



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

PEDRO SIDARQUE LIMA PINTO

Diversidade genética em acessos de batata-doce por marcador molecular

MOSSORÓ

2022

PEDRO SIDARQUE LIMA PINTO

Diversidade genética em acessos de batata-doce por marcador molecular

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em BIOTECNOLOGIA.

Orientador: Prof.(a) Dr.(a) Ioná Santos Araújo Holanda

Co-orientador: Prof.(a) Dr.(a) Lindomar Maria da Silveira

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

P659d Pinto, Pedro Sidarque Lima.

Diversidade genética em acessos de batata-doce
por marcador molecular / Pedro Sidarque Lima
Pinto. - 2022.
37 f. : il.

Orientadora: Ioná Santos Araújo Holanda.
Coorientadora: Lindomar Maria da Silveira.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia,
2022.

1. Marcadores ISSR. 2. germoplasma. 3.
polimórficos . 4. genótipo . 5. Ipomoea batatas L..
I. Holanda, Ioná Santos Araújo, orient. II.
Silveira, Lindomar Maria da, co-orient. III.
Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Biblioteca Campus Mossoró/Setor de informação e Referência

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CBR: 15/120

PEDRO SIDARQUE LIMA PINTO

Diversidade genética em acessos de batata-doce por marcadores moleculares

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em BIOTECNOLOGIA.

Defendida em: 25/11/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Ioná Santos Araújo Holanda (UFERSA)
Presidente

Prof. Dra. Lindomar Maria da Silveira (UFERSA)
Membro Examinador

Me. Jorge Alves da Silva Neto (EXTERNO)
Membro Examinador

A minha mãe, por sempre acreditar em mim.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe e avó, por terem acreditado em mim sempre, e me dado forças.

Agradeço a mim por não desistir e sempre lutar, apesar de qualquer coisa.

Ao pessoal do Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pelas inúmeras palavras de conforto, ajuda, risadas e terem tornado meus dias acadêmicos melhores.

A Gilsivan, por ser sempre um amigo, parceiro e compartilhar toda alegria e sofrimentos acadêmicos comigo.

A professora Ioná Santos Araújo Holanda, melhor orientadora que alguém poderia ter e querer, por suas risadas, palavras de conforto, inteligência, paciência e todos os adjetivos bons que existem.

Eu estive tanto no topo da montanha, quanto no fundo do poço, há muito a se aprender de ambos.

Taric - League of Legends

RESUMO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é uma cultura de zonas tropicais, com grande importância econômica no Brasil e no mundo. No Brasil, o cultivo da batata-doce é focado nas regiões Sul e Nordeste, por pequenos produtores, devido ao seu baixo custo na produção e características como adaptação a condições de solo e clima. Estudos feitos através de características morfológicas mostram que o Brasil possui uma diversidade de tipos de batata-doce, porém algumas cultivares ainda possuem uma estreita diferença genética entre elas, tornando-se necessário o conhecimento da variabilidade genética dessa cultura em bancos de germoplasmas. Este trabalho teve como objetivo realizar o estudo da diversidade genética em acessos de batata-doce da Coleção Didática de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, a partir da aplicação dos marcadores ISSR. Para a caracterização molecular foram utilizadas folhas de 47 acessos de batata-doce. As amostras foram levadas ao laboratório de Biotecnologia Vegetal, na Universidade Federal Rural do Semi-Árido, para a extração do material genético vegetal utilizando o método CTAB com modificações, e posteriormente quantificadas em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio. Foram selecionados 13 marcadores ISSR para a análise dos DNAs via amplificação por PCR. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 2% e corados com brometo de etídio, exposto à luz ultravioleta e fotografado em fotodocumentador. Os agrupamentos hierárquicos dos acessos foram obtidos através do método de UPGMA. Foram gerados dois dendrogramas distintos com 47 e 21 acessos. O grau de similaridade foi calculado através de matriz gerada por meio do coeficiente de Jaccard. Como resultado, os marcadores ISSR geraram no total 128 bandas de DNA sendo 117 polimórficas e 11 monomórficas. O marcador mais informativo foi DiGA3'RC com 15 bandas polimórficas. A média de marcas polimórficas foi de 9 marcas por primer. No dendrograma gerado a partir dos dados com 47 acessos, o ponto de corte foi de 0,44 e gerou a formação de cinco subgrupos. O subgrupo I foi formado por 29 acessos, o subgrupo II por sete acessos, o subgrupo III por três acessos, o subgrupo IV por sete acessos e o subgrupo V por um acesso. Os acessos mais distantes foram os AC01 e AC45 (0,2963) e os mais próximos foram o AC11 e o AC12 (0,9349). Não foi possível correlacionar os acessos pertencentes aos subgrupos gerados neste dendrograma aos seus locais de origem de coleta. O segundo dendrograma gerado a partir da análise de 21 acessos permitiu a partir de um ponto de corte de 0,4552 a formação de cinco subgrupos distintos. O grupo I foi composto por 12 acessos, o subgrupo II por 2 acessos, o subgrupo III por 5 acessos, o subgrupo IV por apenas

1 acesso, e o subgrupo V também por apenas 1 acesso. A menor similaridade genética encontrada se deu entre os acessos AC07 e AC20 (0,2600). Por outro lado, a menor distância observada foi entre os acessos AC15 e AC19 (0,8987). O índice de correlação genética foi de 0,8702, o que mostra uma ótima confiabilidade dos dados moleculares obtidos com os marcadores ISSR. Foi observado ainda que, com base nos dados moleculares, não houve uma mesma distribuição dos acessos em subgrupos quando correlacionados à distribuição baseados nos subgrupos gerados pelos descritores morfológicos. Os resultados obtidos no presente estudo revelam que os marcadores ISSR foram eficientes em revelar o nível de variabilidade genética entre os acessos de batata-doce, mostrando que há diversidade genética entre os mesmos, sendo estas informações de significativa relevância para futuros trabalhos em recursos genéticos da espécie.

Palavras-chave: Marcadores ISSR; germoplasma; polimórficos; genótipos; *Ipomoea batatas* L.

ABSTRACT

Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) is a tropical crop with great economic importance in Brazil and worldwide. In Brazil, sweet potato cultivation is focused on the South and Northeast regions, by small producers, due to its low production cost and characteristics such as adaptation to soil and climate conditions. Studies carried out through morphological characteristics show that Brazil has a diversity of sweet potato types, but some cultivars still have a narrow genetic difference between them, making it necessary to know the genetic variability of this crop in germplasm banks. The objective of this work was to study the genetic diversity of sweet potato accessions from the Germplasm Didactic Collection of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido, based on the application of ISSR markers. For molecular characterization, leaves of 47 sweet potato accessions were used. The samples were taken to the Plant Biotechnology laboratory, at the Universidade Federal Rural do Semi-Árido, for the extraction of plant genetic material using the CTAB method with modifications, and subsequently quantified in a 1% agarose gel, stained with ethidium bromide. Thirteen ISSR markers were selected for DNA analysis via PCR amplification. The amplification products were subjected to horizontal electrophoresis in a 2% agarose gel and stained with ethidium bromide, exposed to ultraviolet light and photographed in a photodocumenter. Hierarchical groupings of accessions were obtained using the UPGMA method. Two distinct dendrograms were generated with 47 and 21 accessions. The degree of similarity was calculated using a matrix generated using the Jaccard coefficient. As a result, the ISSR markers generated a total of 128 DNA bands, 117 of which were polymorphic and 11 were monomorphic. The most informative marker was DiGA3'RC with 15 polymorphic bands. The average number of polymorphic marks was 9 marks per primer. In the dendrogram generated from data with 47 accessions, the cutoff point was 0.44 and generated the formation of five subgroups. Subgroup I was formed by 29 accessions, subgroup II by seven accessions, subgroup III by three accessions, subgroup IV by seven accessions and subgroup V by one accession. The most distant accessions were AC01 and AC45 (0.2963) and the closest were AC11 and AC12 (0.9349). It was not possible to correlate the accessions belonging to the subgroups generated in this dendrogram to their places of collection origin. The second dendrogram generated from the analysis of 21 accessions allowed from a cutoff point of 0.4552 to form five distinct subgroups. Group I consisted of 12 accessions, subgroup II of 2 accessions, subgroup III of 5 accessions, subgroup IV of only 1 accession, and subgroup V also of only 1 accession. The lowest genetic similarity found was between accessions AC07

and AC20 (0.2600). On the other hand, there was a smaller distance between accessions AC15 and AC19 (0.8987). The confenetic dynamic index was 0.8702, which shows an excellent reliability of the molecular data obtained with the ISSR markers. It was also observed that, based on the molecular data, there was not the same distribution of accessions in subgroups when correlated to the distribution based on the subgroups generated by the morphological descriptions. The results obtained in the present study proved that the ISSR markers were efficient in revealing the level of genetic variability among the sweet potato accessions, showing that there is genetic diversity among them, and this conversion information is significant for future work on genetic resources of the species.

Keywords: ISSR markers; germplasm; polymorphic; genotypes; *Ipomoea batatas* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Dendrograma obtido através do método UPGMA gerado com o coeficiente de similaridade de Jaccard dos 47 acessos de batata-doce.....	28
Figura 2	–	Dendrograma obtido através do método UPGMA gerado com o coeficiente de similaridade de Jaccard dos 21 acessos de batata-doce.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Acessos da Coleção Didática de germoplasma de batata-doce (<i>Ipomoea batatas</i> L.) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), utilizados no estudo	23
Tabela 2	–	Primers ISSR utilizados, temperatura de anelamento, números de bandas total, polimórficas e monomórficas e o valor do conteúdo de informação polimórfica gerados no estudo de 47 acessos de batata-doce (<i>Ipomoea batatas</i> L.)	27
Tabela 3	–	Acessos da Coleção Didática de germoplasma de batata-doce da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).....	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1 ORIGEM E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA BATATA-DOCE	17
2.2 GERMOPLASMA DA BATATA-DOCE.....	18
2.3 ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA	19
2.4 MARCADORES DE DNA.....	20
2.4.1 <i>Marcadores de DNA ISSR</i>	20
3. OBJETIVOS DA PESQUISA	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	23
4.2 EXTRAÇÃO DO DNA	24
4.3 QUANTIFICAÇÃO DO DNA	25
4.4 ANÁLISE COM OS MARCADORES ISSR.....	25
4.5 ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6. CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Pertencente à família *Convolvulaceae*, a batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é uma espécie dicotiledônea, herbácea, hexaplóide ($2n=6x=90$), ou seja, possui 90 cromossomos. Originalmente da América Tropical, tem seu cultivo mais focado em zonas tropicais do mundo (ROESLER et al., 2008; CASTRO et al., 2009).

A batata-doce tem um papel de destaque na economia, na agricultura e também uma importância social. Seu cultivo geralmente é feito por pequenos agricultores, por ter uma elevada produção devido a sua tolerância a adaptações e a sua rusticidade, também ao fato do seu baixo custo de produção e seu valor de retorno. Outro fator que leva o cultivo é seu potencial de adaptação a condições de fertilidade do solo e temperatura (AMARO et al., 2019; DE ANDRADE JÚNIOR et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2006a).

De acordo com Basílio (2022), a China é um dos maiores produtores, com uma produção mundial em torno de 62,6%, tendo o continente africano como segundo lugar. O Brasil possui um cultivo de cerca de 847.896 t, onde o rendimento médio, em 2020, foi cerca de 14.255 kg/ha. O estado do Rio Grande do Norte no mesmo ano apresentou uma área plantada de 4.979 ha, com rendimento médio de 11.124 kg/ha (IBGE, 2021).

Segundo Collares et al. (2002) a maioria das cultivares possuem um estreito relacionamento genético e algumas delas, como a batata-doce, possuem dificuldade de se efetuar altos cruzamentos. Devido a esse fator, é importante o cruzamento de genótipos com diferença genética, principalmente nos estudos de melhoramento genético.

Para se obter sucesso na conservação e melhoramento genético se faz necessário a compreensão da diversidade presente na coleção genética (ZHANG et al., 2000). Estudar a variabilidade de uma determinada cultura é de grande importância para se ter parâmetros como genitores diferentes, gerando um maior efeito heterótico ao serem cruzados (OLIVEIRA et al., 2000). Os bancos de germoplasma são a forma mais acessível de se quantificar a diversidade genética, através de características morfológicas (SOUSA et al., 2019). Vários estudos abordam a divergência genética da batata-doce de acordo com a morfologia, características morfoagronômicas e até mesmo marcadores isoenzimáticos. Porém, atualmente se tem uma compreensão maior da diversidade genética através de estudos com marcadores moleculares, onde é possível a identificação dos locos polimórficos maiores, dando a possibilidade de diferenciar acessos que possuem características tanto morfológicas quanto agrônômicas semelhantes (GONÇALVES et al., 2008). A utilização de métodos a nível molecular, como a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), em conjunto com

marcadores moleculares como ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), permitem uma análise mais precisa devido ao fato de os marcadores moleculares terem um elevado grau de polimorfismo e uma expressão dominante (FALEIRO, 2007). Pesquisas realizadas com as técnicas de ISSR por Murthy (2021) e Moulin (2012) mostram a eficiência destes marcadores na análise da diversidade genética de batata-doce em bancos de germoplasma de diferentes localidades. Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo realizar o estudo da diversidade genética em acesso de batata-doce da Coleção Didática de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, a partir da aplicação dos marcadores moleculares ISSR.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ORIGEM E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA BATATA-DOCE

De acordo com a EMBRAPA (2021), não existe um consenso científico quanto a origem da batata-doce, porém o mais aceito é sua origem no Norte da América do Sul e na América Central. Estudos feitos através da citogenética e marcadores moleculares, por Roullier et al, (2013) e Nunes (2016), mostram que o genoma hexaploide da batata-doce pode estar relacionado com o fato da espécie *Ipomoea trifida* ter mais similaridade com a *I. batatas*. É comum encontrar cultivares de batata-doce iguais com nomes diferentes, em diferentes localidades do Brasil, devido ao fato da existência de cultivares locais espalhadas pelas regiões (CAVALCANTE, 2016; MIRANDA et al., 1995).

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é uma raiz tuberosa que se adapta a diferentes climas e solos, caracterizada pela sua facilidade de cultivo e o baixo custo em sua produção. Além disso, outro fator que torna a batata-doce de grande importância tanto social quanto econômica é o fato de sua rusticidade e adaptação (RITSCHER & HUAMÁN, 2002; CARDOSO et al., 2005; OLIVEIRA et al, 2015; BRASIL, 2014). Essa hortaliça é usada tanto na alimentação humana, na produção industrial de substâncias que utilizam seu amido, quanto na produção animal, através da farinha por exemplo. Além disso, é utilizada também na produção de bebidas alcoólicas como a Vodka (DA SILVA JÚNIOR et al., 2020; LAFIA et al., 2020; SANTOS et al., 2009; DE ANDRADE JUNIOR et al., 2012), e na produção de biocombustível (álcool).

Quando levamos em consideração a produção mundial de batata-doce, a China é o país que lidera o *ranking*, sendo o principal produtor dessa espécie, com uma produção de 49 milhões de toneladas. No Brasil, a produção é focada nos estados do Sul e Nordeste (Embrapa, 2021). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2021) mostram que entre os anos de 2010 e 2020 a produção nacional passou de 495.182t para 847.896 t respectivamente, e atualmente é o 15º produtor mundial e o maior na América Latina (FAO, 2021).

A produtividade nacional da batata-doce tem uma média baixa, devido ao fato de que muitas vezes a variedade utilizada para o cultivo em determinadas regiões é baixa, pois são realizadas sem estudos prévios. Existe também o fato de que muitas vezes o plantio dessa hortaliça é feito de maneira incorreta ou em solos inadequados, fazendo com que a cultura não

expresse todo seu potencial. Outro fator que pode levar a baixa produtividade é a baixa variabilidade, esse fator pode tornar a planta suscetível a doenças, como viroses (FERNANDES, 2013; CARMONA et al., 2015; SILVA et al., 2015).

2.2 GERMOPLASMA DA BATATA-DOCE

Com intuito de conservação da diversidade genética, os bancos de germoplasma são aplicados de várias maneiras, essa conservação pode tanto ser feita fora (*ex situ*) como dentro (*in situ*) do seu habitat natural (BORÉM; MIRANDA, 2005). Para que sejam mantidos os recursos genéticos, se faz necessário estudos com relação ao gene de determinadas espécies e sua população em determinados locais. Os bancos de germoplasma servem justamente como um reservatório, para preservar essa diversidade fenotípica e genotípica, auxiliando os melhoristas genéticos, porém nem sempre se tem eficiência na exploração da variabilidade (NASS; PATERNIANI, 2000; MARIOT et al., 2006).

De acordo com Camargo (2013), em relação aos bancos de germoplasma de batata-doce no Brasil, as coletas dos acessos são feitas geralmente em diferentes localidades do país e algumas vezes em outros países. Esses acessos são oriundos de pequenos produtores, supermercados, feiras e reservas indígenas.

Atualmente, estão registradas cerca de 32 cultivares de batata-doce no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, segundo a EMBRAPA (2021), porém devido a fatores como doenças e exigências de padronização, a maioria desses acessos encontram-se em desuso. Um dos maiores bancos de germoplasma de batata-doce encontra-se na Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, com cerca de 350 acessos com 20% de duplicatas. Bancos de germoplasma com acessos duplicados geneticamente geram problemas potenciais para os recursos genéticos (DAROS et al., 2002). Diante disso, se faz necessário o conhecimento do contraste genético, fazendo a identificação de materiais que possuem proximidade ou duplicatas (SCAPIM et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2000).

A caracterização dos bancos de germoplasma de batata-doce, no Brasil, vem sendo feita por diversos pesquisadores, como Ritschel et al., (1998) no banco de germoplasma da EPAGRI no Distrito Federal, Neiva et al., (2011) na UFVJM de Diamantina, Oliveira Neto et al., (2012) em Sergipe e Camargo (2013) na Unicentro do Paraná, entre outros.

Pesquisas de diversidade genética utilizando bancos de germoplasma são de extrema importância em estudos e programas de melhoramento genético, assim como o conhecimento

da diversidade genética dos acessos é de grande importância no manejo do banco de germoplasma e aplicabilidade em futuros programas de melhoramento (SOUSA et al., 2019). Muitas vezes essas pesquisas são feitas através de características morfológicas como tamanho e forma das folhas, altura da planta e coloração das flores, porém atualmente com a rapidez e facilidade de se obter informações genéticas, e as vantagens através dos marcadores moleculares, eles se tornaram a alternativa confiável, além de tudo os marcadores moleculares não sofrem de efeitos externos ou fenotípicos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995; BORÉM, 2005; FABRI, 2009).

2.3 ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA

O estudo da diversidade genética pode ser feito de diversas maneiras, como por exemplo analisando a morfologia de uma espécie, características fisiológicas, agronômicas, moleculares e também bioquímicas, para se ter uma ótima variabilidade nos programas de melhoramento genético (CRUZ; CARNEIRO, 2004).

De acordo com Hersey e Amaya (1982) a variabilidade genética, variação da resposta a seca, a doenças, é a base para o melhoramento de uma determinada cultura. Existem três pontos que tornam a variabilidade eficiente, sendo eles: uma boa e significativa coleção das variações; uma avaliação total de cada acesso, no caso avaliação de suas características; por fim uma combinação de genótipos distintos através da hibridação e de ensaios modernos.

É possível observar, em várias regiões do Brasil, uma alta variabilidade genética, possivelmente relacionado ao fato da reprodução tanto sexuada como assexuada de cultivares que são tiradas do seu “local de origem” e cultivadas. Nota-se também que essa diversidade promove genótipos diferentes que podem ser testados, através do melhoramento genético, com a finalidade de se obter novas cultivares de batata-doce (SILVA et al., 2012; AZEVEDO et al., 2015).

No Brasil é comum encontrar similaridade em cultivares com nomes diferentes, e vice-versa, em diferentes estados e municípios. Ritschel & Huamán (2002), por meios do estudo da variabilidade genética com marcadores morfológicos, comprovou a similaridade de acessos de batata-doce, que possuíam genótipos iguais, porém, com nomenclaturas diferentes. Mesmo a batata-doce sendo de grande importância econômica e social, são poucos os trabalhos que mostram suas diferenças e selecionam cultivares para as diferentes localidades (CNPH, 1995; CARDOSO et al., 2005), a nível molecular utilizando marcadores.

2.4 MARCADORES DE DNA

Marcadores moleculares (ou de DNA) constituem fenótipos moleculares de um gene expresso ou de partes específicas do DNA que podem ou não ser de regiões expressas do genoma, com a finalidade de distinguir indivíduos. Os marcadores de DNA são bastante utilizados no melhoramento genético e identificação de indivíduos, como plantas, principalmente pelo fato da rapidez das análises e a possibilidade de se obter uma cobertura completa do genoma (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995; NODARI et al., 2016).

A implementação do uso de marcadores de DNA auxilia a entender a variabilidade genética. Também geram informações que podem ser associadas a características fenotípicas, com isso auxiliando no cruzamento e tornando-o mais eficiente (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores de DNA passaram a ser empregados em análises da diversidade genética a partir dos anos 1990. São utilizados com frequência nos estudos genéticos as seguintes técnicas com marcadores de DNA: *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Inter Single Sequence Repeats* (ISSR), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), microssatélites, entre outros.

Estudos de diversidade genética utilizando marcadores de DNA tais como RAPD e ISSR, tem sido realizado com sucesso com batata-doce (GICHUKI et al., 2003; HU et al., 2003).

2.4.1 Marcadores de DNA ISSR

A técnica utilizando o marcador de DNA ISSR baseia-se nas sequências de regiões entre dois microssatélites. Porém esse marcador possui inúmeras vantagens, entre elas vale destacar que não necessita de grandes quantidades de DNA, é possível obter um alto nível de polimorfismo (JOSHI et al., 2000). Os marcadores ISSR também possibilitam a detecção da diversidade tanto intra como interespecífica (HUANG; SUN, 2000).

No ISSR, as repetições e nucleotídeos que se ancoram são selecionados ao acaso. São marcadores dominantes com a possibilidade de análise de loco múltiplos em uma reação (GOULÃO; OLIVEIRA, 2001).

Na literatura atual existem inúmeros trabalhos que mostram a utilização, com sucesso, dos marcadores de DNA ISSR nas pesquisas com diversidade genética de acessos de batata-

doce, podendo se observar trabalhos como o de Hu, et al., (2003), onde foram avaliados 8 primers ISSR em 34 acessos de batata-doce, em que puderam observar a obtenção de 81 bandas polimórficas, mostrando a eficiência do marcador molecular ISSR.

3. OBJETIVOS DA PESQUISA

3.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar a diversidade genética de acessos de batata-doce da Coleção Didática de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semi-Árido através de marcadores de DNA ISSR.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o DNA de acessos de batata-doce;
- Selecionar primers ISSR polimórficos;
- Estudar a diversidade genética da batata-doce utilizando marcadores ISSR.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Foram coletadas folhas de 47 acessos de batata-doce (Tabela 1), pertencentes à Coleção Didática de Germoplasma de batata-doce da UFERSA, campus Mossoró-RN. As folhas foram levadas ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal para extração do material genético.

Tabela 1: Acessos de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) da Coleção Didática de germoplasma de batata-doce da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), utilizados no estudo.

Código¹	Denominação	Local de origem	Código¹	Denominação	Local de origem
AC01	Esam I	Mossoró/RN	AC25	Cenoura Ceará	Beberibe/CE
AC02	Esam II	Mossoró/RN	AC26	Amazônia	Manaus/AM
AC03	Esam III	Mossoró/RN	AC27	Russas II	Russas/CE
AC04	Sr. Antônio	Mossoró/RN	AC28	BRS Cuia	Desconhecido
AC05	Sem Nome	Desconhecido	AC29	BRS Amélia	Desconhecido
	Brazlândia				
AC06	Branca	Brazlândia/DF	AC30	Russas III	Russas/CE
AC07	Campina	Desconhecido	AC31	Rebouças	Desconhecido
	Mãe de			Fortaleza	
AC08	Família	Desconhecido	AC32	Precoce	Desconhecido
AC09	Califórnia	Desconhecido	AC33	Fortaleza Roza	Desconhecido
				Fortaleza	
AC10	Felixlândia	Desconhecido	AC34	Deformada	Fortaleza/CE
AC11	Paraná	Desconhecido	AC35	Rubisol	Desconhecido
AC12	Coquinho	Desconhecido	AC36	João Liberalino	Desconhecido
AC13	Canela	Desconhecido	AC37	Laranja Cobal	Mossoró/RN
	Brazlândia				
AC14	Rosada	Brazlândia/DF	AC38	Roxa Feia	Desconhecido

Eucalipto			BRS Amélia		
AC15	Verde	Desconhecido	AC39	(biofortificada)	Desconhecido
AC16	ChicoVermein	Desconhecido	AC40	Beauregard	Desconhecido
AC17	PrincesaDF	Desconhecido	AC41	Ceará-mirim I	Desconhecido
Mãe de Família					
AC18	Vermelha	Desconhecido	AC42	Macaíba I	Desconhecido
AC19	Tiago Augusto	Vera Cruz/RN	AC43	Macaíba II	Desconhecido
AC20	Russas I	Russas/CE	AC44	Macaíba III	Desconhecido
Batata					
AC21	Jerimum	Desconhecido	AC45	Macaíba IV	Desconhecido
AC22	Petrolina	Petrolina/PE	AC46	Natal I	Desconhecido
Polpa					
AC23	Beterraba	Desconhecido	AC47	Campina	Desconhecido
AC24	Tianguá D	Desconhecido			

¹Código do acesso na coleção Didática de Germoplasma de batata-doce da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) de 2022.

4.2 EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA genômico foi extraído através de folhas de cada acesso de batata-doce. De acordo com o método CTAB com modificações. As folhas foram maceradas em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. O macerado foi colocado em microtubos estéreis de 2 mL, em seguida adicionados 700 µL do tampão de extração (Tris-HCl 100 mM, pH 8.0; EDTA 20 mM; NaCl 1,4 M; PVP 1%; CTAB 2%) e incubados em banho-maria por 1 hora a 60°C, e vertido a cada 10 minutos. Após a incubação foram adicionados aos microtubos 700 µL de CIA (clorofórmio-álcool isoamílico 24:1), a mistura foi centrifugada a 10.000 RPM durante 10 minutos, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo, foram acrescentados 55 µL de CTAB 7% e a lavagem com CIA repetida mais uma vez, após isso foi feita uma centrifugação de 10 minutos a 10.000 RPM. Posteriormente foram acrescentados 2/3 volumes de isopropanol e incubado a -20°C por 2 h ou *over night* para a precipitação do DNA das amostras. O DNA foi centrifugado nas mesmas condições mencionadas anteriormente e o pellet formado foi lavado com 1mL de etanol 70%, novamente foi posto a uma centrifugação de 10.000 RPM por 5 minutos e uma nova lavagem feita com 1 mL de etanol 90% e

centrifugado. Em seguida o pellet foi feito a secagem do pellet à temperatura ambiente por 40 minutos, logo após foram adicionados 45µL de água ultrapura e 5µL de RNase e os tubos foram incubados à 37°C em banho-maria por 30 minutos. Por fim, armazenados em freezer para uso posterior.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DO DNA

A quantificação e a verificação da integridade do DNA extraído foram realizadas por eletroforese em gel de agarose a 1,0% (p/v), corado com brometo de etídeo, visualizado em fotodocumentador de luz UV e fotografado.

4.4 ANÁLISE COM OS MARCADORES ISSR

As reações de amplificação, teste, com 19 marcadores moleculares ISSR. A partir dos resultados obtidos, foram realizadas reações utilizando 13 primers ISSR polimórficos.

As reações de amplificação foram realizadas com um volume total de 12 uL, no qual os reagentes foram misturados em forma de coquetel, separadamente do DNA. Cada reação conteve 10 ng de DNA genômico, 10 mM (pH 8,3) de Tris-HCl, 2,5 uM de MgCl₂, 2 mM de cada dNTP, 5 mM do iniciador ISSR, 1 unidade de Taq DNA polimerase e água milliQ estéril para completar o volume da reação.

Para a amplificação do DNA o programa constou uma etapa a 94 °C por 4 minutos para desnaturação inicial do DNA, seguida de 40 ciclos de amplificação, os quais possuíam: (1) desnaturação do DNA, 94 °C por 40 segundos; (2) anelamento do iniciador variando a temperatura conforme o tipo do iniciador 47, 50 ou 55 °C por 40 segundos; (3) amplificação do DNA, 72°C por 1 minutos. Por fim, a etapa de extensão final de 72 °C por 2 minutos.

Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 2% e corados com brometo de etídeo. A corrida eletroforética foi realizada em uma potência constante de 130V por três horas em uma solução de Tampão TBE 1X. Em seguida, o gel foi exposto à luz ultravioleta e fotografado em fotodocumentador.

4.5 ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA

Através da análise do padrão das bandas produzido por cada primer ISSR, os fragmentos gerados foram convertidos em matrizes de dados binários onde 1 significava a presença da banda e 0 a ausência. A matriz foi utilizada para calcular o grau de similaridade entre os isolados por meio do coeficiente de Jaccard (J). A partir dos dados obtidos, foi realizados dois agrupamentos através do método hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages*) no software NTSYSPc (Rohlf, 1998). O primeiro agrupamento considerou os 47 acessos, enquanto o segundo agrupamento considerou apenas 21 acessos. O segundo agrupamento foi realizado em virtude desses acessos já estarem caracterizados morfológicamente e haver a necessidade de comparação entre os agrupamentos usando descritores diferentes. Os valores de PIC (*Polymorphism information content*), foram calculados de acordo com Chesnokov and Artemyeva (2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 19 primers ISSR testados, 13 foram selecionados (Tabela 2) com base na qualidade e no número de bandas geradas e testado para os 47 acessos, os quais foram obtidas 128 bandas, sendo 117 polimórficas (91,4%) e 11 monomórficas (8,6%). A média de fragmentos de DNA polimórficos por primer foi de 9. O iniciador mais polimórfico foi DiGA3'RC, produzindo 15 bandas polimórficas, seguido pelos primers TriGTG3'YC com 14 bandas polimórficas e o primer TriACA3'RC com 13 bandas polimórficas cada. O PIC variou de 0,3108 (TriGTG3'YC) a 0,4488 (TriATG3'RC) com média de 0,3988 (Tabela 2).

Tabela 2: Primers ISSR utilizados, temperatura de anelamento, números de bandas total, polimórficas e monomórficas e o valor do conteúdo de informação polimórfica gerados no estudo de 47 acessos de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.).

ID	Sequência	Ta'	NºFP	NºFM	NºFA	PIC
DiGA3'C	(GA) ₈ C	55°C	11	0	11	0,4278
DiGA3'RC	(GA) ₈ RC	55°C	15	0	15	0,3654
DiGA3'T	(GA) ₈ T	47°C	12	0	12	0,3917
TriCAC3'RC	(CAC) ₄ CARC	55°C	9	2	11	0,3380
TriGTG	(GTG) ₅	55°C	4	4	8	0,4138
TriGTG3'YC	(GTG) ₅ YC	50°C	14	2	16	0,3108
TriGTG5'CY	CY(GTG) ₅	55°C	8	1	9	0,3278
TriTGT3'RC	(TGT) ₄ TGRC	47°C	8	0	8	0,4482
TriTGT5'CY	CY(TGT) ₅	50°C	6	0	6	0,4349
TriATG3'RC	(ATG) ₅ RC	50°C	8	0	8	0,4488
TriACA3'RC	(ACA) ₅ RC	50°C	13	0	13	0,4285
TriAGG3'RC	(AGG) ₅ RC	50°C	6	1	7	0,4065
TriTCA3'RC	(TCA) ₅ RC	47°C	3	1	4	0,4418
TOTAL			117	11	128	
MÉDIA						0,3988

R= A, G; Y= C, T; 'Ta= temperatura de anelamento. Identificação (ID), número de fragmentos polimórficos (NºFP), número de fragmentos monomórficos (NºFM), número de fragmentos amplificados (NºFA) e conteúdo de informação polimórfica (PIC).

Em um estudo realizado por He et al. (2007) utilizando 14 primers ISSR em 100 acessos de batata-doce, foram geradas 239 bandas polimórficas, com uma média de 17 bandas por primer, mostrando também a eficiência dos marcadores ISSR. Já o trabalho realizado por

Moulin, et al. (2012), os autores avaliaram a diversidade genética entre 82 acessos de batata-doce utilizando 19 marcadores de DNA ISSR, os quais geraram 146 bandas, sendo 135 polimórficas (92,4%) e 11 monomórficas (7,6%), e com uma média de 7,1 marcas polimórficas por primer, confirmando a eficiência do marcador ISSR na análise de diversidade genética em germoplasma de batata-doce. Em relação ao presente trabalho, pode-se perceber que a quantidade de primers ISSR e acessos utilizados foram inferiores em relação aos utilizados na pesquisa realizada por Moulin et al. (2012) e He et al. (2007). Porém, a média de bandas polimórficas por primer foi superior ao observado por Moulin et al. (2012), revelando expressiva detecção de diversidade genética entre os acessos avaliados.

A variação da similaridade genética dos 47 acessos de batata-doce foi de 0,2963 a 0,9359, com uma correlação cofenética de 0,8219. Observou-se que o maior grau de similaridade se deu entre os acessos AC11 e AC12 (0,9359), seguido dos acessos AC09 e AC10 (0,9024), enquanto o maior grau de dissimilaridade foi observado entre os acessos AC01 e AC45 (0,2963), seguido dos acessos AC01 e AC17 (0,2976). Através da análise de agrupamento foi obtido um ponto de corte de 0,44 dividindo os acessos de batata-doce em cinco subgrupos.

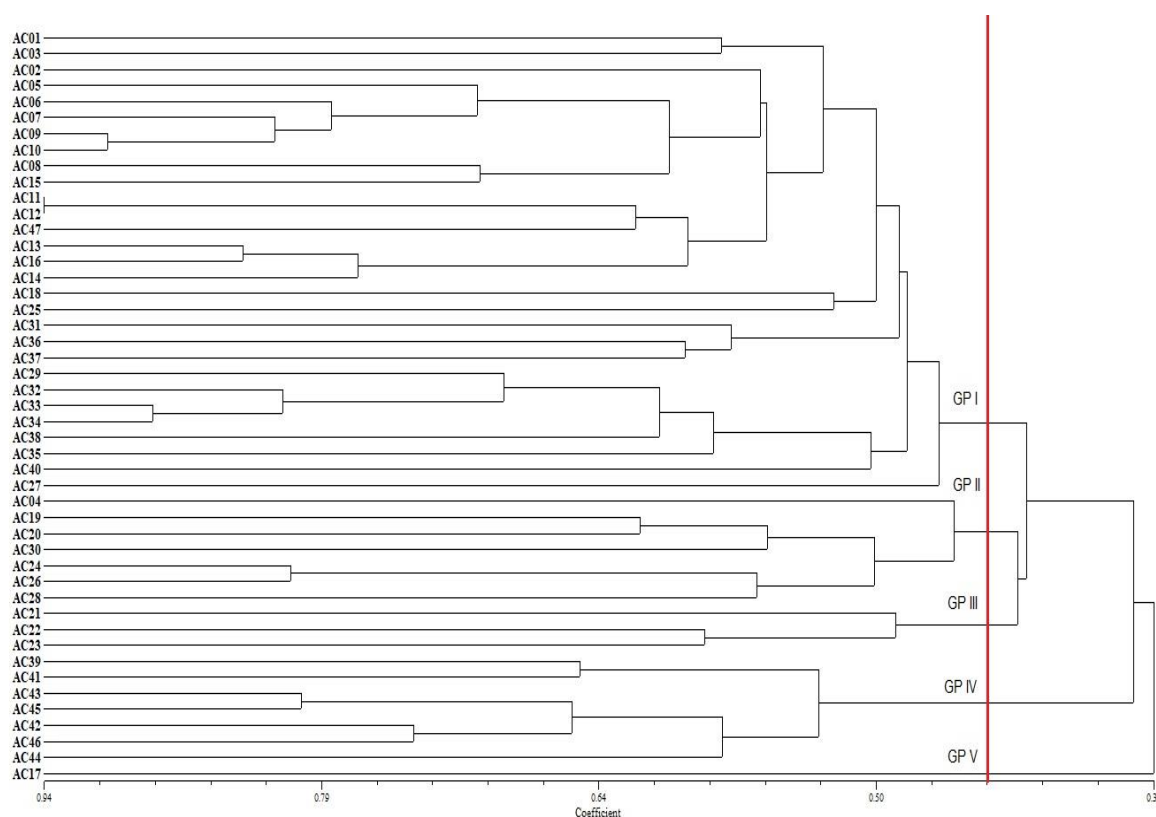


Figura 1: Dendrograma obtido através do método UPGMA gerado com o coeficiente de similaridade de Jaccard dos 47 acessos de batata-doce.

O subgrupo I foi constituído por 29 acessos. O subgrupo II formado por 7 acessos. O subgrupo III foi composto pelos acessos AC21, AC22 e AC23. O subgrupo IV foi constituído pelos acessos AC39, AC41, AC42, AC43, AC44, AC45, AC46. O subgrupo V foi formado pelo acesso AC17.

De acordo com a divisão dos subgrupos observados no dendrograma, obtido a partir dos 47 genótipos, foi possível observar que acessos de distâncias geográficas distintas se agruparam no mesmo subgrupo, como por exemplo, o subgrupo I, representado pelos acessos AC01, AC02 e AC03 (Mossoró/RN), AC 06 e AC14 (Brazlândia/DF), AC25 (Beberibe/CE), AC27 (Russas/CE), AC34 (Fortaleza/CE). No subgrupo II, seguiu-se a mesma distribuição com os acessos AC02 (Mossoró/RN), AC20 e AC30 (Russas/CE), AC26 (Manaus/AM).

Um estudo feito por Moulin et al. (2012), observou que acessos de batata-doce de municípios do Rio de Janeiro não apresentaram correlação entre a distância genética e a distância geográfica dos acessos. Segundo os autores, esse resultado pode ser devido à troca de material genético entre agricultores da região, o que resulta em genótipos similares em diferentes localidades e nomes. O mesmo foi observado no presente estudo, onde acessos, da região de Brazlândia/DF (AC14) se agrupou com acessos de locais de origem bem distantes, como o Mossoró/RN e Manaus/AM. No estudo realizado por Veasey et al. (2008), utilizando marcadores microssatélites em análises de variabilidade genética de batata-doce não encontraram correlação entre locais de origem geográficas e distâncias genéticas, corroborando o que foi observado no presente estudo.

Devido à escassez de informações, tal como morfológicas, de alguns dos 47 acessos de batata-doce avaliados no presente estudo, um segundo dendrograma (Figura 2) composto com 21 acessos (Tabela 3) foi gerado. Estes 21 acessos foram estudados por Miguel (2017), com base em descritores morfológicos.

Tabela 3: Acessos da Coleção Didática de germoplasma de batata-doce da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Código¹	Denominação	Local de origem	Código¹	Denominação	Local de origem
AC01	Esam I	Mossoró/RN	AC14	Tianguá DI	Desconhecido
AC02	Esam II	Mossoró/RN	AC15	Felixlândia	Desconhecido
AC03	Esam III	Mossoró/RN	AC17	Branca R8	Desconhecido
Brazlândia					
AC05	PincesaDF	Desconhecido	AC18	Branca	Brazlândia/DF
AC07	Petrolina	Petrolina/PE	AC19	Califórnia	Desconhecido

AC08	Russas I	Russas/CE	AC20	Tiago Augusto	Vera Cruz/RN
AC09	Russas II	Russas/CE	AC21	Sem Nome	Desconhecido
AC10	Amazônia	Manaus/AM	AC22	Sr. Antônio	Mossoró/RN
Chico					
AC11	Vermein	Desconhecido	AC23	Polpa Beterraba	Desconhecido
Mãe de Família					
AC12	Cenoura Ceará	Beberibe/CE	AC25	Vermelha	Desconhecido
AC13	Tianguá D	Desconhecido			

¹Código do acesso na coleção Didática de Germoplasma de batata-doce da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) de 2017.

A variação da similaridade genética gerada dos 21 acessos de batata-doce foi de 0,2600 a 0,8987, com uma correlação cofenética de 0,8702. Observou-se que o maior grau de similaridade se deu entre os acessos AC15 e AC19 (0,8987), seguido dos acessos AC14 e AC15 (0,8289), enquanto o maior grau de dissimilaridade foi observado entre os acessos AC07 e AC20 (0,2600), seguido dos acessos AC01 e AC05 (0,2716). Através da análise de agrupamento foi obtido um ponto de corte de 0,4552 dividindo os acessos de batata-doce em cinco subgrupos.

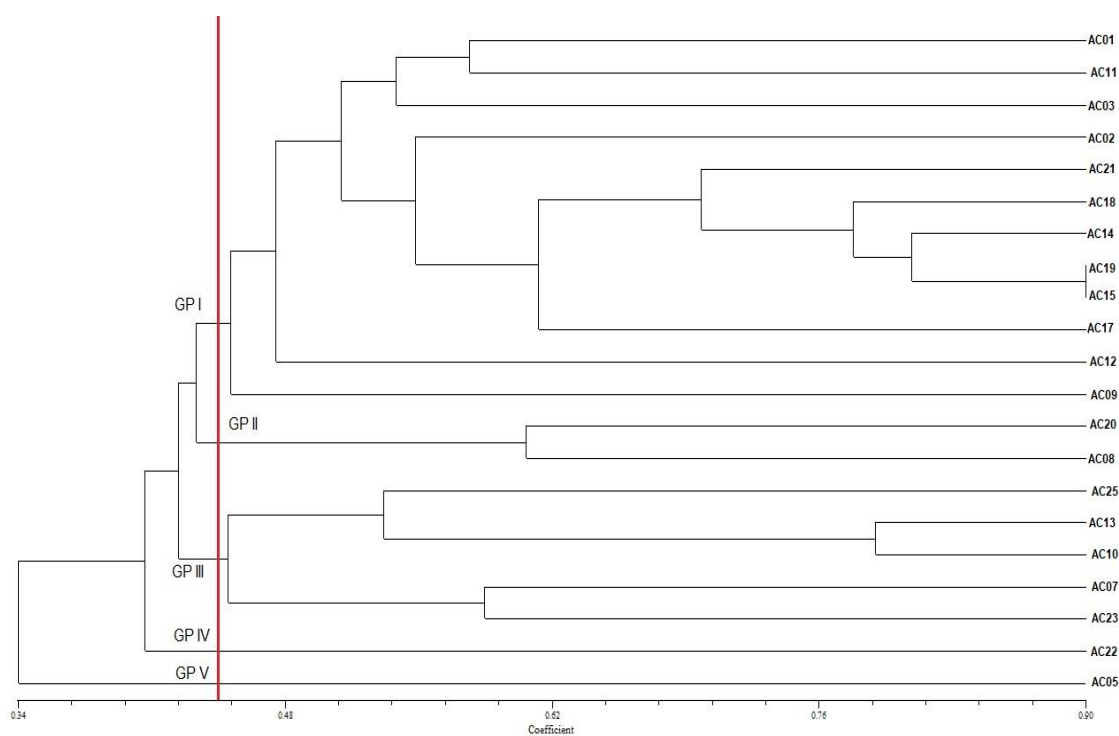


Figura 2: Dendrograma obtido através do método UPGMA gerado com o coeficiente de similaridade de Jaccard dos 21 acessos de batata-doce.

O subgrupo I foi constituído pelos acessos AC01, AC02, AC03, AC09, AC11, AC12, AC14, AC15, AC17, AC18, AC19 e AC21. O subgrupo II foi formado pelos acessos AC08, AC20. O subgrupo III foi composto pelos acessos AC07, AC10, AC13, AC23 e AC25. O subgrupo IV foi constituído pelo acesso AC22. O subgrupo V foi constituído pelos acessos AC05. É possível observar o agrupamento diferente, quando comparado com o estudo de Miguel (2017), onde em seu trabalho o grupo I foi composto pelos acessos AC01, AC13, AC07, AC02, AC23, AC03, AC15, AC14, AC17, AC11 e AC21. O grupo II foi constituído pelos acessos AC05, AC19, AC08, AC09 e AC10. O grupo III os acessos AC12, AC18, AC20 e AC25. O acesso AC22 formou sozinho o grupo IV. De acordo com dados qualitativos e quantitativos, como por exemplo as características morfológicas da cor da pele, no tipo de folha, formato e tipo do lóbulo central. Ao correlacionar os agrupamentos obtidos no presente estudo com os obtidos por Miguel (2017) observa-se que os acessos não apresentam sincronia na formação dos grupos. Estas observações podem estar relacionadas às distintas regiões amostradas pelos marcadores de DNA comparadas aos caracteres morfológicos avaliados. Ainda, percebe-se que o ambiente pode exercer interferência significativa nas características morfológicas dos acessos, necessitando de análises além do *in situ*, o que mostra que os marcadores moleculares de DNA seguem sendo uma opção viável para se ter uma resposta sobre a relação existente entre a variação do DNA associadas aos caracteres morfológicos (PIRES et al., 2015; FALEIRO, 2007).

6. CONCLUSÕES

Há diversidade genética entre os acessos de batata-doce (*I. batatas*) presentes na Coleção Didática de Germoplasma da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Através da análise de agrupamento, com os dados moleculares, foi possível observar que os genótipos não se agruparam de acordo com a localização geográfica.

Os marcadores ISSR foram informativos em diferenciar os grupos, concordando parcialmente com os dados morfológicos obtidos no estudo por Miguel (2017).

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, A. M., et al. Desempenho agronômico e parâmetros genéticos em genótipos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 84-90, 2015.
- AMARO, G. B. et al. Desempenho de cultivares de batata-doce para rendimento e qualidade de raízes em Sergipe. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 14, no. 1, 2019.
- BASÍLIO, L. S. P., et al. Pluralidade da batata-doce do campo à mesa: uma revisão narrativa. **Open science research i**, p. 174-190, 2022.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. (Ed.) Melhoramento de plantas. Viçosa: UFV, 2005. 525 p.
- BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156 p.
- BUSSAD, W. de O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. F. **Introdução à análise de agrupamentos**. São Paulo: ABE, 1990. 105 p.
- CAVALLARI, et al. Genetic variation in three endangered species of *Encholirium* (*Bromeliaceae*) from cadeia do espinhaço, Brazil, detected using RAPD markers. **Biodiversity and Conservation**. Madri, v. 15, p. 4357-4373, 2006.
- CAIXETA, E. T., et al. Tipos de marcadores moleculares. *Marcadores moleculares*, v. 2, p. 11-93, 2006.
- CAMARGO, L. K. P. Caracterização de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da Unicentro, PR. 2013.
- CARDOSO, A. D., et al. Avaliação de clones de batata-doce em Vitória da Conquista. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 911-914, 2005.
- CARMONA, P. A. O., et al. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando descritores morfoagronômicos das raízes. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 241-250, 2015.
- CAVALCANTE, R. R. Características produtivas de genótipos de batata doce em função de doses de fósforo em solos de terra firme no município de Careiro-AM. 2016.
- CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE HORTALIÇAS. Cultivo da batata-doce. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, v.7, 1995, 18 p. (Instruções técnicas do CNP Hortaliças).
- CHESNOKOV, Y. V.; ARTEMYEVA, A. M. Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. **Agricultural Biology**, v. 50, n.5, p. 571-578, 2015.

COLLARES, E. A. V. S.; CHOR, E.; DA SILVA PEREIRA, A. **Caracterização e divergência genética entre genótipos de batata através de marcadores RAPD**. Embrapa Clima Temperado, 2002.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa, UFV. 2003. 579p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa-MG: UFV, 2004, 480p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, p. 271-276, 2013.

DAROS, M. et al. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 20, p. 43-47, 2002.

DA SILVA, G. O.; PONIJALEKI, R.; SUINAGA, F. A. Divergência genética entre acessos de batata-doce utilizando caracteres fenotípicos de raiz. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 595-599, 2012.

DA SILVA JÚNIOR, D. F., et al. Manejo de insetos fitófagos na cultura da Batata-Doce *Ipomoea batatas* (L.) Lam. **Brazilian Journal of Development**, vol. 6, no. 1, p. 4050–4056, 2020.

DE ANDRADE JÚNIOR, V. C., et al. Características produtivas e qualitativas de ramas e raízes de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 584-589, 2012.

DE CASTRO, L. A. S., et al. Acessos de batata-doce do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado recomendados para mesa e processamento industrial. **Embrapa Clima Temperado. Documentos**, 2009.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema de Produção de Batata-Doce. 2021.

FABRI, E. G. **Diversidade genética entre acessos de batata-doce (*Ipomoea batatas* L. Lam.) avaliada através de marcadores microssatélites e descritores morfoagronômicos**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007.

FAO. Sweet Potato Data. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 18 nov. 2022.

FERNANDES, F. R. Limpeza clonal de batata-doce: produção de matrizes com elevada qualidade fitossanitária. **Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2013.

FERREIRA, M E.; GRATTAPAGLIA, Dario. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995.

FERREIRA, M. E.; FERNÁNDEZ, J. N.; GRATTAPAGLIA, D. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. 1998.

GICHUKI, S. T., et al. Genetic diversity in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] in relationship to geographic sources as assessed with RAPD markers. **Genetic resources and crop evolution**, v. 50, n. 4, p. 429-437, 2003.

GONÇALVES, L. S. A. et al. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 4, p. 1289-1297, 2008.

GOULÃO, L., OLIVEIRA, C.M. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus × doméstica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica* 122, 81–89 (2001). <https://doi.org/10.1023/A:1012691814643>.

HE, X.; LIU, Q.; ISHIKI, K.; ZHAI, H.; WANG, Y. ISSR analysis of genetic diversity and relationships among sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces in China. **Plant Genetics and Breeding**, v. 150, n. 1, p. 35-41, 2007.

HERSEY, C.; AMAYA, A.; CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Germoplasma de yuca: evolucion, distribucion y coleccion. **CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Yuca, investigacion, produccion y utilizacion**. Cali: CIAT, p. 77-89, 1982.

HU, J., et al. Genetic analysis of sweetpotato and wild relatives using inter-simple sequence repeats (ISSRs). **Breeding science**, v. 53, n. 4, p. 297-304, 2003.

HUANG, J. C.; SUN, M1. Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its wild relatives in *Ipomoea* series Batatas (*Convolvulaceae*) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, n. 7, p. 1050-1060, 2000.

IBGE, Produção Agrícola Municipal 2020. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/0?ano=2020>>. Acesso em: 14 set. 2021.

JAMSHIDI, S; JAMSHIDI, S. NTSYSpc 2.02 eimplementation in molecular biodata analysis (clustering, screening, and individual selection). In:4th International Conference on Environmental andComputer Science. **Proceedings...** Singapore. 2011.p. 165-169.

JOSHI, S. P. et al. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, n. 8, p. 1311-1320, 2000.

LAFIA, A. T., et al. Composição nutricional de biscoitos biofortificados com farinha de batata-doce. **Brazilian Journal of Development**, vol. 6, no. 9, p. 66846–66861, 2020.

MARIOT, A.; DOS REIS, M. S. Biodiversidade e sua importância como fonte de plantas medicinais. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 5, p. 60-69, 2006.

MIGUEL, L. C. V. Divergência genética em coleção didática de batata-doce por descritores morfológicos. 2017.

MIRANDA, J. E. C De et al. A cultura da batata-doce. **Brasília: Embrapa**, 1995.

MOULIN, M. M., et al. A comparison of RAPD and ISSR markers reveals genetic diversity among sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, p. 139-147, 2012.

MURTHY, PN N., et al. Genetic diversity analysis of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] germplasms through RAPD and ISSR markers. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 50, n. 1, p. 119-129, 2021.

NASS, L. L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. 2000.

NEIVA, I. P. et al. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce do banco de germoplasma da UFVJM, Diamantina. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 537-541, 2011.

NODARI, R. O., et al. FIT 5806-BIOTECNOLOGIA. 2016.

NUNES, H. F. **Batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] nas roças e quintais do litoral paulista: diversidade genética morfoagronômica, com base em morfometria geométrica, descritores e produção de bioetanol**. 2016. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz.

OLIVEIRA, A. P., et al. Características produtivas da batata-doce em função de doses de P₂O₅, de espaçamentos e de sistemas de plantio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 611-617, 2006.

OLIVEIRA, A. C. B., et al. Avaliação da divergência genética em batata-doce por procedimentos multivariados. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 4, 2000.

OLIVEIRA, A., et al. Características produtivas de clones de batata-doce cultivados em três períodos de cultivo em São Cristóvão-SE. **Horticultura Brasileira**, v. 33, p. 377-382, 2015.

OLIVEIRA NETO, M. A., et al. Comportamento de germoplasma de batata-doce em Sergipe. 2012.

PIRES, M. V. V., et al. Características morfológicas e variabilidade genética de araticum utilizando marcadores RAPD e microssatélites. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 149-158, 2015.

RITSCHER, P. S. et al. **Catálogo de germoplasma de batata-doce: I. Coleção mantida pela Embrapa Hortaliças**. Embrapa Hortaliças, 1999.

RITSCHER, P. S.; THOMAZELLI, LÚCIO F.; HUAMAN, ZÓSIMO. Caracterização morfológica de germoplasma de batata-doce mantido pela EPAGRI. **Embrapa Hortaliças-Outras publicações técnicas (INFOTECA-E)**, 1998.

RITSCHER, P. S.; HUAMÁN, Zósimo. Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata-doce da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 485-492, 2002.

ROESLER, P. V. S. de O., et al. Produção e qualidade de raiz tuberosa de cultivares de batata-doce no oeste do Paraná. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 117-122, 2008.

ROHLF, F. James. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.0 user guide. 1998.

ROULLIER, C., et al. On the origin of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) genetic diversity in New Guinea, a secondary centre of diversity. **Heredity**, v. 110, n. 6, p. 594-604, 2013.

SANTOS, JF dos; SOUSA, MR de; SANTOS, M. do CCA. Resposta da batata-doce (*Ipomoea batatas*) à adubação orgânica. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, p. 13-16, 2009.

SCAPIM, C. A.; DE CARVALHO, C. G. P.; CRUZ, C. D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 683-686, 1995.

SILVA, G. O., da et al. Desempenho de cultivares de batata-doce para caracteres relacionados com o rendimento de raiz. **Revista Ceres**, v. 62, p. 379-383, 2015.

SOUSA, RM de D., et al. Caracterização de clones de batata-doce mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças. **Embrapa Hortaliças-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2019.

VEASEY, E. A. et al. Genetic diversity in Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Solanales, Convolvulaceae) landraces assessed with microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 3, p. 725-733, 2008.

ZHANG, D., et al. Assessing genetic diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from tropical America using AFLP. **Genetic resources and crop evolution**, v. 47, n. 6, p. 659-665, 2000.