

Indicação Geográfica da Farinha de Cruzeiro do Sul: prospecção da diversidade de mandioca com uso de marcadores moleculares

Geographical Indications of Cruzeiro do Sul Cassava Flour: prospection of cassava diversity using molecular markers

José Marlo Araújo de Azevedo¹

Hellen Sandra Freires da Silva Azêvedo²

Tatiana de Campos³

Tegila Cristina de Paula Enes¹

¹Instituto Federal do Acre, Cruzeiro do Sul, AC, Brasil

²Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio Branco, AC, Brasil

Resumo

Conhecer e conservar as variedades de mandioca da Região do Vale do Juruá, que tem a Identificação Geográfica (IG) da farinha de mandioca, e montar uma coleção são necessários para que haja a manutenção do recurso genético. O objetivo deste artigo foi prospectar a diversidade genética de mandioca, que detém a IG da farinha de Cruzeiro do Sul visando à implantação de uma coleção de germoplasma. Foram realizadas coletas de 24 variedades. Para a extração de DNA, foram coletadas folhas jovens e utilizados dez marcadores microssatélites. Foram utilizados também os parâmetros: heterozigosidade observada, esperada e número de alelos por loco. As distâncias genéticas pela matriz de Rogers modificado foram utilizadas para a elaboração do dendrograma. Detectou-se 39 alelos e foram observadas duplicatas entre as variedades. Concluiu-se que há grande diversidade de variedades de mandioca cultivadas *in situ* pelos agricultores rurais do Vale do Juruá, região que detém a IG da farinha de mandioca de Cruzeiro do Sul.

Palavras-chave: Farinha de Mandioca. Indicação Geográfica. *Manihot esculenta*. Vale do Juruá.

Abstract

Knowing and conserving cassava varieties from the Vale do Juruá region that have the Geographical Identification (GI) of cassava flour and assembling a collection is necessary for the maintenance of the genetic resource. The objective was to prospect the genetic diversity of cassava that has the GI of Cruzeiro do Sul flour in order to establish a germplasm collection. Collections of 24 varieties were carried out. For DNA extraction, young leaves were collected. Ten microsatellite markers were used. The following parameters were used: observed and expected heterozygosity and number of alleles per locus. Genetic distances were used by the modified Rogers matrix for the elaboration of the dendrogram. 39 alleles were detected. Duplicates were observed between the varieties. It was concluded that there is a great diversity of cassava varieties cultivated *in situ* by rural farmers in the Vale do Juruá region, that holds the GI of cassava flour from Cruzeiro do Sul.

Keywords: Cassava flour. Geographical indication. *Manihot esculenta*. Vale do Juruá.

Área Tecnológica: Prospecções Tecnológicas de Assuntos Específicos. Propriedade Intelectual, Inovação e Desenvolvimento. ProspeCT&I.



1 Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é o principal alimento das populações locais na Amazônia, tendo importante papel econômico, social e cultural. O cultivo da mandioca no Vale do Juruá, Acre, é comumente praticado por pequenos produtores com a finalidade de produção de farinha, sendo ela considerada o principal produto da região. No Vale do Juruá, os genótipos de mandioca mais utilizados são provenientes do processo de seleção feito informalmente pelos agricultores, com nomenclaturas populares, que podem variar entre os produtores locais (EMPERAIRE *et al.*, 2003).

Sabe-se que a caracterização de variedades da mandioca pode ser realizada, usando caracteres agronômicos, morfobotânicos e por meio de análises moleculares do DNA. Em condições de campo, os agricultores diferenciam as variedades de mandioca pelas características morfológicas relacionadas às raízes, parte aérea e uso “alimentação *in natura* ou produção de farinha”. Um critério muito utilizado pelos agricultores locais, ribeirinhos e caboclos é a divisão das variedades de acordo com a concentração do ácido cianídrico em: mandioca brava (destinada à produção de farinha) e a mandioca mansa (consumo *in natura*, pelos familiares e na alimentação de animais domésticos) (FUKUDA; GUEVARA, 1998).

No Brasil, existem alguns bancos nos quais é conservado o germoplasma de mandioca, como o banco localizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, Bahia) e no Instituto Agronômico em Campinas (IAC, São Paulo), que conservam cerca de quatro mil genótipos do gênero *Manihot* (EMBRAPA, 2006).

Apesar da diversidade genética de *M. esculenta* se manter elevada na Amazônia, as condições que geraram a sua criação e conservação estão se modificando drasticamente devido à expansão de modelos de agricultura que não privilegiam a diversidade, resultando na perda da variabilidade genética das etnovariedades da mandioca (EMPERAIRE, 2002).

Segundo Clement *et al.* (2016), em relação à perda da variabilidade genética da cultura da mandioca na Amazônia, ainda existe alta riqueza em variedades, que foram domesticadas há muitos anos pelos povos da floresta, caboclos, indígenas e ribeirinhos. Em estudo realizado no rio Negro, foi observado que o número de variedades de mandioca cultivadas em uma comunidade caiu pela metade em dez anos, com 66 variedades recenseadas, em 1996 (EMPERAIRE; ELOY; SEIXAS, 2016). Já em estudos no Acre, verificou-se que a agrobiodiversidade da mandioca, na Região do Vale do Juruá, é uma estimativa sempre baixa, característica esta associada ao reduzido número de expedições de coletas da espécie visando à descrição, caracterização e conservação do material vegetal (EMPERAIRE, 2002).

Conhecida regionalmente como farinha de mandioca de Cruzeiro do Sul, produto da agricultura familiar do Estado, essa farinha hoje se destaca por ultrapassar os limites regionais e passa a ter notoriedade e ampla aceitação pelo consumidor em diversas capitais do Brasil. Com esse reconhecimento, o país passou a ter a primeira Indicação Geográfica (IG) para o produto “farinha de mandioca”, e o Estado do Acre, o primeiro produto com concessão desse registro (SOUZA *et al.*, 2017; AZEVEDO *et al.*, 2020; CRUZ *et al.*, 2021).

Com isso, são necessários estudos com intuito de ampliar o conhecimento das variedades de mandioca para a manutenção e preservação da variabilidade genética relacionadas à IG. Portanto, realizar expedições de coletas e uso de tecnologias moleculares com capacidade de distinguir diferentes genótipos torna-se uma ferramenta indispensável, considerando que a mandioca é uma cultura propagada vegetativamente e sua conservação *in situ* pelos agricultores rurais é mantida em condições de campo nos roçados de produção. A identificação das redundâncias das variedades poderá contribuir nos programas de manutenção de coleção de germoplasma e na utilização desses genótipos em programas de melhoramento, evitando os cruzamentos entre as duplicatas. Este estudo tem por objetivo prospectar a diversidade genética de mandioca, que detém a Indicação Geográfica da farinha de Cruzeiro do Sul, visando à implantação de uma coleção de germoplasma dessas variedades na área experimental do Instituto Federal do Acre, *Campus Cruzeiro do Sul*.

2 Metodologia

O estudo foi realizado nos anos de 2020-2021 na região do Vale do Juruá, Acre, Amazônia Ocidental, a qual fazem parte os municípios de Mâncio Lima, Cruzeiro do Sul, Rodrigues Alves, Porto Walter e Marechal Thaumaturgo (CRUZ *et al.*, 2021).

Inicialmente, foi realizado o estudo bibliográfico sobre o histórico da indicação geográfica da farinha de Cruzeiro do Sul. Posteriormente, foram realizadas cinco expedições em propriedades rurais dos municípios de Mâncio Lima e Cruzeiro do Sul nos locais de produção de mandioca que detêm o selo de “Indicação de Procedência da farinha de mandioca de Cruzeiro do Sul”. Durante as expedições, a equipe de pesquisadores visitou 50 propriedades de produção e realizou uma conversa com os produtores. Na oportunidade, os produtores responderam um questionário com informações sobre as variedades produzidas. Ainda durante a visita, os pesquisadores coletaram material vegetal, folhas (para análise molecular) e ramos (para a propagação e implantação da coleção de mandioca na área experimental do IFAC, *Campus Cruzeiro do Sul*). Em cada propriedade foram realizadas as coletas das coordenadas geográficas com aparelho GPS portátil Garmin GPSMap 64sx.

Durante as visitas nas propriedades, as folhas de mandioca coletadas foram armazenadas em sílica em gel. Para a extração de DNA, foram coletadas três folhas jovens recém-expandidas de uma única planta de cada variedade identificada pelo produtor. Ao chegar ao laboratório, as folhas foram liofilizadas e depois trituradas em moinho no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular.

O DNA genômico total foi extraído e, para isso, foi usado o protocolo descrito por Hoi-sington *et al.* (1994) modificado. O DNA foi quantificado em gel de agarose (1%), sendo usando o DNA fago lambda em diferentes quantidades (50, 100 e 200 ng) como marcador padrão. O DNA genômico foi diluído para $5 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. Dez marcadores microssatélites descritos por Chavarriaga-Aguirre *et al.* (1998) e Mba *et al.* (2001) foram escolhidos para a realização da amplificação (Tabela 1). A escolha se deu, considerando que em estudos anteriores esses marcadores apresentaram resultados favoráveis na caracterização de variedades de mandioca (CHAVARRIAGA-AGUIRRE *et al.*, 1998; MBA *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2021).

Tabela 1 – Sequência dos dez *primers forward e reverse* utilizados com suas respectivas temperaturas de anelamento (Ta °C) e amplitudes alélicas (pb)

LOCO MICROSSATÉLITE	SEQUÊNCIA DO PRIMER (5' – 3')	TA (°C)	AMPLITUDE ALÉLICA (PB)***
SSRY13**	F: GCAAGAATTCCACCAGGAAG R: CAATGATGGTAAGATGGTGCAG	55	193-245
GA-131*	F: TTCCAGAAAGACTTCCGTTCA R: CTCAACTACTGCACTGCACTC	55	75-119
GA-127**	F: CTCTAGCTATGGATTAGATCT R: GTAGCTTCGAGTCGTGGAGA	45	203-239
GA-57	F: AGCAGAGCATTTACAGCAAGG R: TGTGGAGTTAAAGGTGTGGAATG	55	153-183
GA-12*	F: GATTCCTCTAGCAGTTAAGC R: CGATGATGCTCTTCGGAGGG	55	131-157
GA-126*	F: AGTGGAATAAGCCATGTGATG R: CCCATAATTGATGCCAGGTT	55	178-214
GA-134*	F: ACAATGTCCCAATTGGAGGA R: ACCATGGATAGAGCTCACCG	55	309-337
GA-136*	F: CGTTGATAAAGTGGAAAGAGCA R: ACTCCACTCCCGATGCTCGC	55	145-161
GAGG5*	F: TAATGTCATCGTCGGCTTCG R: GCTGATAGCACAGAACACAG	55	109-127
SSRY89**	F: AGTTGAGAAAACCTTGCATGAG R: GGCTGTTCGTGATCCTTATTAAC	55	120

***pb = pares de base.

Fonte: *Chavarriga-Aguirre *et al.* (1998) e **Mba *et al.* (2001)

As reações de amplificação dos fragmentos de DNA foram feitas de acordo com o descrito no estudo de Costa *et al.* (2021). Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel desnaturante de poliácridamida (5%). A coloração do gel foi realizada, utilizando-se nitrato de prata (CRESTE; TUMANN; FIGUEIRA, 2001). A interpretação dos fragmentos amplificados foi realizada por meio de comparação com marcador de peso molecular padrão (10 pb ladder – Life Technologies).

Foram estimados os seguintes parâmetros de diversidade genética: Heterozigosidade observada (H), Heterozigosidade esperada (H), Número de alelos (N) por loco pelo programa GDA versão 1.1 (LEWIS; ZAYKIN, 2001). O número médio de alelos por loco foi obtido pela divisão do número total de alelos e o número total de loco.

As distâncias genéticas foram calculadas, empregando-se a matriz de distância genética de Rogers modificada (WRIGHT, 1978), e o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean*) foi utilizado para construção do dendrograma, ambas as análises foram adquiridas pelo programa TFPGA versão 1.3.

Para determinar a coleção nuclear, foi utilizado o *software* CoreFinder 1.0 (POLICRITI; SGARRO, 2011), com base na estratégia M, mantendo 100% dos alelos. Essa estratégia utiliza simulações de Monte Carlo para selecionar um grupo de genótipos com maior riqueza alélica (GOUESNARD *et al.*, 2001).

3 Resultados e Discussão

Segundo Souza *et al.* (2015), o Território da Cidadania do Vale do Juruá, Acre, está localizado na Região Oeste do Estado do Acre e, nessa região, observa-se que o cultivo de mandioca é voltado para três formas de consumo: i) farinha feita com a mandioca brava, alto teor de ácido cianídrico (acima de 100mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca); ii) amido, também denominado goma e/ou polvilho; iii) consumo fresco, ou *in natura*, “mandioca mansa” raízes de mandioca, cujo teor de HCN é de 50 ppm ou menos (mandioca mansa, macaxeira ou aipim).

Assim, segundo Souza *et al.* (2015) e Cruz *et al.* (2021), a cadeia de produção da mandioca constitui um dos objetos de atenção dos órgãos de governo, com destaque para a produção da farinha, por seu processo tradicional de fabricação passado de pais para filhos e por ser de boa qualidade, granulometria uniforme, boa crocância, bem torrada e sabor inconfundível. Por essas características, foi outorgada pelo Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), com publicação em 22 de agosto de 2017, e, desde então, integrantes de cooperativas da Central Juruá podem usar o selo e registrar nos rótulos de sua farinha a expressão “Indicação de Procedência Cruzeiro do Sul”.

Durante as expedições, foram coletados 24 genótipos de mandioca, que, segundo a descrição dos produtores locais, classificavam-se como variedades diferentes. Durante as visitas, foram registradas imagens do material coletado, como folhas, ramas e raiz, visando ao registro das características, como forma e cor (Figura 1).

Figura 1 – Material coletado durante as expedições nos locais de produção de mandioca em Mâncio Lima e Cruzeiro do Sul (Figura A – folha com talo vermelho; Figura B – folha com talo branco; Figura C – raiz da mandioca)



Fonte: Resultados da Pesquisa

Durante as coletas, foi possível verificar que os materiais apresentavam diferentes características morfológicas (Figura 2) e, por isso, os produtores com base nessas características faziam a classificação dos materiais “nome da variedade”. Contudo, foi possível observar que em alguns momentos as variedades, apesar de apresentarem as mesmas características, eram classificadas com outro nome pelos agricultores, por isso, a necessidade de realizar uma análise molecular.

É possível encontrar relatos em vários estudos sobre a variabilidade apresentada pela mandioca, utilizando-se dados morfológicos. Vieira *et al.* (2008) analisaram 356 genótipos de

mandioca do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados e utilizaram 27 descritores para estimar a variabilidade genética. Já Campos *et al.* (2010) aplicaram 28 descritores para quantificar a variabilidade em 53 genótipos de *M. esculenta* da Universidade do Estado de Mato Grosso.

Figura 2 – Variabilidade morfológica das variedades de mandioca nos locais de produção de mandioca em Mâncio Lima e Cruzeiro do Sul (Figura A – variedade de mandioca usada para produção de farinha; Figura B – raiz de mandioca com mais 1,3 m de comprimento; Figura C – área de produção de mandioca, roçado amazônico; Figura D – variedade de mandioca com mais de 2,0 m de altura “variedade altona”)



Fonte: Resultados da pesquisa

A partir da coleta das ramas de mandioca nas propriedades rurais, foi realizada a implantação da coleção de mandioca na área experimental do Instituto Federal do Acre, *Campus Cruzeiro do Sul* (Figura 3), visando à prospecção de estudos para o conhecimento mais aprofundado do material genético da mandioca utilizada na produção de farinha da região do Vale do Juruá, que detém a indicação geográfica.

Figura 3 – Implantação das variedades de mandioca na área experimental do IFAC, *Campus Cruzeiro do Sul*



Fonte: Resultados da pesquisa

Os bancos e coleções de germoplasma conservam a variabilidade genética, com o propósito de evitar a perda de genes ou de combinações gênicas, assegurando uma ampla base genética para programas de melhoramento. Outra finalidade dos bancos é a coleta de material cultivado e silvestre, a caracterização botânico-agronômica e a responsabilidade de promover a introdução e intercâmbio destes recursos (FUKUDA; GUEVARA, 1998).

Com base nas expedições e visitas aos locais de cultivos, “roçado de mandioca”, foi possível observar que os sistemas de cultivo e produção das etnovarietades são baseados em técnicas tradicionais de cultivos. Em pesquisas realizadas por Azevedo *et al.* (2020) e Cruz *et al.* (2021), os autores relataram que a produção de farinha é uma atividade familiar, e a grande maioria das casas de farinha no Vale do Juruá classificam-se como artesanalmente simples. Eles relatam também que a estrutura é basicamente com pouca ou nenhuma utilização de insumos, apresentando ainda baixo nível de investimento de capital (AZEVEDO *et al.*, 2020; CRUZ *et al.*, 2021). A identificação das variedades de mandioca “nome regional” realizada pelos agricultores locais foi mantida para cada variedade (Tabela 2).

Tabela 2 – Genótipos de mandioca (*Manihot esculenta*) coletados no Vale do Juruá

N.	IDENTIFICAÇÃO DE CAMPO	VARIETADE	COORDENADA GEOGRÁFICA		
1	P001	Mansa Brava	18M	727229	9161349
2	P001	Amarelinha – Talo Vermelho	18M	727229	9161349
3	P001	Juriti – amarelinha – Talo Verde	18M	727230	9161349
4	P002	Branquinha	18M	726381	9162142
5	P003	Chico Anjo	18M	720457	9163997
6	P003	Buceta Boa	18M	720457	9163997
7	P003	Curimenzinha	18M	720457	9163997
8	P003	Parafuso	18M	720457	9163997
9	P003	6 meses	18M	720457	9163997
10	P003	Pretona	18M	720457	9163997
11	P005	Amarelinha Roxa	18M	730417	9156805
12	P005	Rasgadinha – na parte superior talo verde e vermelho na parte inferior talo verde	18M	730417	9156805
13	P005	Altona	18M	730417	9156805
14	P005	Baixinha - Mato Grosso	18M	730417	9156805
15	P005	Sem nome	18M	730417	9156805
16	P005	Amarela	18M	730417	9156805
17	P006	Boa Fé	18M	715264	9180868
18	P007	Amarelinha	18M	715514	9181923
19	P007	Manteiguinha	18M	715514	9181923
20	P008	Mandioca Preta	18M	719416	9178888
21	P008	Desconhecida 02	18M	719416	9178888
22	P008	Curimen doida	18M	719416	9178888
23	P008	Desconhecida 01 mansa	18M	719416	9178888
24	Sem ponto do GPS	Rasgadinha			

Fonte: Resultados da Pesquisa

Com base nos resultados moleculares, verificou-se que os dez locos microssatélites amplificaram 39 alelos, variando de 3 a 7 alelos, com uma média de 3,19 alelos por loco. Todos os locos foram polimórficos, sendo que GA126 apresentou a maior quantidade de alelos (Tabela 3).

Costa *et al.* (2021), ao analisarem 106 genótipos de mandioca da Coleção de Mandioca presente na Embrapa Acre, Rio Branco, detectaram por meio de dez marcadores microssatélites 84 alelos com uma média de 8,4 alelos por locos. Resultado similar foi identificado por Sousa *et al.* (2017), quando eles analisaram 470 genótipos do Banco Ativo de germoplasma (BAG) de mandioca da Embrapa Amazônia Ocidental e detectaram 113 alelos, com média de 11,3 alelos por locos. Mesmo com o grande tamanho amostral desses estudos, a média de alelos encontrado neste trabalho foi considerada alto, já que foram analisados somente 24 genótipos, demonstrando que os genótipos aqui avaliados representam de forma consistente a diversidade da espécie.

Tabela 3 – Tabela 3 – Caracterização dos locos utilizados em número de alelos por locos (N); Heterozigiosidade esperada (HE); Heterozigiosidade observada (HO), conteúdo de polimorfismo (PIC) para os 24 genótipos de *Manihot esculenta*

Loco	N	H _e	H _o	PIC
GA57 (1)	3	0,60	0,66	0,60
GA12 (2)	3	0,35	0,37	0,34
GAGG5 (3)	3	0,60	0,66	0,60
GA127 (4)	3	0,50	0,66	0,50
SSRY89 (5)	2	0,25	0,29	0,24
GA126 (6)	7	0,79	0,91	0,80
GA131 (7)	5	0,71	0,62	0,70
SSRY13 (8)	5	0,67	0,66	0,65
GA136 (9)	5	0,77	0,50	0,75
GA134 (10)	3	0,50	0,58	0,50
Total	39			
Média	3,9	0,57	0,59	0,56

Fonte: Resultados da Pesquisa

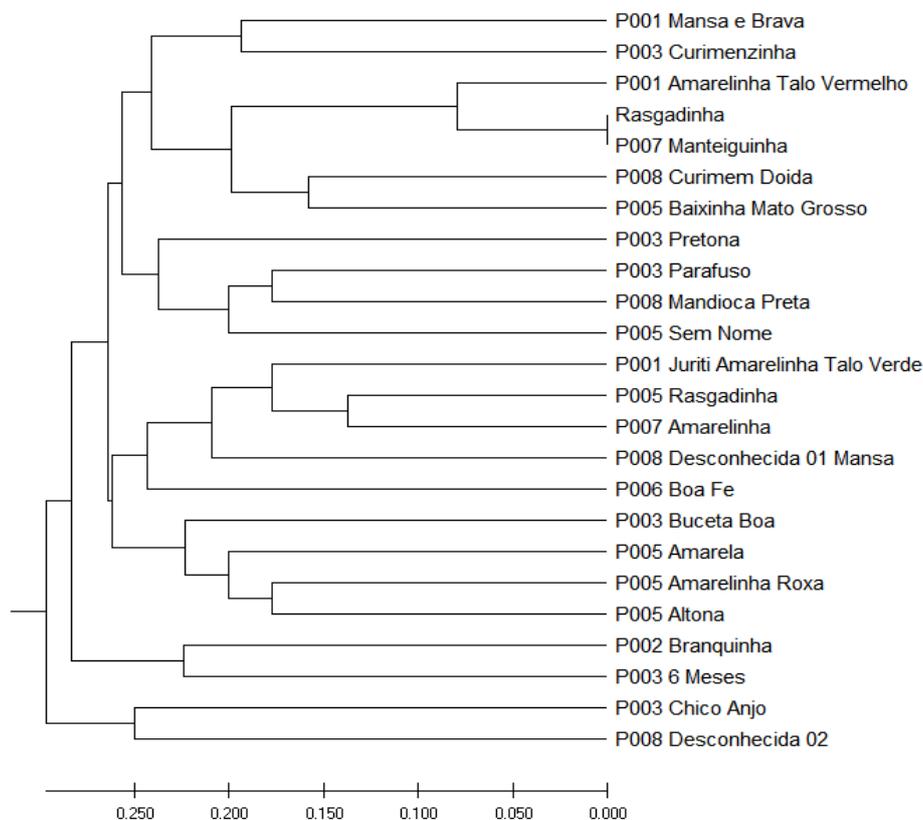
Houve variação no nível de polimorfismo entre os loci analisados. A média observada entre os 10 locos microssatélites foi 0,56, sendo o locos GA126 o mais informativo (0,91) e SSRY89 o que carrega menor conteúdo informativo (0,24). Seis locos (GA57; GAGG5; GA126; GA131; SSRY13; GA136) apresentaram valores de PIC superiores a 0,50. De acordo com a classificação de Botstein *et al.* (1980), locos com valores de PIC abaixo de 0,25 são pouco informativos, entre 0,25 e 0,50 carregam um nível médio de informação e acima de 0,50 são altamente informativos.

Segundo Ortiz *et al.* (2016), as plantas com reprodução alógama associada à propagação vegetativa, como a mandioca, comumente apresentam altos valores de heterozigiosidade. A média entre os loci da heterozigiosidade esperada entre os genótipos foi 0,57, variando de 0,25 (SSRY89) a 0,79 (GA126). Os altos níveis de heterozigiosidade podem indicar que o fluxo gênico e a recombinação têm papel significativo na manutenção da diversidade genética da *M. esculenta* (MEZETTE *et al.*, 2013).

A média de heterozigosidade observada (H_o) foi 0,59 e variou de 0,29 (SSRY89) a 0,91 (GA126). A heterozigosidade observada (H_o) quantifica a existência de diversidade genética, pois cada heterozigoto pode apresentar diferentes alelos para um determinado gene (WEIR, 1996). Esses resultados demonstraram a ampla diversidade genética na região Amazônica, o que corrobora com os estudos que apontam essa região como o centro de origem e berço da domesticação da mandioca.

Com base na distância genética de Rogers modificada (WRIGHT, 1978), os genótipos foram agrupados pelo método UPGMA (Figura 4).

Figura 4 – Dendrograma com os 24 genótipos de *Manihot esculenta* obtido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância de Rogers modificada (Wright, 1978) com 10 locos microssatélites



Fonte: Resultados da Pesquisa

A maior distância (0,7246) foi observada entre os genótipos P005 Amarela e P003 Chico Anjo. Genótipos com grande divergência podem ser empregados em programas de melhoramento como progenitores, para produzir híbridos altamente heteróticos (GONÇALVES *et al.*, 2017). A menor distância (0,1581) entre os indivíduos geneticamente distintos foi observada em dois pares de genótipos, sendo os genótipos Rasgadinha e P001 Amarelinha Talo Vermelho e P007 Manteiguinha e P001 Amarelinha Talo Vermelho. Esses baixos valores de distância genética indicam a alta similaridade entre os genótipos.

Com base no dendrograma, foi possível observar duplicatas entre os genótipos analisados, nos quais foi apresentado (0,0000) de distância entre os genótipos P007 Manteiguinha e Rasgadinha (Figura 4). A identificação de redundâncias em coleções de espécies propagadas

vegetativamente é comum (IRISH *et al.*, 2010; GROSS *et al.*, 2012) provavelmente devido às trocas de materiais entre agricultores (MOURA *et al.*, 2016), já que, no novo local, o genótipo pode receber outro nome. Por esse motivo, é fundamental a utilização de ferramentas para identificar redundâncias no momento da incorporação de novos genótipos a uma coleção. Entretanto, acredita-se que seja importante realizar novas expedições de coletas dessas duas variedades (Manteiguinha e Rasgadinha), com o intuito de aprofundar os estudos quanto à similaridade ou não desse material genético.

Moura *et al.* (2013), ao analisarem os genótipos da coleção de mandioca da Embrapa Amazônia Oriental, por meio de marcadores microssatélites, identificaram que aproximadamente metade da coleção era composta de genótipos duplicados. Por esse motivo, é fundamental a utilização de ferramentas para identificar redundâncias no momento da incorporação de novos genótipos a uma coleção. Essa baixa acurácia dos agricultores na diferenciação das variedades pode levar à designação incorreta. Entretanto, o descarte de genótipos com base na nomenclatura deve ser evitado (MOURA; FARIAS NETO, 2017), sendo necessária a caracterização prévia dos materiais por meio de marcadores morfológicos, agronômicos e moleculares.

Para determinar a coleção nuclear da coleção de mandioca dos genótipos coletados no Vale do Juruá, utilizou-se o *software* Corefinder por meio da estratégia M, com 100% dos alelos observados. A formação de uma coleção nuclear de mandioca irá reduzir o número de redundâncias dos genótipos, minimizar os custos com a sua manutenção no campo e torná-la mais representativa facilitando sua manipulação na pesquisa. Assim, a coleção nuclear é um subconjunto da coleção ativa que pode representar pelo menos 70-80% (alelos comuns e raros) da diversidade da coleção base com 5 a 20% dos genótipos (BROWN; SPILLANE, 1999).

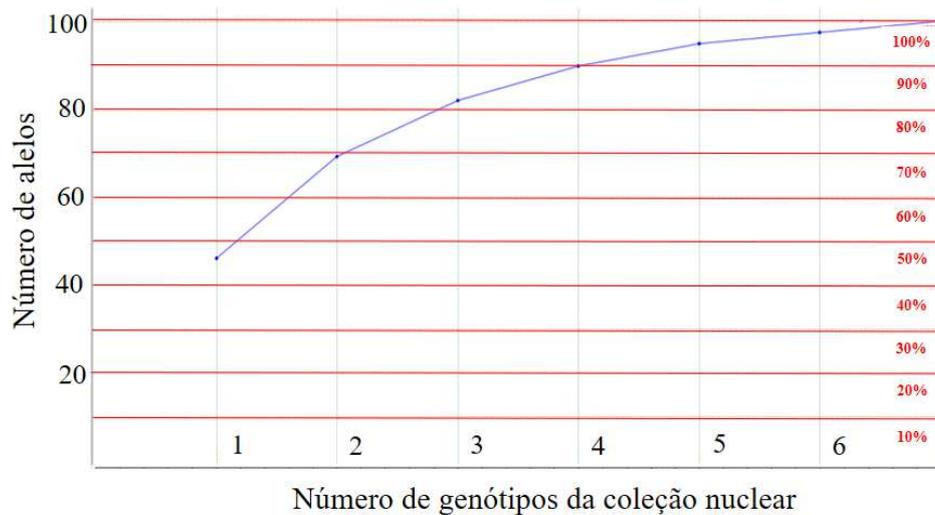
Neste trabalho, a coleção nuclear foi composta de sete genótipos (Tabela 5 e Figura 5), 29,2% do total de genótipos da coleção, sendo capaz de representar o máximo de variação alélica gerada por 10 locos microssatélites em 24 genótipos. Na Figura 5 é possível verificar o número total de alelos liberados pelo programa Corefinder. A coleção nuclear sugerida neste estudo poderá auxiliar na garantia de preservação da variabilidade genética de mandioca do território da cidadania do Vale do Juruá que possui a indicação geográfica, assim como facilitar o acesso à informação genética contida nestes genótipos por parte de futuros estudos com esses materiais.

Tabela 5 – Identificação dos genótipos de *Manihot esculenta* para formação da coleção nuclear

NÚMERO DE GENÓTIPOS	VARIEDADE
17	Boa Fé
10	Pretona
5	Chico Anjo
16	Amarela
19	Manteiguinha
1	Mansa e Brava
8	Parafuso

Fonte: Resultados da Pesquisa

Figura 5 – Número total de genótipos e percentagem de alelos incluídos na coleção nuclear de mandioca, considerando 100% dos alelos



Fonte: Resultados da Pesquisa

Segundo Fukuda e Silva (2002), a representatividade da diversidade genética da mandioca nas coleções de trabalho constitui uma das principais necessidades do melhorista, de forma que possa atender às demandas de programas de melhoramento. A base do melhoramento genético de qualquer espécie está na sua diversidade genética, o que reflete em respostas a melhores práticas agrônômicas e resistência/tolerância a diversos fatores bióticos e abióticos. Infelizmente, essa biodiversidade vem sendo destruída de uma forma muito rápida, haja vista a exploração descontrolada dos recursos naturais dentro dos diferentes ecossistemas (SANTOS, 2001). Os autores ainda afirmam que a variabilidade genética apresentada pela cultura da mandioca é decorrente da seleção natural, da domesticação, da facilidade de polinização cruzada, da alta heteroziguidade e da deiscência abrupta dos frutos.

Geralmente, os bancos de conservação são constituídos de etnovarietades, variedades melhoradas e silvestres pertencentes ao mesmo gênero da cultura (VIEIRA *et al.*, 2008). Essas etnovarietades representam um dos principais componentes tecnológicos do sistema de produção, por permitir melhor adaptação às condições específicas de solo, clima, localização e processamento. A procura por novas variedades cresce com a existência de mais formas de aproveitamento dos produtos dessa cultura, além da expansão da fronteira agrícola.

A diversidade de variedades de mandioca utilizada pelos agricultores no Acre é elevada. Nota-se a ocorrência de um processo não intencional de conservação e expansão do patrimônio genético da espécie *M. esculenta* na região. A ampliação da variabilidade genética ocorre por meio de diversos mecanismos, como o cultivo de mais de uma variedade na mesma área de plantio; o hábito local de realizar trocas de germoplasma, revelado pelos agricultores que também possuem alto grau de parentesco, o que facilita o intercâmbio de material genético; e a manutenção de roçados antigos com a finalidade específica de coleta de manivas – semente, permitindo ao agricultor acessar híbridos naturais do banco de sementes em “roçados velhos e abandonados” (SIVIERO *et al.*, 2019).

Os principais detentores de possíveis materiais silvestres e etnovarietades de mandioca no Acre são os indígenas, distribuídos nas diversas terras Indígenas, e os agricultores, e ribeirinhos amazônicos, situados em terra firme e nas barrancas dos rios (SANTILLI, 2009; EMPERAIRE; ELOY; SEIXAS, 2016).

Nesse sentido, considerando que os agricultores detêm o selo da indicação geográfica da farinha de Cruzeiro do Sul, é de extrema importância a realização de estudos que objetivem a prospecção da variabilidade genética desses materiais, assim como pesquisas que visem a conservar esses materiais, como uma coleção de material genético das variedades utilizadas pelos agricultores.

4 Considerações Finais

Os marcadores microssatélites utilizados nesta pesquisa foram eficientes para a caracterização dos genótipos de mandioca coletados na regional do Vale do Juruá, região que detém a indicação geográfica da farinha de mandioca de Cruzeiro do Sul.

Com o estudo, foi possível estimar a variabilidade genética entre os 24 genótipos coletados, separar e agrupar variedades e propor uma coleção nuclear composta de sete genótipos de *M. esculenta*.

Como resultado das expedições realizadas, foi possível verificar a grande diversidade de variedades de mandioca que é cultivada e preservada *in situ* pelos agricultores rurais do Vale do Juruá. Durante o estudo, foi possível verificar que não existe unanimidade em relação à descrição (identificação) das variedades de mandiocas e que existem diferentes nomes para genótipos que aparentemente têm as mesmas características. Por isso, ressalta-se que é importante a realização de estudos com marcadores moleculares, pois estes são eficientes na diferenciação genética dos materiais.

5 Perspectivas Futuras

Destaca-se que é extremamente importante manter o local de implantação e de cultivos dos materiais genéticos de mandioca, com o objetivo de que sejam realizados estudos futuros, como caracterização morfológica dos genótipos, estudo de qualidade da raiz, resposta à adubação e calagem, resposta a *stress* hídrico, doenças e pragas, etc.

A conservação dos recursos genéticos, aliada a uma exploração das variedades de mandioca, é uma estratégia fundamental para nortear políticas para o Acre, garantindo a manutenção da diversidade das cadeias produtivas, com destaque para a região que detém o selo de indicação geográfica da farinha de mandioca.

A importância da conservação dessas variedades de mandioca para o Acre, para o Brasil e para o mundo é inegável. O tema em estudo é transversal e requer, para seu entendimento, estudos agrônômicos, etnológicos e de outras áreas das ciências sociais, como antropologia, sociologia e das relações homem-natureza, considerando a qualidade da farinha que é produzida pelos agricultores locais.

A implantação de políticas de conservação de material silvestre de mandioca, seja local, regional, ou nacional, é necessária para um melhor conhecimento do manejo tradicional da agrobiodiversidade e do seu papel nos sistemas de produção.

Referências

AZEVEDO, J. M. A. de *et al.* Atributos químicos de solos nos locais de descarte dos resíduos gerados na produção de farinha de mandioca no Vale do Juruá. **Revista Conexão na Amazônia**, [s.l.], v. 1, p. 5-24, 2020.

BOTSTEIN, D. *et al.* Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal Human Genetics**, [s.l.], v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980.

BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C. Implementing core collections principles procedures, progress, problems and promise. In: JOHNSON, R. C.; HODGKIN, T. (ed.) **Core collections for today and tomorrow**. Roma: IPGRI, 1999. p. 1-9.

CAMPOS, A. L. *et al.* Avaliação de acessos de mandioca do banco de germoplasma da UNEMAT Cáceres – Mato Grosso. **Revista Tropical – Ciências Agrárias e Biológicas**, [s.l.], v. 4, n. 2, p. 44, 2010.

CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P. *et al.* Microsatellites in cassava (*Manihot esculenta* Crantz): discovery, inheritance and variability. **Theoretical and Applied Genetics**, [s.l.], v. 97, n. 3, p. 493-501, 1998.

CLEMENT, C. R. *et al.* Crop domestication in the upper Madeira River basin. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, [s.l.], v. 11, p. 193-205, 2016.

COSTA, N. A. *et al.* Molecular characterization and core collection evaluation of *Manihot esculenta* Crantz. **Bioscience Journal**, [s.l.], v. 36, p. 22-35, 2021.

CRESTE, S.; TUMANN, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology**, [s.l.], v. 19, n. 4, p. 299-306, 2001.

CRUZ, J. F. da *et al.* Processamento artesanal da farinha de mandioca no Vale do Juruá, Acre: um estudo de caso. **Revista Conexão na Amazônia**, [s.l.], v. 2, p. 43-66, 2021.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 2006.

EMPERAIRE, L. A agrobiodiversidade em risco. O exemplo das mandiocas na Amazônia. **Ciência Hoje**, [s.l.], v. 32, n. 87, p. 28-33, 2002.

EMPERAIRE, L.; ELOY, L.; SEIXAS, A. C. Redes e observatórios da agrobiodiversidade, como e para quem? Uma abordagem exploratória na região de Cruzeiro do Sul, Acre. Boletim. Museu Paraense Emílio Goeldi. **Ciências humanas**, [s.l.], v. 11, n. 1, p. 159-192. 2016.

EMPERAIRE, L. *et al.* Approche comparative de la diversité génétique et de la diversité morphologique des maniocs en Amazonie (Brésil et Guyanes). **Les Actes du BRG**, [s.l.], v. 4, p. 247-267, 2003.

FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores morfológicos e agrônômicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1998.

FUKUDA, W. M. G.; SILVA, S. O. E. Melhoramento de mandioca Brasil. In: CEREDA, M. P. (org.). **Agricultura: Tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargil, 2002. p. 242-257.

GONÇALVES, T. M. *et al.* Genetic diversity and population structure of traditional sweet cassava accessions from Southern of Minas Gerais State, Brazil, using microsatellite markers. **African Journal of Biotechnology**, [s.l.], v. 16, n. 8, p. 346-358, 2017.

GOUESNARD, B. *et al.* MSTRAT: an algorithm for building germplasm core collections by maximizing allelic or phenotypic richness. **Journal of Heredity**, [s.l.], v. 92, n. 1, p. 93-94. 2001.

GROSS, B. L. *et al.* Identification of “duplicate” accessions within the USDA-ARS National plant germplasm system *Malus* collection. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s.l.], v. 137, n. 5, p. 333-342, 2012.

HOISINGTON, D. *et al.* **Laboratory protocols: CIMMYT applied molecular genetics laboratory**. 2. ed. México: CIMMYT, 1994. 102p.

IRISH, B. M. *et al.* Microsatellite fingerprinting of the USDA-ARS tropical agriculture research station cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm collection. **Crop Science**, [s.l.], v. 50, n. 2, p. 656-667, 2010.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. GDA (Genetic Data Analysis): **Computer Program for the Analysis of Allelic Data**. Version 1.1, University of Connecticut, Storrs. 2001. Disponível em: <http://phylogeny.uconn.edu/software/>. Acesso em: 27 ago. 2022.

MBA, R. E. C. *et al.* Simple sequence repeat (SSR) markers survey of the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genome: towards an SSR-based molecular genetic map of cassava. **Theoretical and Applied Genetics**, [s.l.], v. 102, n. 1, p. 21-31, 2001.

MEZETTE, T. F. *et al.* Morphological and molecular diversity among cassava genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 48, n. 5, p. 510-518, 2013.

MOURA, E. F. *et al.* Identification of duplicates of cassava accessions sampled on the North Region of Brazil using microsatellite markers. **Acta Amazonica**, [s.l.], v. 43, n. 4, p. 461-468, 2013.

MOURA, E. F. *et al.* Molecular characterization of accessions of a rare genetic resource: sugary cassava (*Manihot esculenta* Crantz) from Brazilian Amazon. **Genetic Resources and Crop Evolution**, [s.l.], v. 63, n. 4, p. 583-593, 2016.

MOURA, E. F.; FARIAS NETO, J. T. **Diferenciação genética entre variedades de mandioca com a mesma nomenclatura coletadas na Amazônia Brasileira**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2017. 20p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 113).

ORTIZ, A. H. T. *et al.* Population structure and genetic diversity in sweet cassava cultivars from Paraná, Brazil. **Plant Molecular Biology Reporter**, [s.l.], v. 34, n. 6, p. 1.153-1.166, 2016.

POLICRITI, A.; SGARRO, A. **CoreFinder v. 1.0**. 2011. Disponível em: <http://www.appliedgenomics.org/services/software>. Acesso em: 1º ago. 2022.

SANTILLI, J. **Agrobiodiversidade e direitos dos agricultores**. São Paulo: Editora Peirópolis,

2009. 519p.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 20, p. 60-65, 2001.

SIVIERO, A. *et al.* **Etnobotânica e Botânica Econômica do Acre**. Rio Branco: Edufac, 2019. v. 1. 427p.

SOUSA, S. B. *et al.* Farmer variety exchange along Amazonian rivers influences the genetic structure of manioc maintained in a regional Brazilian GeneBank. **Genetics and Molecular Research**, [s.l.], v. 16, n. 3, p. 1-11, 2017.

SOUZA, J. M. L. de *et al.* Potencial da IG da Farinha de Mandioca de Cruzeiro do Sul. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 8, n. 1, p. 182-191, 2015.

SOUZA, J. M. L.; ÁLVARES, V. S.; NÓBREGA, M. S. (ed.). **Indicação Geográfica da farinha de mandioca de Cruzeiro do Sul, Acre**. Rio Branco; Brasília, DF: Embrapa Acre; Embrapa Informação Tecnológica, 2017. p. 81-98.

VIEIRA, E. A. *et al.* Variabilidade genética do banco de germoplasma de mandioca da Embrapa cerrados acessada por meio de descritores morfológicos, **Científica Jaboticabal**, [s.l.], v. 36, n. 1, p. 5.667, 2008.

WEIR, B. S. Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. **Sinauer Associates, Inc.**, Sunderland. 1996.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations, vol 4: variability within and among natural populations**. Chicago: University of Chicago Press, 1978. 590p.

Sobre os Autores

José Marlo Araújo de Azevedo

E-mail: jose.azevedo@ifac.edu.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8686-4915>

Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia pela Universidade Federal do Acre em 2016.

Endereço profissional: Instituto Federal do Acre. Estrada da APADEQ, n. 1.192, Ramal da Fazenda Modelo, Bairro Nova Olinda, Cruzeiro do Sul, AC. CEP: 69.980-000.

Hellen Sandra Freires da Silva Azêvedo

E-mail: hellenfreires@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1682-7232>

Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia pela Fundação Oswaldo Cruz em 2019.

Endereço profissional: Universidade Federal do Acre. Rodovia BR 364, Km 04, Distrito Industrial, Rio Branco, AC. CEP: 69920-900.

Tatiana de Campos

E-mail: tatiana.campos@embrapa.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1487-517X>

Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Campinas em 2009.

Endereço profissional: Embrapa Acre. Rodovia BR-364, Km 14, Rio Branco, AC. CEP: 69900-970.

Tegila Cristina de Paula Enes

E-mail: enes.tc@hotmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5534-5522>

Instituto Federal do Acre. ()

Endereço profissional: Instituto Federal do Acre, Estrada da APADEQ, n. 1.192, Ramal da Fazenda Modelo, Bairro Nova Olinda, Cruzeiro do Sul, AC. CEP: 69.980-000.