (Akinwale et al., 2010) e 0,80 (Aina et al., 2007), o que demonstra que os resultados apresentados no presente trabalho estão de acordo com relatos prévios. Todavia, de acordo com Kawano et al. (1987), o teor de matéria seca nas raízes é bastante influenciado pela idade da planta, pela variedade, local e época de colheita. Contudo, diferentes valores de herdabilidade podem ser encontrados para determinadas características de uma mesma espécie e isto se deve, principalmente, aos diferentes métodos utilizados para a sua determinação, aos diferentes materiais genéticos, aos diferentes locais e à idade de avaliação.

Além disso, Kizito et al. (2007) identificaram estimativas de herdabilidade no sentido amplo para teor de compostos cianogênicos com magnitude inferior às observadas no presente trabalho (0,43), porém os autores mencionam que a moderada herdabilidade observada para CCiano e MS indica que a variação fenotípica destas características possui um componente genético importante para o mapeamento de QTLs. Como consequência foram identificados dois QTLs com efeitos aditivos para CCiano e outros seis QTLs, sendo um com efeito aditivo e os demais com efeitos de dominância / sobredominância.

A importância destes resultados é que as maiores estimativas de  $h_g^2$  para MS, CCiano e PROD-AMD podem contribuir para que um rápido progresso de seleção seja atingido, mesmo com o uso de procedimentos relativamente simples de seleção, a exemplo da seleção recorrente fenotípica. Por outro lado, a baixa  $h_g^2$  registrada para AML indica que a expressão desta característica apresenta grande influência de ambiente, e que a seleção direta pode ser ineficaz. Especial atenção deve ser dada para AML, que teve sua herdabilidade substancialmente melhorada na média dos acessos ( $h_m^2=0,28$ ) (Tabela 2). A herdabilidade ajustada para média do genótipo revela-se como um meio de aumentar a eficiência de seleção para esta característica, que é de grande importância no melhoramento de mandioca. Assim, pode-se concluir que os resultados observados neste estudo indicam baixa herdabilidade da característica AML, e que estratégias para



aumentar a eficiência seletiva são necessários, a exemplo do aumento no número de repetições.

As estimativas de herdabilidade subsidiam a escolha da melhor estratégia de melhoramento a ser adotada, revela o potencial de progresso genético esperado com o melhoramento, e é essencial à predição de valores genéticos. Por exemplo, Costa et al. (2007) demonstraram que o número adequado de plantas de teca (*Tectona grandis* L.F.) por clone em testes clonais, varia bastante em função da herdabilidade individual no sentido amplo, sendo que 100 plantas por clone conduzem a acurácias acima de 90%, independentemente da herdabilidade no sentido amplo. Por outro lado, para características com herdabilidade de 0,20 é possível obter uma acurácia de 95% utilizando cerca de 40 plantas por clone e, acurácia de 90%, utilizando-se cerca de 18 plantas por clone. A utilização deste conhecimento para o melhoramento da mandioca, pode resultar no uso de menor número de plantas por genótipo podendo ser utilizado para as características MS, CCiano e PROD-AMD.

O procedimento REML permitiu estimar os componentes de variância em uma situação de desequilíbrio de experimentos. Isto é um aspecto interessante no contexto do melhoramento genético de mandioca, considerando que a implantação de ensaios com grande número de acessos em experimentos balanceados é um desafio, em função das dificuldades relacionadas à baixa disponibilidade de material propagativo para uso em todas as repetições, assim como a sobrevivência diferencial dos genótipos, devido à qualidade da maniva utilizada no plantio.

Altos valores do coeficiente de determinação devido ao ambiente comum da parcela ( $\sigma_b^2$ ) indicaram maior variação ambiental entre as parcelas, uma vez que este parâmetro quantifica a variância dentro dos blocos. No presente estudo, os valores de  $c_b^2$  foram de 0,17, 0,04, 0,03 e 0,02 para AML, MS, CCiano e PROD-AMD, respectivamente (Tabela 2). De acordo com Resende (2002a) este coeficiente deve estar abaixo de 0,10 para experimentos de boa qualidade.

Baixos coeficientes de variação genotípica (CVg) foram observados para AML e MS (3,53 e 7,67%, respectivamente). Por outro lado, os CVg indicaram a presença de alta variabilidade genotípica entre os acessos para CCiano e PROD-AMD (71,88 e 39,45%, respectivamente). Esta variabilidade genética é uma condição indispensável para se realizar a seleção dos melhores acessos. Para estas mesmas características (CCiano e PROD-AMD) foram observados os maiores valores de coeficiente de variação residual (CVe de 40,50 e 38,84 para CCiano e PROD-AMD, respectivamente). Contudo, observação isolada deste coeficiente não permite uma avaliação adequada da qualidade experimental, sendo necessário considerar o coeficiente de variação relativa ( $CVr = CVg / CVe$ ). Assim, CCiano foi a característica que apresentou a maior relação CVg/CVe ( $CVr = 1,77$ ), indicando uma alta possibilidade de ganho de seleção para essa característica. Situação semelhante foi observada para MS ( $CVr = 1,18$ ) e PROD-AMD ( $CVr = 1,02$ ).

Coeficientes de variação experimental acima de 50% foram observados para peso da parte aérea e peso médio de raízes não comerciais de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) (Borges et al., 2010), bem como para peso da parte aérea, produtividade por planta e área total na cultura da mandioca (Aina et al., 2007). De acordo com Borges et al. (2010), os valores desta natureza para coeficiente de variação, como também para outros parâmetros estatísticos, são comuns quando se avaliam culturas cujo caráter em estudo é de estruturas subterrâneas, em que o controle ambiental é dificultado. Contudo, os CVe observados no presente experimento para a mandioca, foram de no máximo 40,50% para CCiano.

Os valores de acurácia ou correlação entre os valores genotípicos preditos e os verdadeiros ficaram acima de 0,90 para MS, CCiano e PROD-AMD. Porém, para AML a acurácia foi de 0,53 (Tabela 2). De acordo com Resende e Duarte (2007), estas acurácias são moderadas (0,53) para AML e muito altas (acima de 0,90) para MS, CCiano e PROD-AMD.

Elevados coeficientes de CVe foram observadas para AML, o que contribuiu para a obtenção de baixas estimativas de CVr (0,31) e baixa acurácia seletiva. Entretanto, esta acurácia pode ser aumentada nos próximos experimentos por meio de uma experimentação mais adequada, mantendo-se o mesmo tamanho do experimento, porém reduzindo o tamanho da parcela e

umentando o número de repetições na experimentação, conforme recomendado por Costa et al. (2007). Isto faz com que a própria herdabilidade individual no bloco ( $h_g^2$ ) aumente em função do menor tamanho e maior homogeneidade do bloco, o que certamente contribuiu para o aumento da acurácia seletiva. De acordo com Resende e Duarte (2007), mesmo com valores de CVr abaixo da unidade é possível alcançar uma precisão seletiva igual ou maior que 0,70, se um número adequado de repetições for utilizado.

### **Valores genotípicos preditos**

Na teoria de modelos mistos, considerando os efeitos de tratamentos como aleatórios, não são realizados os testes de comparações múltiplas usualmente implementadas no enfoque da análise de variância, uma vez que estes são derivados em suposição de efeitos de tratamentos como fixos e também porque são aplicados e produzem inferências sobre médias fenotípicas e não médias genotípicas (Resende, 2002a). A consideração dos efeitos de tratamentos como aleatórios é essencial para se fazer seleção e inferir sobre os valores médios propriamente ditos. Assim, os efeitos e valores genotípicos preditos, valores fenotípicos, ganhos genéticos, média da população melhorada e valores fenotípicos dos 30 melhores acessos de mandioca avaliados são apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5. Para AML, os valores genotípicos variaram de 16,39 a 19,92% com média de 17,32% de amilose. Na Tabela 3 são apresentados os 30 genótipos com os maiores valores genotípicos para AML. As duas variedades melhoradas (BRS Dourada e BRS Gema de Ovo) apresentaram os maiores valores genotípicos de AML, enquanto os clones melhorados classificaram-se acima da 133ª posição.

O melhorista deve implementar estratégias para prever o valor genético dos indivíduos e planejar a forma de utilização dos indivíduos com os maiores valores genéticos preditos. Em mandioca é possível explorar duas estratégias básicas: a primeira envolve a geração de populações formadas por descendentes dos indivíduos selecionados, onde a seleção atuará alterando as frequências alélicas nos locos que controlam a característica sob seleção de forma a alterar a média genotípica da população no sentido desejado. Neste caso, para as populações segregantes oriundas do cruzamento de genótipos superiores é

importante estimar os valores genéticos aditivos, considerando que somente estes efeitos aditivos são transmitidos à descendência via reprodução sexuada. Na segunda estratégia, pode-se selecionar os próprios indivíduos com os maiores valores genéticos preditos, uma vez que é possível proceder a propagação clonal. Para esta situação, é interessante estimar os valores genotípicos que capitalizam os efeitos aditivos e de dominância, que neste caso são transmitidos integralmente para a geração seguinte, por meio de propagação vegetativa.

Considerando a geração de populações segregantes a partir do cruzamento dos 30 melhores genótipos, a nova média da população seria de 18,14% de AML, que corresponde a um ganho em relação à média do experimento de 4,8% e de 2,1% em relação às testemunhas. Por outro lado, se a estratégia for o uso dos genótipos com maiores médias preditas para uso comercial, as variedades BRS Dourada e BRS Gema de Ovo seriam a melhor opção para maiores teores de amilose (Tabela 3). Outros relatos de literatura indicam valores fenotípicos de amilose variando de 17,9 a 23,6% (Defloor et al., 1998); 18,0 a 25% (Moorthy, 2004); 13,6 a 23,8% (Rickard et al., 1991) e variedade sem amilose, conhecida como cerosa (Ceballos et al., 2007). Neste último caso, as propriedades funcionais do amido ceroso foram diferentes de amidos normais a exemplo de alta viscosidade, elevado índice de inchamento e baixa solubilidade. Outros produtos tais como glucose, xaropes de frutose e outras bebidas estão sendo desenvolvidos em função do conteúdo de amido e amilose das variedades de mandioca (Aryee et al., 2006).

Considerando que o baixo teor de AML também é um atributo interessante para a indústria de amido, selecionaram-se os 30 acessos com menores teores de amilose (Tabela 3). Neste caso, os valores genotípicos variaram de 16,39 a 16,92% com média de 16,76%. Além de outros 27 acessos de germoplasma, dois clones (9824-09 e 98150-06) e uma variedade local (Cigana) foram selecionados com base neste critério. O ganho genético (redução do teor de amilose) com a seleção destes genótipos foi de 3,2% e 5,6% em relação à média geral dos experimentos e testemunhas, respectivamente. Os dois acessos com menores teores de amilose foram BGM0678 e BGM0776, com médias preditas de 16,39 e 16,53% (Tabela 3).

**Tabela 3.** Ordenamento (Ord) dos acessos de mandioca, bem como seu valor genotípico (u+g), nova média (NM), acurácia seletiva (Ac) para maior e menor teor de amilose.

Alto teor de amilose					Menor teor de amilose				
Ord	Clone	u+g	NM	Ac	Ord	Clone	u+g	NM	Ac
1	BRS Dourada	18,92	18,92	0,76	445	BGM0678	16,39	17,32	0,53
2	BRS Gema Ovo	18,26	18,59	0,76	444	BGM0776	16,53	17,32	0,47
3	BGM1183	18,18	18,45	0,47	443	BGM1186	16,56	17,32	0,47
4	BGM1184	18,15	18,38	0,53	442	BGM0818	16,57	17,32	0,47
5	BGM0624	18,13	18,33	0,53	441	BGM0834	16,59	17,32	0,47
6	BGM0631	18,09	18,29	0,53	440	BGM1692	16,66	17,32	0,47
7	BGM0248	17,98	18,25	0,47	439	BGM0847	16,66	17,33	0,53
8	BGM0367	17,97	18,21	0,53	438	BGM0677	16,70	17,33	0,47
9	BGM1552	17,95	18,18	0,53	437	BGM0184	16,71	17,33	0,53
10	BGM0885	17,95	18,16	0,53	436	BGM0928	16,74	17,33	0,47
11	BGM0041	17,94	18,14	0,53	435	BGM0956	16,76	17,33	0,40
12	BGM1333	17,94	18,12	0,53	434	BGM0303	16,78	17,33	0,53
13	BGM1236	17,92	18,11	0,53	433	Cigana	16,80	17,33	0,76
14	BGM0540	17,90	18,09	0,53	432	BGM0800	16,81	17,34	0,53
15	BGM0360	17,86	18,08	0,53	431	BGM0089	16,81	17,34	0,47
16	BGM0331	17,86	18,06	0,53	430	BGM1123	16,81	17,34	0,53
17	BGM1100	17,85	18,05	0,47	429	BGM1085	16,82	17,34	0,47
18	BGM0103	17,84	18,04	0,53	428	BGM0273	16,83	17,34	0,53
19	BGM1190	17,81	18,03	0,53	427	BGM0499	16,84	17,34	0,47
20	BGM0204	17,80	18,02	0,47	426	BGM0341	16,85	17,34	0,53
21	BGM0823	17,79	18,00	0,53	425	9824-09	16,85	17,34	0,76
22	BGM0901	17,79	17,99	0,53	424	BGM0455	16,86	17,34	0,47
23	BGM0057	17,79	17,99	0,53	423	BGM0434	16,87	17,35	0,47
24	BGM0166	17,78	17,98	0,53	422	BGM0390	16,88	17,35	0,53
25	BGM0547	17,78	17,97	0,53	421	BGM0093	16,89	17,35	0,53
26	BGM1491	17,78	17,96	0,40	420	BGM1361	16,89	17,35	0,53
27	BGM1623	17,78	17,96	0,53	419	BGM0649	16,90	17,35	0,47
28	BGM1495	17,77	17,95	0,47	418	BGM0767	16,90	17,35	0,53
29	BGM1124	17,76	17,94	0,47	417	BGM1440	16,92	17,35	0,47
30	BGM0295	17,75	17,94	0,40	416	98150-06	16,94	17,35	0,47

**Tabela 4.** Ordenamento (Ord) dos acessos de mandioca, bem como seu valor genotípico (u+g), nova média (NM), acurácia seletiva (Ac) para teor de matéria seca (MS) e compostos cianogênicos (CCiano).

MS					CCiano				
Ord	Clone	u+g	NM	Ac	Ord	Clone	u+g	NM	Ac
1	BGM1202	43,46	43,46	0,92	471	BGM0341	0,00	29,15	0,96
2	BGM0443	43,17	43,32	0,92	470	BGM1195	0,00	29,22	0,95
3	BGM0027	43,08	43,24	0,92	469	BGM0376	0,00	29,28	0,96
4	BGM0656	43,02	43,18	0,86	468	BGM0375	0,00	29,34	0,95
5	BGM2043	42,44	43,03	0,92	467	BGM0868	0,17	29,40	0,96
6	BGM0425	42,38	42,93	0,92	466	BGM1491	0,93	29,47	0,93
7	BGM0144	42,36	42,85	0,92	465	BGM0656	0,98	29,53	0,93
8	BGM1116	42,33	42,78	0,92	464	BGM1526	1,00	29,59	0,93
9	BGM1311	42,22	42,72	0,92	463	BGM0367	1,00	29,65	0,96
10	BGM0341	42,17	42,66	0,92	462	BGM1100	1,29	29,71	0,95
11	BGM0542	42,14	42,62	0,92	461	BGM0433	1,34	29,77	0,93
12	BGM0940	42,03	42,57	0,90	460	BGM0800	1,75	29,84	0,95
13	BGM0544	42,02	42,52	0,92	459	BGM0041	2,02	29,90	0,96
14	BGM0620	41,98	42,49	0,90	458	BGM0254	2,92	29,96	0,96
15	BGM1450	41,91	42,45	0,76	457	BGM0330	3,14	30,02	0,96
16	BGM1171	41,85	42,41	0,92	456	BGM0542	3,45	30,08	0,96
17	BGM0783	41,80	42,37	0,90	455	BGM0443	3,52	30,13	0,96
18	BGM1692	41,77	42,34	0,90	454	BGM0624	3,65	30,19	0,96
19	BGM0845	41,75	42,31	0,92	453	BGM0631	3,85	30,25	0,96
20	BGM1495	41,74	42,28	0,92	452	BGM0276	3,99	30,31	0,95
21	BGM0818	41,61	42,25	0,90	451	BGM0149	4,10	30,37	0,96
22	BGM0143	41,60	42,22	0,76	450	BGM0642	5,00	30,43	0,96
23	BGM1956	41,51	42,19	0,76	449	BGM0501	5,24	30,48	0,96
24	BGM0196	41,51	42,16	0,90	448	BGM0434	5,30	30,54	0,95
25	BGM0587	41,49	42,13	0,90	447	BGM0307	5,39	30,60	0,95
26	BGM0455	41,49	42,11	0,90	446	BGM0464	5,87	30,65	0,93
27	BGM0428	41,43	42,08	0,92	445	BGM0211	5,97	30,71	0,96
28	BGM0800	41,38	42,06	0,92	444	BGM1517	6,15	30,76	0,96
29	BGM1362	41,38	42,04	0,76	443	BGM0908	6,24	30,82	0,95
30	BGM0821	41,30	42,01	0,92	442	BGM0356	6,69	30,88	0,96

Dentre diversos métodos de predição, o BLUP tem a capacidade de maximizar a acurácia seletiva (Resende, 2002a). Contudo, a acurácia de seleção tanto nos acessos com alta e baixa amilose foi relativamente baixa (variação de 0,40 a 0,76), o que certamente compromete a seleção acurada dos melhores genótipos para aumentar ou reduzir esta característica, com base nos dados atuais. Porém, conforme mencionado anteriormente, a acurácia desta característica pode ser melhorada, reduzindo o tamanho da parcela e aumentando o número de repetições do experimento.

Para a característica MS, os valores genotípicos dos acessos de mandioca variaram de 24,93 a 43,46%. Em outros trabalhos, observa-se menor variação para dados fenotípicos (33,2 a 39,2% - Raji et al., 2007), que pode ser explicado pelo menor número de acessos de mandioca avaliados, o que restringe a variabilidade genética a ser amostrada. Em relação à característica MS, os 30 melhores clones apresentaram valores genotípicos variando de 41,30 a 43,46%, com média de 42,01%. O ganho genético ao selecionar estes 30 acessos é de 10,75% e 5,5%, considerado mediano, em relação à média geral dos experimentos e testemunhas, respectivamente. A acurácia seletiva para esta característica foi bastante elevada (0,72 a 0,96) (Tabela 4), o que certamente garante maior precisão na seleção dos melhores acessos de mandioca para esta característica. Por outro lado, Akinwale et al. (2010) relataram estimativas de herdabilidade mediana e baixos ganhos genéticos (8,7%) para MS, o que pode ser devido à menor variabilidade de variedades analisadas pelos autores.

O aumento no teor de MS é importante, pois de acordo com Rickard et al. (1991), cerca de 74 a 85% do peso seco da raiz de mandioca corresponde ao amido. Assim, o teor de matéria seca influencia diretamente a quantidade de amido extraído das raízes de mandioca. Além disso, no Brasil as feculares geralmente pagam preços diferenciados para raízes frescas em função do teor de MS.

Os valores preditos para teor de compostos cianogênicos apresentaram uma ampla variação, de 0,0 a 115,53 mg.Kg<sup>-1</sup> (Tabela 4). Ao avaliarem 11 variedades de mandioca na Nigéria, Raji et al. (2007) observaram variação fenotípica semelhante para CCiano (40,0 mg.Kg<sup>-1</sup> na variedade local 'Isunikankiyan' a 128,6 mg.Kg<sup>-1</sup> na cultivar TMS30572).

De acordo com Jansz et al. (1997), com base no teor de compostos cianogênicos as raízes da mandioca podem ser classificadas em três classes, baixa toxicidade ou mandioca mansa ( $< 50 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), média toxicidade (entre 50 e  $100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e alta toxicidade ou mandioca brava ( $> 100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ). De modo geral, o mercado de mandioca de mesa, demanda variedades que apresentem boas qualidades culinárias e baixo teor de compostos cianogênicos (linamarina e lotaustralina), que produzem o ácido cianídrico. A identificação de variedades de mandioca com baixos teores de CCiano nas raízes *in natura* é necessária para reduzir os riscos de intoxicação dos consumidores (Jansz et al., 1997). Por outro lado, as etapas de processamento das raízes (fermentação, prensagem, lavagem, secagem e submissão a altas temperaturas) utilizadas na fabricação de farinha e fécula reduz o teor de CCiano a um nível muito baixo (Piyachomkwan et al., 2005). Assim, considerando que a maior parte da produção das raízes de mandioca é destinada à indústria de farinha e fécula, o teor de compostos cianogênicos não é uma característica principal nas etapas de seleção de variedades para este segmento de mercado, em que o mais importante são os atributos de alta produtividade e teor de amido.

A ampla variação no teor de CCiano encontrada no presente estudo certamente contribuiu para uma escolha adequada dos melhores genótipos para usos diversificados, com foco especial para o mercado *in natura*. Assim, a seleção dos 30 melhores clones com menores valores genotípicos para CCiano apresentaram variação de 0,00 a 6,69%, com média de 3,03%. O ganho genético (no sentido da redução) ao selecionar estes 30 acessos é de 89,60% e 88,07% em relação à média geral dos experimentos e testemunhas, respectivamente. Além disso, a acurácia seletiva para esta característica também foi bastante elevado (0,93 a 0,96) (Tabela 4).

Principalmente para a indústria de amido e fécula, o rendimento de amido é um ponto crucial na escolha da variedade a ser utilizado no sistema de produção em grande escala, pois é necessário maximizar a eficiência de produção por hectare. Neste sentido, é importante levar em consideração o potencial produtivo da variedade e o seu teor de amido, que no presente trabalho foi denominado como produtividade de amido (PROD-AMD) (Tabela 5). Da mesma forma que outras características, os valores genotípicos preditos foram bastante variáveis



entres os acessos (3,24 a 19,05 t.ha<sup>-1</sup>), constituindo-se em uma ótima população para seleção dos melhores indivíduos ou uso como parentais para geração de populações segregantes. Nestes casos, haveria uma seleção acurada destes acessos, considerando que a magnitude da acurácia seletiva variou de alta (0,71 a 0,89 em 25 acessos) a muito alta (acima de 0,90 para cinco acessos) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Ordenamento (Ord) dos acessos de mandioca, bem como seu valor genotípico (u+g), nova média (NM), acurácia seletiva (Ac) para produtividade de amido (PROD-AMD).

Ord	Clone	u+g	NM	Ac	Ord	Clone	u+g	NM	Ac
1	BGM1626	19,05	19,05	0,90	16	BGM0279	14,25	15,66	0,89
2	BGM0120	17,93	18,49	0,89	17	BGM2044	14,11	15,57	0,90
3	BGM2020	16,71	17,90	0,71	18	BGM1598	14,09	15,48	0,90
4	BGM1200	16,47	17,54	0,89	19	BGM0165	14,07	15,41	0,87
5	BRS Caipira	15,88	17,21	0,97	20	BGM0937	14,05	15,34	0,89
6	Filha Preta	15,81	16,97	0,71	21	9824-09	14,03	15,28	0,97
7	BGM0892	15,48	16,76	0,89	22	BGM0011	14,02	15,22	0,87
8	BGM0163	15,39	16,59	0,89	23	BGM0337	14,01	15,17	0,89
9	BGM0425	15,25	16,44	0,89	24	BGM0049	13,98	15,12	0,89
10	BGM0823	15,09	16,30	0,89	25	BGM1165	13,94	15,07	0,89
11	BGM0010	14,92	16,18	0,89	26	BGM0303	13,88	15,03	0,89
12	BGM1085	14,86	16,07	0,87	27	BGM0598	13,80	14,98	0,89
13	BGM0394	14,61	15,96	0,89	28	BGM0332	13,79	14,94	0,89
14	BGM0847	14,47	15,85	0,89	29	BGM0276	13,78	14,90	0,87
15	BGM1282	14,35	15,75	0,87	30	BGM0039	13,62	14,86	0,89

Para PROD-AMD, os 30 melhores clones apresentaram valores genotípicos variando de 13,62 a 19,05 t.ha<sup>-1</sup>, com média de 8,51 t.ha<sup>-1</sup>. O ganho genético ao selecionar estes 30 acessos é de 74,62% e 49,95% em relação à média geral dos experimentos e testemunhas, respectivamente (Tabela 5). Dentre as testemunhas, uma variedade (BRS Caipira), um clone (9824-09) e uma

variedade local (Filha Preta) se destacaram entre os acessos mais promissores para PROD-AMD.

De modo geral, para todas as características da qualidade da raiz de mandioca observou-se que os valores genotípicos ( $\mu+g$ ) estão bem próximos da nova média. Isto ocorre porque o método REML/BLUP é o melhor estimador dos valores genotípicos (Resende, 2002a; Klapšřtě et al., 2007; Carvalho et al., 2008; Viana et al., 2012). Além disso, esta metodologia tem como principais vantagens: (a) aplicação em experimentos com dados desbalanceados; (b) não exigir dados obtidos sob estruturas rígidas de experimentação; (c) permitir utilizar simultaneamente um grande número de informações provenientes de vários experimentos, gerando estimativas mais precisas; (d) corrigir os dados para os efeitos ambientais e predizer de maneira precisa e não viciada os valores genotípicos, conduzindo à maximização do ganho genético com seleção (Resende, 2002a).

Um dos pontos de maior preocupação dos melhoristas é a capacidade de acerto na escolha dos melhores genótipos a serem utilizados em cruzamentos para geração de populações segregantes, ou mesmo para seleção *per se*, para uso no sistema de produção. Se o objetivo do programa é promover a recombinação dos melhores genótipos, a seleção deve ser feita com base nos valores genéticos aditivos dos indivíduos. Por outro lado, se o objetivo é clonar o genótipo, a seleção deve ser feita com os valores genotípicos, sendo necessária a obtenção da variância não aditiva. Neste último caso, as inferências sobre os materiais genéticos em experimentos de campo, a fim de se classificar aqueles candidatos a serem lançados como cultivares, não é tarefa fácil, pois essas inferências devem ser baseadas nos verdadeiros valores genotípicos. Ou seja, inferência de genótipos, em qualquer fase de um programa de melhoramento, deve ser baseada em médias genéticas e não fenotípicas, pois as médias genotípicas são as médias futuras quando os cultivares forem plantados em cultivos comerciais (Borges et al., 2010). Neste contexto, o uso de melhores métodos de predição como o BLUP proporciona maior precisão na seleção, e assim aumenta drasticamente a acurácia na avaliação e seleção dos genótipos superiores.

A alta divergência observada em características de qualidade das raízes poderá ser utilizada para ajudar no desenvolvimento de populações segregantes de mandioca com características específicas para uso na alimentação humana, animal ou para fins industriais. Este estudo também revelou novas fontes de baixo teor de compostos cianogênicos e alta produtividade de amido, além de fornecer informações úteis sobre a herança destas características, para melhor planejamento das estratégias de seleção e recombinação nos programas de melhoramento de mandioca.

### **Correlações genéticas**

A correlação genética da característica AML foi superior em magnitude à fenotípica em todas as suas combinações. Para as demais combinações, as correlações fenotípicas foram de maior magnitude (Tabela 6). As correlações fenotípicas podem ser menores que as genéticas, se a correlação ambiental for negativa.

**Tabela 6.** Estimativas do coeficiente de correlação genética ( $r_g$  - acima da diagonal) e fenotípica ( $r_f$  - abaixo da diagonal) em acessos de mandioca para as características teor de amilose (AML), matéria seca (MS), compostos cianogênicos (CCiano) e produtividade de amido (PROD-AMD).

Característica	AML	MS	CCiano	PROD-AMD
AML	-	0,25	-0,10	0,46
MS	0,25	-	0,18	0,36
CCiano	0,05	0,29	-	0,01
PROD-AMD	0,26	0,42	0,05	-

As correlações genotípicas entre as características de qualidade das raízes da mandioca obtidas neste estudo foram, em geral, favoráveis, embora de baixa magnitude. As correlações genéticas ( $r_g$ ) favoráveis entre AML x MS (0,25), AML x PROD-AMD (0,46) e MS x PROD-AMD (0,36) (Tabela 6) indicam que o aumento no teor de matéria seca pode contribuir para elevar a média no teor de amilose das raízes de mandioca, assim como a produtividade de amido. Nenhuma correlação genética importante foi observada para CCiano. Por outro lado, Dixon et al. (1994) relataram que as características CCiano e MS são

negativamente correlacionados com variação de -0,73 a -0,55 dependendo do genótipo e local de avaliação, o que não ocorreu no presente estudo na qual foi observada correlação positiva (0,29).

Embora as correlações genéticas possam quantificar a possibilidade de ganhos indiretos por seleção em características correlacionadas, especialmente para aquelas de baixa herdabilidade, verificou-se no presente trabalho que nenhuma característica de raiz de mandioca pode ser indiretamente selecionada de forma eficiente utilizando outra correlacionada, em função das baixas correlações genéticas.

### **Perspectivas de uso no melhoramento da mandioca**

Na cultura da mandioca, o componente variedade desempenha um papel importante na produção de alimentos diversificados, devido a características inerentes que podem variar com o genótipo (Ceballos et al., 2007; Zhang et al., 2010). Tais características incluem os teores de amilose e amido, compostos cianogênicos e carotenóides, dentre outras. Estas características são trabalhadas nos programas de melhoramento genético, sem se esquecer da produtividade, precocidade, resistência a pragas e doenças e boa adaptabilidade a diferentes regiões de produção. Assim, o aprimoramento de novas metodologias de análise genética, visando incrementar os índices de produtividade e qualidade de amido em mandioca, tem sido cada vez mais importante para garantir a competitividade e sustentabilidade da mandiocultura no Brasil. Segundo Kizito et al. (2007) até recentemente, os programas de melhoramento de mandioca conduziam seus trabalhos sem muito conhecimento da arquitetura genética das principais características sob seleção, o que certamente tende a reduzir a eficiência do melhoramento e os ganhos de seleção.

Além disso, existem outros problemas importantes, a exemplo do longo ciclo de melhoramento da mandioca que dura pelo menos cinco anos, considerando um ano para cada uma das seguintes etapas: avaliação de *seedlings*, ensaio clonal, preliminar e avançado e cruzamentos dos melhores indivíduos. Este longo período é necessário em função da baixa taxa de multiplicação da mandioca (1:6 em média), o que faz com que haja material propagativo suficiente para ensaios com repetição apenas em fases mais avançadas. Portanto, o alto custo das extensivas e demoradas avaliações de

progênies em condições de campo exigem a estimação precisa dos componentes de variância para a predição dos valores genéticos e maximização da acurácia da seleção em programas de melhoramento da mandioca.

Neste processo, a escolha incorreta dos genótipos a serem utilizados nos cruzamentos, ou mesmos daqueles utilizados nos ensaios regionais de avaliação pode ser um problema grave. Neste contexto, o BLUP individual faz a predição dos valores genéticos dos efeitos aleatórios do modelo estatístico associado às observações fenotípicas, ajustando os dados aos efeitos fixos e ao número desigual de informações nas parcelas, por meio de metodologia de modelos mistos (Resende, 2002a). Assim, é esperado que o uso de melhores métodos de predição como o BLUP proporcione maior precisão na seleção, além de reduzir drasticamente o período de avaliação dos genótipos superiores, uma vez que a estimativa dos valores genotípicos pode ser iniciada na fase de *seedling* utilizando informação de famílias.

Na fase de *seedling* são produzidos milhares de indivíduos heterozigóticos únicos, provenientes de hibridações entre genitores selecionados. Assim, a seleção realizada nesta fase para características de baixa herdabilidade individual, a exemplo de AML, não seria indicada. Porém, a seleção seria mais efetiva se praticada com base na informação de famílias, na qual a maior parte da variação fenotípica pode ser explicada pelos componentes genéticos. Por outro lado, de acordo com Latter (1964), quando a herdabilidade excede 0,50, a seleção com base no indivíduo tende a ser superior àquela praticada com base na família. Assim, as estimativas de  $h_g^2$  para PROD-AMD, MS e CCiano, quando aplicada em nível individual nas fases iniciais de melhoramento da mandioca poderão contribuir para a identificação de novas famílias promissoras para estas características, de forma a fornecer maior número de genótipos potenciais, que poderão tornar-se novas cultivares.

## CONCLUSÕES

- 1) Os acessos de germoplasma de mandioca estudados neste trabalho apresentam uma alta variação genética entre eles.

- 2) A característica amilose apresentou uma baixa herdabilidade, sendo necessário a adoção de estratégias para aumentar a eficiência seletiva.
- 3) O método REML/BLUP mostra-se adequado na estimativa de componentes de variância e predição de valores genotípicos, maximizando a acurácia seletiva e a estimação de valores genotípicos, conduzindo a um bom ganho genético com a seleção.

## REFERÊNCIAS

Afoakwa, E.O.; Asiedu, C.; Budu, A.S; Chiwona-Karlton L; Nyirenda DB Chemical composition and cyanogenic potential of traditional and high yielding CMD resistant cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. *Int Food Res J* 19:175-181, 2012.

Aina, O.O.; Dixon, A.G.O.; Akinrinde, E.A. Genetic variability in cassava as it influences storage root yield in Nigeria. *J Biol Sci* 7:765-770, 2007.

Akinwale, M.G.; Akinyele, B.O.; Dixon, A.G.O.; Odiyi, A.C. Genetic variability among forty-three cassava genotypes in three agro-ecological zones of Nigeria. *J Plant Breed Crop Sci* 2:104-109, 2010.

Aryee, F.N.A.; Oduro, I.; Ellis, W.O.; Afuakwa, J.J. The physicochemical properties of flour samples from the roots of 31 varieties of cassava. *Food Control* 17:916–922, 2006.

Borges, V.; Ferreira, P.V.; Soares. L.; Santos, G.M. and Santos, A.M.M. Seleção de clones de batata-doce pelo procedimento REML/BLUP. *Acta Sci Agron* 32: 643-649, 2010.

Carvalho, A.D.F. de; Fritsche Neto, R.; Geraldi, I.O. Estimation and prediction of parameters and breeding values in soybean using REML/BLUP and Least Squares. *Crop Breed Appl Biotechnol* 8:219-224, 2008.

Ceballos, H.; Sanchez, T.; Morante, N.; Fregene, M.; Dufour, D.; Smith, A.; Denyer, K.; Perez, J; Calle, F.; Mestres, C.; Discovery of an amylose-free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J Agric Food Chem* 55:7469-7476, 2007.

Cooke, R.D. Enzymatic assay for determining the cyanide content of cassava and cassava products. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 1979.

Costa, R.B. da; Resende, M.D.V. de; Moraes e Silva, V.S. Experimentação e seleção no melhoramento genético da teca (*Tectona grandis* L.f). *Floresta e Ambiente* 14:76-92, 2007.

Defloor, I.; Dehing, I.; Delcour, J.Á. Physico-chemical properties of cassava starch. *Starch* 8:58-64, 1998.

Dixon, A.G.O.; Asiedu, R.; Bokanga M. Breeding of cassava for low cyanogenic potential: problems, progress and perspectives. *Acta Hort* 375: 153-161, 1994.

Dudley, J.W.; Moll, R.H. Interpretation and use of estimates of heritability and genetic variances in plant breeding. *Crop Sci* 9: 257–262, 1969.

Essers, A.J. Further improving the enzymic assay for cyanogens in cassava products. *Acta Hort* 375:97-104, 1994.

FAO (2013) Agriculture: Cassava. <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/gcnds/#>  
Accessed 14 July 2013

Furlani, R.C.M.; Moraes, M.L.T.; Resende, M.D.V.; Furlani Junior, E.; Gonçalves, P.S.; Valério Filho, W.V.; Paiva, J.R. Estimation of variance components and prediction of breeding values in rubber tree breeding using the REML/BLUP procedure. *Genet Mol Biol* 28:271-276, 2005.

Hiraoka, Y.; Kuramoto, N.; Ohira, M.; Okamura, M.; Taniguchi, T.; Fujisawa, Y. Estimation of genetic data and breeding values of traits related to wax production in *Rhus succedanea* L. clones using the REML/BLUP method. *J For Res* 16:509-517, 2011.

ISO International Organization for Standardization, Norme ISO 6647 (F). Riz – Determination de La teneur en amylose. Switzerland, 1987.

Jansz, E.R.; Uluwaduge, D.I Biochemical aspects of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with special emphasis on cyanogenic glucosides. A review. *J Natn Sc Coun Sri Lanka* 25:1–24, 1997.

Kawano, K. Thirty years of cassava breeding for productivity-biological and social factors for success. *Crop Sci* 43:1325-1335, 2003.

Kawano, K.; FUKUDA, W.M.G.; Cenpukdee, U. Genetic and environmental effects on dry matter content of cassava root. *Crop Sci.* 27: 69-74, 1987.

Kizito, E.B.; Ann-Christin, R.W.; Thomas, E.; Urban, G.; Martin, F., Anna, W. Quantitative trait loci controlling cyanogenic glucoside and dry matter content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots. *Hereditas* 144:129–136, 2007.

Klapště, J.; Lstibůrek, M.; Kobliha, J. Initial evaluation of half-sib progenies of Norway spruce using the best linear unbiased prediction. *J For Sci* 53:41–46, 2007.

Latter, B.D.H. Selection methods in the breeding of cross-fertilized pasture species. In: Barnard C (ed) *Grasses and Grasslands*, MacMillan, London, pp 168-181, 1964.

Moorthy, S.N. Tropical sources of starch. In: Eliasson AC (ed) *Starch in Food*, CRC Press: Boca Raton, FL, pp 321-359, 2004.



Piyachomkwan, K.; Wanlapatit, S.; Chotineeranat, S.; Sriroth, K. Transformation and balance of cyanogenic compounds in the cassava starch manufacturing process. *Starch* 57:71–78, 2005.

Raji, A.A.; Ladeinde, T.A.O.; Dixon, A.G.O. Agronomic traits and tuber quality attributes of farmer grown cassava landraces in Nigeria. *J Agric Trop* 45:9–13, 2007.

Resende, M.D.V. *Genética Biométrica e Estatística no Melhoramento de Plantas Perenes*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 2002a.

Resende, M.D.V. *Software Selegen-Reml/Blup*. Embrapa Florestas, Colombo, 2002b.

Resende, M.D.V.; Barbosa, M.H.P. Selection via simulated BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. *Pesq Agropec Bras* 41:421-429, 2006.

Resende, M.D.V.; Duarte, J.B. Precisão e controle da qualidade de experimentos para avaliação de cultivares. *Pesq Agropec Trop* 37:182-194, 2007

Rickard, J.E.; Asaoke, M.; Blanshard, J.M.V. The physicochemical properties of cassava starch. *Trop Sci* 31:189-207, 1991.

Rodriguez-Amaya, D.B.; Kimura, M. *HarvestPlus handbook for carotenoid analysis*. Washington: IFPRI, 2004.

Viana, J.M.S.; Faria, V.R.; Silva, F.F.; Resende, M.D.V. Combined selection of progeny in crop breeding using best linear unbiased prediction. *Can J Plant Sci* 92:553-562, 2012.

Viana, J.M.S.; Sobreira, F.M.; Resende, M.D.V.; Faria, V.R. Multi-trait BLUP in half-sib selection of annual crops. *Plant Breed* 129:599-604, 2010.

Zhang, P.; Wang, W.Q.; Zhang, G.L.; Kaminek, M.; Dobrev, P.; Xu, J.; Grissem, W. Senescence-inducible expression of isopentenyl transferase extends leaf life, increases drought stress resistance and alters cytokinin metabolism in cassava. *J Integr Plant Biol* 52:653–669, 2010.

## **CAPÍTULO II**

### **VARIABILIDADE GENOTÍPICA PARA CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS À QUALIDADE DA RAIZ DE MANDIOCA<sup>2</sup>**

---

<sup>2</sup> O artigo será submetido ao comitê editorial do periódico científico Scientia Agricola

## **Variabilidade genotípica para características relacionadas à qualidade da raiz de mandioca**

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade das raízes, estimar a variação genética e agrupar o germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), com uso do algoritmo afinidade de propagação (AP). Foram avaliados dados genotípicos de 474 acessos de mandioca, avaliados em dois anos de cultivo, para as características: produtividade de amido (PROD-AMD), teor de matéria seca (MS), amilose (AML) e compostos cianogênicos (CCiano). O algoritmo AP possibilitou a formação de nove grupos de diversidade, cujo número reflete a alta diversidade genética deste germoplasma. Dentro dos grupos, observou-se uma grande homogeneidade das distâncias genéticas, à exceção de dois grupos na qual houve uma parcial sobreposição com os demais, causada sobretudo, pela maior amplitude da característica CCiano. Portanto, não se observou nenhuma relação entre estrutura genética e teor de compostos cianogênicos (mandioca mansa e brava). A análise multivariada de variância dos nove clusters confirmou a presença de diferenças significativas entre os agrupamentos. Assim, os resultados deste trabalho podem ser utilizados em programas de melhoramento por hibridação ou seleção para introduzir nova variabilidade genética em cultivares comerciais, de forma a evitar problemas relacionados à restrição da variação genética e melhorar a qualidade das raízes de mandioca.

**Palavras chave:** *Manihot esculenta* Crantz, germoplasma, recursos genéticos, afinidade de propagação.

## **Genotypic variability for traits related to quality of cassava roots**

**Abstract** – The objective of this study was to evaluate the quality of cassava roots, to estimate the genetic variation and clustering cassava germplasm (*Manihot esculenta* Crantz) using the Affinity Propagation algorithm (AP). Genotypic data of 474 cassava accessions were evaluated in two years for starch yield (StYi), root dry matter (DMC), amylose content (AML), and cyanogenic compounds (CyC). The AP algorithm allowed the formation of nine diversity groups, whose number reflects the high genetic diversity of this germplasm. A great homogeneity of genetic distances were observed within groups, except for two groups in which there was a partial overlap with others caused mainly by higher amplitude of the CyC trait. In addition, no relationship between genetic structure and CyC (sweet and bitter cassava) was observed. Analysis of variance of the nine clusters confirmed the presence of significant differences between groups. Therefore, the results of this work can be used in breeding programs (hybridization or selection) to introduce new genetic variability in commercial cultivars, in order to avoid problems related to narrow genetic variation and to improve the quality of cassava roots.

**Key-words:** *Manihot esculenta* Crantz, germplasm, genetic resource, affinity propagation

## INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura amplamente cultivada em vários países tropicais da África, América Latina e Ásia entre as latitudes 30° N e 30° S (Hahn et al., 1992), cujas coordenadas ainda coincidem com as fronteiras de diversos países em desenvolvimento. Sobretudo para a África Subsaariana, a mandioca é considerada um alimento básico para mais de 800 milhões de pessoas (Lebot, 2009). Associado à: adaptação em solos marginais e de baixa fertilidade; a condições de chuvas irregulares; produtividade relativamente estável; e flexibilidade no processo de colheita, a mandioca possui um grande potencial para ser uma cultura de segurança alimentar e redução da pobreza, em função da sua capacidade de adaptação a sistemas agrícolas tradicionais e ao mesmo tempo sistemas industriais de produção altamente tecnificados de alta performance produtiva.

Embora amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América Latina, a mandioca é originária do continente americano, possivelmente no Brasil Central. Portanto, a maior parte da diversidade genética atualmente utilizada em nível mundial é oriunda do Brasil. O germoplasma de mandioca possui diversas características que são potencialmente úteis às variedades comerciais, a exemplo de características diferenciais de amido (Ceballos et al., 2007), resistência a doenças (Raji et al., 2007) e qualidade de raízes (Chávez et al., 2005). De modo geral, os melhoristas têm a percepção de que a maioria do germoplasma de mandioca possui baixa produtividade de raízes, e, portanto apresenta baixa competitividade, em comparação com variedades melhoradas. Contudo, esta afirmação precisa estar baseada em trabalhos intensivos de avaliação do germoplasma de mandioca para diversos atributos de interesse agrônômico e econômico.

Como estas informações não estão completamente disponíveis, o uso dos recursos genéticos de *M. esculenta* nos programas de melhoramento da mandioca tem sido bastante limitado. Além disso, embora algum progresso tenha sido obtido nas tradicionais avaliações para características agrônômicas, morfológicas e moleculares (Benesi et al., 2010; Duraisamy et al., 2011), estas não necessariamente refletem a diversidade relacionada à qualidade das raízes de mandioca que se constitui em um ponto básico para a determinação do uso,

seja para consumo de mesa ou industrial. Portanto, observa-se que um dos fatores que têm dificultado o desenvolvimento de novas variedades de mandioca é a falta de informações sobre a qualidade das raízes, bem como os detalhes da extensão da diversidade genética do germoplasma brasileiro.

A avaliação dos recursos genéticos, assim como o nível de variação genética da mandioca, são atividades de fundamental importância na elaboração de estratégias ideais de conservação e uso sustentável deste germoplasma na geração de novas variedades, sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade das raízes, de acessos de germoplasma e estimar a variação genética observável para uso no melhoramento desta cultura.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

Foram avaliados 474 acessos de germoplasma pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca (BAG-Mandioca) da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, Brasil), procedentes de vários ecossistemas do Brasil, bem como da Colômbia, Venezuela e Nigéria. Este banco é formado por landraces e variedades melhoradas resultante de procedimentos convencionais de melhoramento, tais como cruzamento e seleção, bem como pela seleção de variedades locais identificadas por agricultores ou instituições de pesquisa.

### **Delineamento experimental**

Foram implantados dois ensaios de campo nos anos de 2011 e 2012 no Setor de Campos Experimentais da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas (BA, Brasil). Em 2011 foi utilizado delineamento experimental de blocos casualizados com três repetições e parcela com 10 plantas e em 2012 foi utilizado delineamento em blocos aumentados com número de acessos distribuídos de forma bastante homogênea em 10 blocos, com parcela de 10 plantas. Como testemunhas do experimento foram utilizadas clones melhorados, porém ainda não recomendados (9624-09, 98150-06 e 9824-09), assim como variedades locais (Aipim Brasil, Cigana e Eucalipto) e variedades recomendadas (BRS Dourada, BRS Gema de Ovo, BRS Verdinha, BRS Tapioqueira e BRS Caipira).

O plantio foi realizado no início do período das chuvas na região (maio a julho) utilizando manivas de 15 a 20 cm em fileiras simples. O espaçamento utilizado foi de 0,90m entre linhas e 0,80m entre plantas e os tratos culturais foram realizados de acordo com recomendações da cultura. A colheita foi realizada aos 11 meses de plantio.

### **Características avaliadas**

*Teor de matéria seca (MS)*: amostras de 100 gramas de raízes, previamente lavadas em água corrente, cortadas em pedaços, descascadas e cortadas em quartos foram trituradas até formar uma massa homogênea, e em seguida foram secas em estufa com circulação de ar forçada a 60°C por 48 horas até a obtenção de peso constante.

*Produtividade de amido (PROD-AMD)*: O teor de amido foi obtido subtraindo a constante 4,65% do valor da MS, que se refere aos teores de cinzas, proteínas, lipídeos e fibras. Em seguida o teor de amido foi multiplicado pela produtividade média do acesso para obtenção da PROD-AMD, em t.ha<sup>-1</sup>.

*Teor de amilose (AML)*: a extração do amido foi realizada manualmente utilizando uma amostra de 500 g de raízes cortadas em pedaços e triturada em liquidificador com hélice não cortante (proporção de 1:1 água/raiz) e em seguida filtrada em peneira de 150 mesh. A suspensão do amido foi mantida em câmara fria à temperatura de 5°C durante 12 h, para decantação. Em seguida, descartou-se o sobrenadante e o amido decantado foi lavado com álcool etílico 95% e colocado para secar em estufa com circulação de ar forçada a 40°C por 48 h. O amido seco foi analisado com relação ao teor de amilose segundo a norma ISO (1987). A amostra de amido foi dispersa em álcool etílico P.A. 95%, gelatinizada com hidróxido de sódio e acidificada com ácido acético. Após a adição de solução de iodo, o complexo formado de coloração azul foi quantificado por espectrofotômetro a 620 nm, modelo SP 220, Biospectro.

*Teor de compostos cianogênicos (CCiano)*: A determinação dos compostos cianogênicos (CCiano), sobretudo glicosídeos cianogênicos,  $\alpha$ -hidroxinitrila e cianeto livre, presente nas amostras foi realizada pela extração destes compostos com posterior reação com cloramina T e isonicotinato 1,3-dimetil barbiturato e determinação espectrofotométrica a 605 nm. Para a liberação do cianeto



glicosídico, utilizou-se a enzima linamarase, a qual foi extraída da entrecasca da raiz de mandioca, segundo Cooke (1979).

### **Estimativa dos valores genotípicos**

Foi realizada análise combinada de diferentes delineamentos experimentais, utilizando modelos para blocos incompletos. Neste caso, todos os blocos são ajustados como efeitos aleatórios, enquanto os efeitos de delineamento foram tratados como fixos, ajustando os experimentos no delineamento de blocos completos e outro nível para os experimentos no delineamento de blocos incompletos. Neste caso, o modelo ajustou o efeito de blocos dentro de cada tipo de delineamento.

O modelo linear misto utilizado para descrever os dados foi  $y = Xb + Zg + Wp + e$  (Resende, 2002), em que  $y$  é o vetor de dados;  $b$  é o vetor de efeitos fixos associados à media geral e efeito de blocos;  $g$  é o vetor de efeitos genéticos aleatórios;  $p$  é o vetor de efeitos aleatórios de parcelas;  $e$  é o vetor de erros aleatórios e  $X$ ,  $Z$  e  $W$  são matrizes de incidência, que associam os parâmetros não conhecidos  $b$ ,  $g$  e  $p$ , respectivamente, ao vetor de dados  $y$ .

A metodologia de modelos mistos permite estimar  $b$  pelo procedimento de mínimos quadrados generalizados, e  $g$  e  $p$  pelo procedimento BLUP (*Best linear Unbiased Prediction*), que prediz os valores dos efeitos genéticos aleatórios e dos efeitos aleatórios não correlacionados incluídos no modelo (Resende, 2002).

### **Diversidade genética e agrupamento**

Os valores genotípicos dos acessos de mandioca, obtidos via BLUP, foram utilizados para calcular a matriz de distância genética utilizando a função *negDistMat ()* do pacote *APCluster* do programa R (R Development Core Team, Vienna, AT). Foram calculadas as distâncias euclidianas negativas, na qual a função *negDistMat ()* fornece as seguintes variantes para computo da distância  $d(x; y)$  de dois acessos  $x = (x_1; . . . ; x_n)$  e  $y = (y_1; . . . ; y_n)$ , onde:

$$d(x, y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2} .$$

O método afinidade de propagação (AP) foi utilizado para promover o agrupamento dos acessos de mandioca. Este procedimento identifica um conjunto de centros (exemplares) a partir do conjunto de dados, levando em consideração cada acesso como um nó na rede, e que de forma recursiva transmite mensagens

de valores reais ao longo dos bordos da rede até que um bom conjunto de exemplares e seu correspondente cluster emerja. Em qualquer momento, a magnitude de cada mensagem reflete a atual afinidade na qual um determinado acesso tem para ser escolhido como novo exemplar do grupo (Frey e Dueck, 2007).

De acordo com Sakellariou et al. (2012) as mensagens trocadas entre os pontos de dados podem ser de dois tipos: 'responsabilidade'  $r(i,k)$ , e 'disponibilidade'  $a(i,k)$ . A 'Responsabilidade' reflete a evidência acumulada de quão adequado o ponto  $k$  pode servir como exemplar para o ponto  $i$ , tendo em conta outros exemplares possíveis para este mesmo ponto. Por outro lado, 'disponibilidade' reflete a evidência acumulada de quão apropriado seria para o ponto  $i$  escolher o ponto  $k$  como o seu exemplar, levando-se em consideração os demais pontos nos quais o ponto  $k$  deveria ser um exemplar. Inicialmente, as disponibilidades são definidas como zero. AP pode ser aplicado a problemas em que as semelhanças não são simétricas nem satisfazem à desigualdade triangular (Frey e Dueck, 2007).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Número de grupos**

Diferentemente de outros métodos de agrupamento, a estratégia implementada pelo AP não requer a estimativa prévia do número de grupos. Ao invés disso, o método AP define o número de exemplares da análise que são representativos da amostra. O AP tem como entrada um valor de similaridade  $s(i,k)$  para cada ponto de dados  $k$ , na qual os dados com maiores valores de  $s(i,k)$  são selecionados como exemplares do cluster. Estes valores são conhecidos como "preferências". Neste caso, o número de exemplares identificados, que na verdade refere-se ao número de grupos, é influenciado tanto pela distância genética de entrada, quanto pelo procedimento de passagem de mensagens (Frey e Dueck, 2007).

Como é possível induzir a definição dos grupos com base no valor de entrada da "preferência", observou-se a formação de nove grupos de diversidade ao se utilizar um input de distância genética de 0,35, calculadas com base nos dados genotípicos das quatro características de qualidade das raízes (Figura 1).

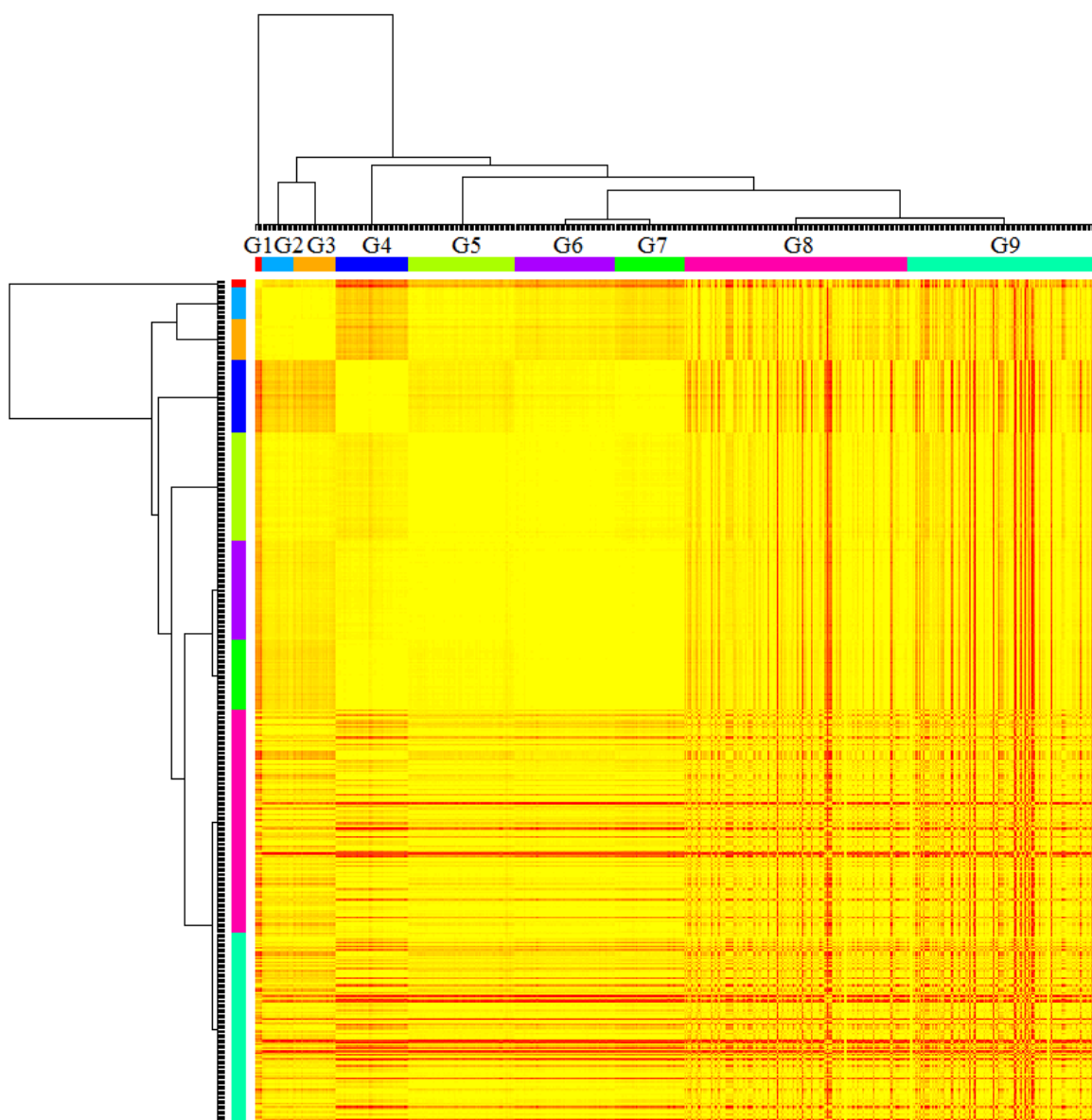
A determinação do número ideal ou aceitável de clusters é um aspecto importante na confiabilidade dos agrupamentos. Este processo envolve basicamente a definição de critérios a serem utilizados para separar os grupos com dois ou mais acessos cuja distância genética seja menor dentro dos grupos em comparação com a distância média geral, e cuja distância entre grupos seja maior do que a distância dentro do cluster envolvido na análise (Brown-Guedira et al., 2000).

De modo geral, observou-se que o método AP permitiu a obtenção de um elevado número de grupos, o que certamente reflete alta diversidade genética do BAG-Mandioca. Em princípio esta afirmação contradiz o que se esperaria de uma espécie propagada predominantemente de forma vegetativa ou assexuada, pois neste caso seria esperada uma maior redução na variabilidade genética ao longo do tempo em função do acúmulo de patógenos sistêmicos e preferência por variedades mais vigorosas, bem adaptadas, com elevada capacidade de produção de manivas. Por outro lado, ao longo da evolução da espécie a sua alogamia permitiu a produção de um grande grupo de sementes voluntárias que sob seleção natural e dirigida pelos agricultores tradicionais foram sendo selecionadas para produzir novas variedades que mantiveram um elevado nível de diversidade genética, ainda mantida em muitas comunidades tradicionais (Elias, 2000).

De fato, considerando que mesmo com alto nível de alogamia e propagação sexuada, os acessos de mandioca são predominantemente mantidos por propagação vegetativa e por isso são altamente heterozigóticos e exibem enorme plasticidade na expressão de características fenotípicas, a exemplo daquelas relacionadas à qualidade de raízes, observada no presente trabalho.

#### **Agrupamento da diversidade genética com base em características da qualidade de raiz da mandioca**

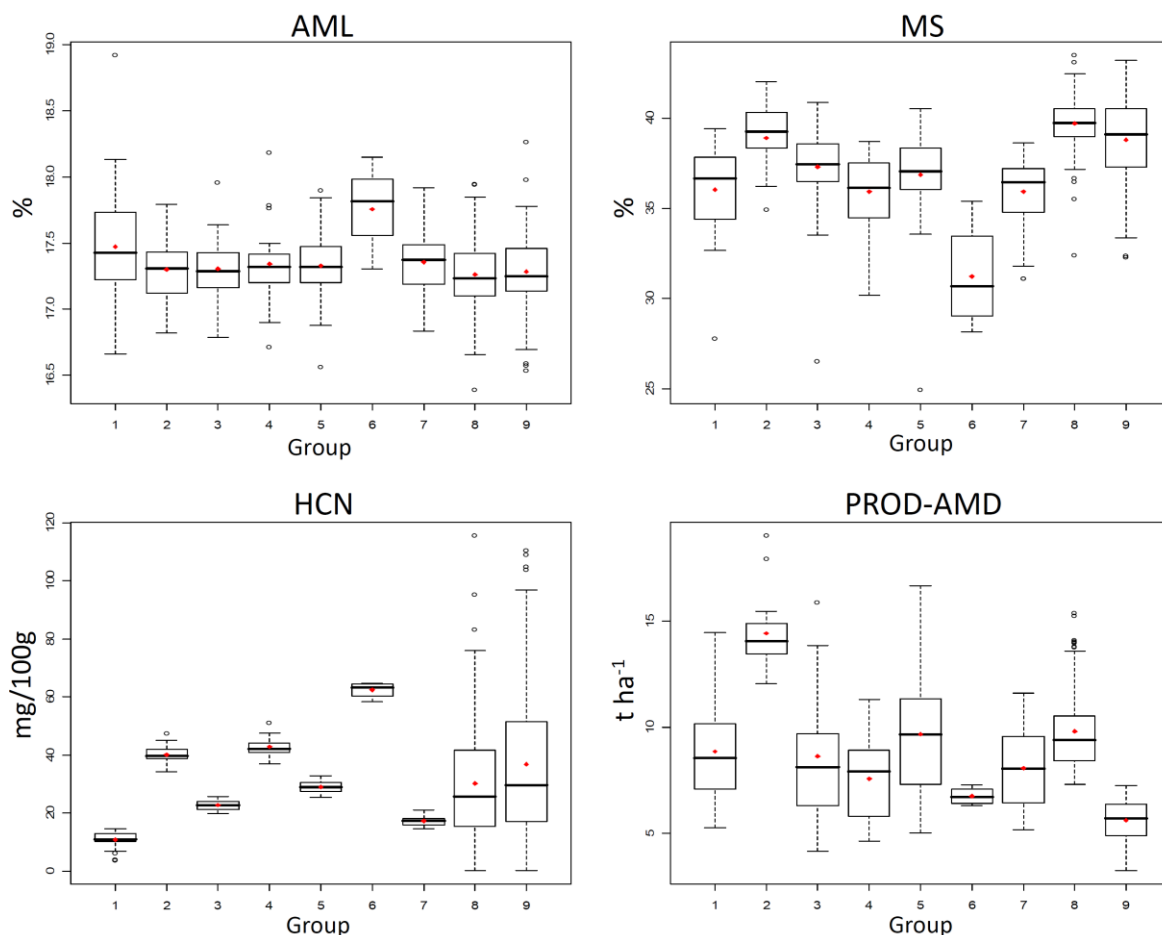
De acordo com o agrupamento hierárquico apresentado na Figura 1, observa-se uma grande homogeneidade das distâncias genéticas dentro da maioria dos grupos, à exceção dos Grupos 8 e 9. Nos quais há uma sobreposição parcial com os demais.



**Figura 1.** Agrupamento hierárquico e *heatmap* da distância genética entre 474 acessos de mandioca, com base em características relacionadas à qualidade das raízes.

O agrupamento hierárquico na forma de *heatmap* foi obtido com base na matriz de distância genética (distância euclidiana negativa) (Figura 1). Assim, o *heatmap* classificou os acessos, levando-se em consideração o perfil de distância de cada acesso quando confrontado com os demais, sendo que a coloração mais avermelhada refere-se a uma maior divergência. O Grupo 1 foi formado por 40 acessos de germoplasma (em sua maioria variedades locais) e pela variedade de mesa BRS Dourada. De acordo com o boxplot deste agrupamento (Figura 2),

observa-se que a característica mais marcante deste grupo foi o baixo teor de compostos cianogênicos, bem como moderada produtividade de amido e teor de matéria seca nas raízes.



**Figura 2.** Análise boxplot das características: teor de amilose (AML), matéria seca (MS), compostos cianogênicos (CCiano) e produtividade de amido (PROD-AMD) entre os nove agrupamentos identificados com base na análise de affinity propagation.

Em um estudo realizado na Nigéria, com variedades locais e melhoradas de mandioca na qual foram utilizadas 18 características agrônômicas e de qualidade de raízes, Raji et al. (2007) observaram que as variedades locais, apresentaram melhor qualidade de raízes e características agrônômicas superiores, além do menor teor de compostos cianogênicos, cuja variação foi de 40,0 mg.Kg<sup>-1</sup> para a variedade local 'Isunikankiyan' e 128,6 mg.Kg<sup>-1</sup> para a cultivar

melhorada (TMS 30572). De modo geral, estes valores foram superiores ao obtido no presente trabalho, porém confirmam que a preferência por mandiocas com teores variados de compostos cianogênicos é bastante diversificada, sobretudo entre os pequenos agricultores, muito embora de modo geral haja predileção por variedades de mesa.

No Grupo 2 foram alocados 18 acessos, cuja principal característica diferencial foi a elevada produtividade de amido e teor de matéria seca nas raízes. Além disso, observa-se teores médios de compostos cianogênicos abaixo de 40 mg.Kg<sup>-1</sup>. Portanto, além do interesse industrial em função das altas produtividades de amido e matéria seca, também observa-se a possibilidade de se utilizar acessos de germoplasma deste grupo para uso como parentais ou variedades para consumo *in natura*, em função dos baixos teores de compostos cianogênicos.

Principalmente para a indústria de amido e fécula, o rendimento de amido é um ponto crucial na escolha das variedades a serem utilizadas no sistema de produção em grande escala, pois é necessário maximizar a eficiência de produção por hectare. Neste sentido, é importante levar em consideração o potencial produtivo da variedade e o seu teor de amido, que se traduzem na produtividade de amido (PROD-AMD). Se considerarmos a produtividade média nacional de aproximadamente 13,0 t.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2013), associado a um teor médio de matéria seca de raízes de 35%, tem-se uma produtividade de amido de cerca de 4,5 t.ha<sup>-1</sup>. Portanto, o uso de acessos de germoplasma do Grupo 2 tende a contribuir para um aumento de mais de 3 vezes na produtividade média nacional de amido.

O Grupo 3 foi constituído por 53 acessos, juntamente com as variedades melhoradas BRS Tapioqueira e BRS Caipira e a variedade local Aipim Brasil, enquanto o Grupo 4 foi formado por 23 acessos de germoplasma e o Grupo 5 por 59 acessos de germoplasma e variedade melhorada BRS Verdinha. O relacionamento mais próximo das variedades BRS Tapioqueira e BRS Caipira certamente está em função da origem destes genótipos, que compartilham um mesmo parental. De modo geral, observa-se que a característica que mais diferenciou estes grupos dos demais foi o teor de matéria seca, compostos

cianogênicos e a produtividade de amido (Figura 2). Além disso, o teor de amilose destes grupos foi bastante homogêneo.

O Grupo 6 constituído por apenas quatro acessos de germoplasma, caracteriza-se pelo maior teor de amilose e compostos cianogênicos (acima de 60 mg.Kg<sup>-1</sup>), menor teor de matéria seca das raízes e de produtividade de amido. Recentemente, os programas de melhoramento genético têm focado não somente no desenvolvimento de cultivares com alta produtividade e estabilidade, mas também que agreguem características de raiz que melhor atendam às diferentes necessidades da indústria de amido. Neste aspecto, é sabido que as propriedades funcionais do amido (viscosidade, índice *swelling* e solubilidade) são alteradas em função do seu teor de amilose. Por exemplo, o amido de mandioca, composto exclusivamente por amilopectina possui uma série de vantagens para vários fins comerciais (Ceballos et al., 2007). Por outro lado, amidos com altos teores de amilose possuem propriedades importantes na indústria de alimentos, para o desenvolvimento de produtos com menor digestibilidade. De modo geral, relatos na literatura demonstram que o teor de amilose em raízes de mandioca varia de 13,6 a 25,0 % (Rickard et al., 1991; Defloor et al., 1998; Moorthy, 2004; Ceballos et al., 2007). No presente trabalho, os valores genotípicos do teor de amilose variaram de 16,39 a 18,92%, sendo que esta variação foi de 17,30 a 18,15% no Grupo 6 (Figura 2). Portanto, os genótipos do Grupo 6 podem ser utilizados em cruzamentos visando ao aumento do teor de amilose, por meio de programas de seleção recorrente.

O Grupo 7 constituído por 39 acessos caracteriza-se por agrupar indivíduos com teores medianos de amilose, matéria seca e produtividade de amido, porém baixos teores de compostos cianogênicos. Por outro lado, o maior dos agrupamentos (Grupo 8) foi constituído por 121 acessos de germoplasma, juntamente com os clones 9624-09, 98150-06, 9824-09 e a variedade local Cigana. Uma característica marcante deste grupo é o alto teor de matéria seca nas raízes, chegando a quase 44% em alguns acessos (Figura 2). Porém, mesmo com alto teor de matéria seca, a produtividade média de amido deste grupo é mediana, possivelmente devido à menor produtividade média de raízes frescas. Além disso, observa-se uma alta amplitude para o teor de compostos

cianogênicos, que certamente não foi uma característica determinante para o agrupamento destes genótipos.

O Grupo 9 foi composto por 106 acessos de germoplasma, uma variedade melhorada (BRS Gema de Ovo) e uma variedade local (Eucalipto). Como características marcantes deste grupo, observa-se os altos valores médios para matéria seca e a maior amplitude desta variável, além da alta amplitude para teor de compostos cianogênicos e a mais baixa produtividade de amido.

De acordo com Jansz e Uluwaduge (1997), com base no teor de compostos cianogênicos as raízes da mandioca podem ser classificadas em três classes, baixa toxicidade ou mandioca mansa ( $< 50 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ), média toxicidade (entre 50 e  $100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e alta toxicidade ou mandioca brava ( $> 100 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ). Assim, observa-se que tanto os Grupos 8 e 9 agruparam acessos classificados nas três classes de toxicidade mencionadas acima, não havendo relação entre estrutura genética e teor de compostos cianogênicos (mandioca mansa e brava). De modo geral, estes resultados corroboram observações de outros autores que indicaram esta baixa relação, sobretudo pelo caráter poligênico desta característica (Benesi et al., 2010).

### **Significância dos agrupamentos**

A análise de variância dos nove clusters identificados pelo método AP indicou a presença de pelo menos uma diferença significativa entre os agrupamentos ( $p < 0,001$ ) para todas as quatro características avaliadas (Tabela 1), o que corrobora os dados do boxplot dos dados de cada cluster (Figura 2). Além disso, a análise multivariada de variância (MANOVA) dos nove grupos de diversidade do germoplasma de mandioca contra as quatro variáveis quantitativas produziram um Wilks' lambda significativo de 0,22 ( $F_{32, 1619} = 25,00$ ,  $p < 0,001$ ). Portanto, os nove grupos de acessos de germoplasma de mandioca identificados pela análise de cluster AP, considerando as características da qualidade da raiz, são consistentemente diferentes.

Estas informações têm importantes implicações na conservação das coleções de germoplasma, pois em função dos limitados recursos financeiros aplicados nas atividades de rotina da maioria dos bancos de germoplasma, em muitas situações é necessário priorizar as ações de caracterização e avaliação do germoplasma, que neste caso poderia ser feita em acessos pertencentes a



diferentes clusters. Além disso, a classificação do germoplasma de mandioca com base na qualidade das raízes pode contribuir para a seleção de acessos a serem utilizados em programas de melhoramento de mandioca, sobretudo por otimizar as oportunidades de segregação transgressiva a partir de cruzamentos entre genótipos pertencentes a diferentes grupos de ampla divergência, considerando que há uma maior probabilidade de genótipos não relacionados pertencentes a diferentes clusters contribuírem com alelos únicos e desejáveis em diferentes loci (Beer et al., 1993).

**Tabela 1.** Análise de variância dos nove grupos de diversidade genética identificados com base na avaliação de características de qualidade da raiz em 474 acessos de germoplasma e variedades de mandioca.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		AML	MS	HCN	PROD-AMD
Grupos	8	0,26**	144,66**	4865,94**	235,68**
Resíduos	465	0,08	4,07	305,21	4,07

### **Considerações para o melhoramento genético**

Com o aumento no número de genótipos melhorados e acessos de germoplasma utilizados em programas de melhoramento de mandioca, o uso de algoritmos de ordenamento e classificação da variabilidade genética tem ganhado destaque nas ações de pré-melhoramento ou preparação dos parentais para serem utilizados em blocos de cruzamentos. De modo geral, o uso de algoritmos multivariados, que permitem a análise simultânea de múltiplas características agrônômicas, independentemente do conjunto de dados (morfológicos, agrônômicos, bioquímicos e moleculares), é amplamente difundido para a classificação de germoplasma, ordenação da variabilidade genética para um grande número de acessos, ou análise das relações genéticas entre os genótipos melhorados (Mohammadi e Prasanna et al., 2003).

Dentre os diversos algoritmos multivariados, a análise de cluster, análise de componentes principais (PCA), análise de coordenadas principais (PCoA) e escalonamento multidimensional (MDS) são comumente empregados e parecem particularmente úteis em plantas (Mohammadi e Prasanna et al., 2003). Por outro

lado, mesmo sendo ainda desconhecida no melhoramento vegetal, talvez por ser uma técnica bastante recente, a análise de AP possui propriedades bastante interessantes para lidar com múltiplas características.

O grande potencial de uso do algoritmo AP para agrupamento de dados foi demonstrado em uma série de áreas do conhecimento, desde análise de imagens de faces humanas até a expressão gênica em diversos organismos (Frey e Dueck, 2007; Sumedha e Weigt, 2007; Borile et al., 2011), incluindo plantas (Kiddle et al., 2010). De modo geral, observou-se que o algoritmo AP revela de forma eficiente a estrutura hierárquica de agrupamento presentes nos diversos tipos de conjuntos de dados.

Em mandioca, as informações obtidas com a análise de agrupamento AP indicaram uma grande variação, sobretudo nas características teor de compostos cianogênicos, matéria seca de raiz e produtividade de amido, o que fornece um amplo escopo para o melhoramento desta cultura por meio de hibridação e seleção. Estudos sobre a avaliação da qualidade de raízes de mandioca e variação genética de grande número de acessos de germoplasma não foram previamente realizados no Brasil. Isto dificulta o engajamento com a política atual de sistemas agrícolas sustentáveis, na qual é preciso utilizar os componentes da diversidade de maneira adequada e num ritmo que evite a redução da diversidade no médio e longo prazo. Adicionalmente, o que se observa no cenário atual da mandiocultura nacional, sobretudo nos sistemas agrícolas de uso intensivo de tecnologias, é o uso de um número bastante restrito de cultivares de mandioca, que certamente compartilham ancestrais comuns e que por isso reduzem a diversidade alélica disponível no sistema de produção.

O Brasil como possível região de origem e diversidade da mandioca deve conservar, caracterizar e avaliar seus recursos genéticos de forma adequada, para que os mesmos possam efetivamente ser utilizados para o desenvolvimento de novas cultivares. Assim, o melhoramento por hibridação ou seleção entre acessos dos grupos estabelecidos no presente trabalho pode contribuir para introduzir nova variabilidade genética para evitar problemas relacionados à restrição da variação genética e contribuir para a melhoria da qualidade das raízes de mandioca.

## CONCLUSÕES

- 1) Os dados genotípicos relativos à qualidade de raízes de mandioca permitiram a classificação do germoplasma de mandioca em nove clusters que refletem diferenças significativas importantes de acordo com a análise multivariada de variância.
- 2) As características produtividade de amido, teor de compostos cianogênicos e matéria seca nas raízes foram as que mais contribuíram para a diferença entre os clusters, sendo fundamentais para outros estudos desta natureza em mandioca.
- 3) Os resultados obtidos fornecem um suporte para a utilização da técnica de afinidade de propagação como um método de agrupamento da diversidade genética em coleções de germoplasmas vegetais.
- 4) Acessos pertencentes ao Grupo 2 apresentaram as melhores características para uso em programas de hibridação e seleção.

## REFERÊNCIAS

- BEER, S.C.; GOFFREDA, J.; PHILLIPS, T.D.; MURPHY, J.P.; SORRELLS, M.E. Assessment of genetic variation in *Avena sterilis* using morphological traits, isozymes, and RFLPs. **Crop Science**, v.33, p.1386-1393, 1993.
- BENESI, I.R.M.; LABUSCHAGNE, M.T.; HERSELMAN, L.; MAHUNGU, N. Ethnobotany, morphology and genotyping of cassava germplasm from Malawi. **Journal of Biological Sciences**, v.10, p.616-623, 2010.
- BORILE, C.; LABARRE, M.; FRANZ, S.; SOLA, C.; REFRÉGIER, G. Using affinity propagation for identifying subspecies among clonal organisms: lessons from *M. tuberculosis*. **BMC Bioinformatics**, v.12, p.224, 2011.
- BROWN-GUEDIRA, G.L.; THOMPSON, J.A.; NELSON, R.L.; WARBURTON, M.L. Evaluation of genetic diversity of soybean introductions and North American ancestors using RAPD and SSR markers. **Crop Science**, v.40, p.815–823, 2000.

CEBALLOS, H.; SÁNCHEZ, T.; MORANTE, N.; FREGENE, M.; DUFOUR, D.; SMITH, A.M.; DENYER, K.; PÉREZ, J.C.; CALLE, F.; MESTRES, C. Discovery of an amylose - free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.7469-7476, 2007.

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

COOKE, R.D. Enzymatic assay for determining the cyanide content of cassava and cassava products. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 1979. 14p.

DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. A. Physico-chemical properties of cassava starch. **Starch**, v.50, p.58-64, 1998.

DURASAMY, R.; RATHINASAMY, S.A.; NATESAN, S.; MUTHURAJAN, R.; RAMINENI, J.J.; KARUPPUSAMY, N.; LAKSHMANAN, P.; CHOKKAPPAN, P.; GANDHI, K. Starch content and cassava mosaic disease genetic diversity with relation to yield in South Indian cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v.14, p.179-189, 2011.

ELIAS, M.; PANAUD, O.; MCKEY, D.B.; ROBERT, T. Traditional cultivation of cassava among Amerindians: consequences on genetic diversity assessed with AFLP markers. In: CASSAVA BIOTECHNOLOGY: INTERNATIONAL SCIENCE MEETING OF THE CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK. 4, 2000, Brasília. **Proceedings**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), 2000, p.111-117.

FREY, B.J.; DUECK, D. Clustering by passing messages between data points. **Science**, v.315, p.972–976, 2007.

HAHN, S.K.; REYNOLDS, L.; EGBUNIKE, G.N. Cassava as livestock feed. In: AFRICA: PROCEEDINGS OF THE IITA/ILCA/UNIVERSITY OF IBADAN WORKSHOP ON THE POTENTIAL UTILIZATION OF CASSAVA AS LIVESTOCK FEED IN AFRICA.1, 1988, Ibadan. **Proceedings**. IITA, 1992, p.14-18.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agropecuária**. 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/IBGE/>>. Acesso em: 25 nov. 2013.

ISO. International Organization for Standardization. Norme ISO 6647 (F). Riz – Determination de La teneur em amylose. Switzerland, 1987.

JANSZ, E.R.; ULUWADUGE, D.I. Biochemical aspects of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) with special emphasis on cyanogenic glucosides. A review. **Journal of the National Science Council of Sri Lanka**, v.25, p.1-24, 1997.

KIDDLE, S.J.; WINDRAM, O.P.F.; MCHATTIE, S.; MEAD, A.; BEYNON, J.; BUCHANAN-WOLLASTON, V.; DENBY, K.J.; MUKHERJEE, S. Temporal clustering by affinity propagation reveals transcriptional modules in *Arabidopsis thaliana*. *Bioinformatics*, v.26, p.355–362, 2010.

LEBOT, V. Tropical root and tuber crops, cassava, sweet potato, yams and aroids. *Crop Production Science in Horticulture*, CABI, Wallingford, 2009, 432p.

MOHAMMADI, S.A.; PRASANNA, B.M. Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants - Salient Statistical Tools and Considerations. **Crop Science**, v.43, p.1235–1248, 2003.

MOORTHY, S.N. Tropical sources of starch. In: ELIASSON, A.C. (Ed.). **Starch in Food**. Boca Raton, FL, CRC Press, 2004, p.321-359.

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

RAJI, A.A.; LADEINDE, T.A.O.; DIXON, A.G.O. Agronomic traits and tuber quality attributes of farmer grown cassava landraces in Nigeria. **Journal of Tropical Agriculture**, v.45, p.9-13, 2007

RESENDE, M.D.V. de. Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975p.

RICKARD, J.E.; ASAOKE, M.; BLANSHARD, J.M.V. The physicochemical properties of cassava starch. **Tropical Science**, v.31, p.189-207, 1991.

SAKELLARIOU, A.; SANOUDOU, D.; SPYROU, G. Combining multiple hypothesis testing and affinity propagation clustering leads to accurate, robust and sample size independent classification on gene expression data. **BMC Bioinformatics**, v.13, p.270, 2012.

SUMEDHA, M.L.; WEIGT, M. Clustering by soft-constraint affinity propagation: applications to gene-expression data. **Bioinformatics**, v.23, p.2708–2715, 2007.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstraram a existência de uma grande diversidade genética nos acessos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em relação às características de qualidade de raiz. Portanto, é possível obter progresso genético para qualidade de raízes de mandioca utilizando estes acessos como parentais em programas de melhoramento. Contudo, o sucesso da seleção, sobretudo nas fases iniciais do programa será bastante variável para cada característica, considerando que a estimativa de herdabilidade individual no sentido amplo variou bastante, sendo de baixa magnitude para teor de amilose (AML), magnitude mediana para produtividade de amido (PROD-AMD) e teor de matéria seca (MS), e elevada para teor de compostos cianogênicos (CCiano). Exemplificando, os ganhos genéticos com a seleção dos 30 melhores genótipos para cada uma das características foi de 4,8 e 3,2% para aumento e redução de AML, respectivamente; aumento de 10,75% para MS e 74,62% para PROD-AMD, e redução de 89,60% para CCiano, em relação à média geral dos valores genotípicos. Outros parâmetros genéticos importantes como as correlações genotípicas entre as características de qualidade das raízes da mandioca indicam que de modo geral as associações são favoráveis, embora de baixa magnitude.

A análise de agrupamento com base no uso do algoritmo afinidade de propagação (AP) mostrou-se bastante promissora para a formação de grupos de acessos com características genéticas similares em termos de qualidade de raízes. Isto pôde ser evidenciado pela alta homogeneidade intragrupo e presença de diferenças significativas entre os nove agrupamentos com base na análise multivariada de variância. As informações obtidas com estas análises assumem grande importância em estudos de manejo, conservação e uso de germoplasma de mandioca, além de se constituir em ferramentas importantes para escolha de parentais para maximizar as chances de geração de populações segregantes altamente contrastantes.