

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

**VARIABILIDADE E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS
MORFOMÉTRICAS E PROPRIEDADES DE PASTA DO AMIDO DE MANDIOCA**

SILVIA TEREZA MACEDO CARVALHO DE ALENCAR

CRUZ DAS ALMAS / BAHIA

2023

**VARIABILIDADE E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS
MORFOMÉTRICAS E PROPRIEDADES DE PASTA DO AMIDO DE MANDIOCA**

Silvia Tereza Macedo Carvalho de Alencar
Licenciada em Biologia
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais (Área de Concentração: Melhoramento genético).

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira
Coorientadora: Dra. Luciana Alves de Oliveira
Coorientador: Dr. Weverton Gomes da Costa

CRUZ DAS ALMAS / BAHIA

2023

A368v

Alencar, Sílvia Tereza Macedo Carvalho de.

Variabilidade e correlação entre características morfológicas e propriedades de pasta do amido de mandioca / Sílvia Tereza Macedo Carvalho de Alencar. - Cruz das Almas, BA, 2023.
61f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira.

Coorientadora: Dra. Luciana Alves de Oliveira.

Coorientador: Dr. Weverton Gomes da Costa.

1. Amido - Mandioca - Alimentos. 2. Mandioca - Melhoramento genético. 3. Variabilidade genética - Análise. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 664.02

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

**VARIABILIDADE E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERÍSTICAS
MORFOMÉTRICAS E PROPRIEDADES DE PASTA DO AMIDO DE MANDIOCA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Silvia Tereza Macedo Carvalho de Alencar

Aprovada em 28 de setembro de 2023

Documento assinado digitalmente



EDER JORGE DE OLIVEIRA
Data: 23/08/2024 15:55:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB

Examinador Interno (Orientador)

Documento assinado digitalmente



RONIELLI CARDOSO REIS
Data: 23/08/2024 14:52:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Ronielli Cardoso Reis

Embrapa Mandioca e Fruticultura / CNPMF

Examinador Externo

Documento assinado digitalmente



RICARDO FRANCO CUNHA MOREIRA
Data: 23/08/2024 15:17:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB

Examinador Interno

AGRADECIMENTOS

A Deus por me sustentar e me dar forças nessa trajetória.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB pela oportunidade da realização do curso de Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Mandioca e Fruticultura pela disponibilidade de recursos para o desenvolvimento da minha pesquisa.

Ao meu orientador Eder Jorge de Oliveira e coorientadores Luciana Alves de Oliveira e Weverton Gomes da Costa por todo auxílio, incentivo e apoio para concretização do curso.

A todos os professores que fazem parte do programa de pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, por todos os ensinamentos.

A toda Equipe Mandioca pelo auxílio e parceria no desenvolvimento das atividades em especial Diego Marmolejo.

A minha família por sempre acreditar em mim, em especial minha mãe Maria e minhas filhas Heloisa Carvalho e Julia Carvalho e filho Miguel Asaf Carvalho.

Aos meus amigos que tive o prazer em conhecer nessa trajetória Natália Rocha, Josué e Marluce.

E a todos que torcem pelas minhas conquistas e me auxiliaram nesse processo, mesmo de longe.

EPIGRAFE

Esperiei com paciência no Senhor, e ele se inclinou para mim e ouviu o meu clamor.

Salmos 40:1

SUMÁRIO

	Página
1. Introdução geral.....	9
2. Objetivos.....	9
2.1 Objetivo geral.....	9
2.2 Objetivos específicos.....	9
3. Referencial teórico.....	10
3.1. Aspectos gerais da cultura da mandioca.....	10
3.2. Diversidade genética.....	12
3.3. Características do amido.....	13
3.4. Propriedade de pasta do amido de mandioca.....	15
3.5. Forma e tamanho dos grânulos de amido	17
6. Referências bibliográficas	19
ARTIGO I	
Variabilidade fenotípica de genótipos de mandioca para tamanho e formato do grânulo de amido e suas implicações nas propriedades de pasta.....	25

Variabilidade e correlação entre características morfométricas e propriedades de pasta do amido de mandioca

RESUMO: A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das fontes alimentares mais importantes nos países em desenvolvimento, e grande parte da sua variabilidade genética é conservada em bancos de germoplasma. O amido é o principal produto explorado para consumo fresco ou processamento, além de inúmeras aplicações industriais. Existe um limitado conhecimento sobre a variação no tamanho e formatos dos grânulos e suas relações com outros atributos importantes do amido de mandioca. Este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade no tamanho e formato dos grânulos de amido de 276 genótipos de mandioca e sua influência nas propriedades de pasta. Os caracteres morfológicos estudados foram: número de grânulos em 1 g de amido (NG); área dos grânulos (AG, μm^2); comprimento (CG, μm), diâmetro (DG, μm), perímetro (PG, μm) e circularidade dos grânulos de amido (CIR). Os seguintes parâmetros de propriedade de pasta foram avaliados: viscosidade máxima, viscosidade mínima, quebra de viscosidade; viscosidade final e tendência a retrogradação. Os genótipos avaliados apresentam ampla diversidade fenotípica, sendo observada distribuição bimodal e divisão em duas populações com base nas características morfológicas do amido com base na análise discriminante de componentes principais (DAPC). Correlações significativas e de alta magnitude foram observadas apenas entre os grupos de variáveis, ou seja, características morfológicas dos grânulos e propriedades de pasta. As correlações entre as características das propriedades de pasta e as características morfométricas dos grânulos de amido foram de baixa magnitude (variação de -0,82 a -0,86), e portanto, é possível que essas últimas características tenham pouca influência no uso potencial do amido de mandioca.

Palavras-chave: Conservação e uso; Germoplasma; *Manihot esculenta* Crantz; Melhoramento; Seleção

Variability and correlation between morphometric traits and starch paste properties of cassava

ABSTRACT: Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the most important food sources in developing countries, and a large part of its genetic variability is preserved in germplasm banks. Starch is the main product exploited for fresh consumption or processing, as well as for numerous industrial applications. There is limited knowledge about the variation in the size and shapes of starch granules and their relationships with other important starch attributes in cassava. This study aimed to assess the diversity in the size and shape of starch granules in 276 cassava genotypes and their influence on paste properties. The morphological characters studied were: the number of granules in 1 g of starch (NG); granule area (AG, μm^2); length (CG, μm), diameter (DG, μm), perimeter (PG, μm), and circularity of starch granules (CIR). The following paste property parameters were evaluated: maximum viscosity, minimum viscosity, viscosity breakdown, final viscosity, and retrogradation tendency. The evaluated genotypes showed broad phenotypic diversity, with a bimodal distribution and division into two populations based on starch morphological characteristics through discriminant analysis of principal components (DAPC). Significant and high-magnitude correlations were observed only within variable groups, i.e., morphological characteristics of granules and paste properties. The correlations between paste property characteristics and morphometric characteristics of starch granules were of low magnitude (ranging from -0.82 to -0.86), and therefore, these latter characteristics may have little influence on the potential use of cassava starch.

Keywords: Conservation and use; Germplasm; *Manihot esculenta* Crantz; Breeding, Selection

1. INTRODUÇÃO GERAL

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura perene, pertencente à família Euphorbiaceae (LIMA et al., 2019). A cultura possui ampla adaptação a cultivo em solos com baixa disponibilidade de nutrientes, seca e diferentes condições edafoclimáticas (TAGLIAPIETRA et al., 2021). A mandioca desempenha um papel importante na segurança alimentar mundial pelo fato de ser consumida por milhares de pessoas em países da África, Ásia e América latina (ARISTIZÁBAL; SHARMA, 2020). Nessas regiões é considerada primordial na alimentação humana, principalmente para populações de baixa renda, por ser uma fonte rica em carboidratos, um nutriente de grande importância biológica (SILVA et al., 2018).

No panorama mundial, o Brasil se destaca como principal exportador e o quinto país com maior produção de raiz (FAOSTAT, 2023). No Brasil, o crescimento da produção de raiz de mandioca acompanha a elevação gradual das indústrias de farinha no país (CONAB, 2021). A região Norte lidera a produção de mandioca e os estados com maior produção são o Pará, seguido pelo Paraná e São Paulo (IBGE, 2022). Além disso, a produção vem se expandido de forma significativa nos estados da Bahia, Rondônia, Acre e Amazonas. A produção nacional em 2022 correspondeu a 17.648.564 milhões de toneladas de mandioca, com rendimento médio de 14,938 ton/ha (IBGE, 2022). Na Bahia, registrou-se um crescimento de 8,1% na produção em 2021, correspondente a 766.772 toneladas, representando um aumento de 57.741 toneladas de raízes em relação ao ano de 2020 (IBGE, 2022).

Além do consumo in natura das raízes, os produtos da mandioca, a exemplo do amido, podem ser utilizados por diversos segmentos industriais (VASCONCELOS et al., 2016). O amido é o mais abundante componente dos carboidratos das plantas, pois fornece grande quantidade de energia, sua biossíntese ocorre em sementes, tubérculos, frutos, raízes e folhas e é uma matéria-prima importante, utilizada na indústria de alimentos por causa de suas propriedades físico-químicas (LI; WEI, 2020). É um produto muito utilizado na culinária para preparo de pratos como mingau, sorvete, biscoitos, pão de queijo e outros. Também é utilizado na indústria farmacêutica, de celulose, de cosméticos e em alimentos embutidos (HOOGERHEIDE et al., 2019). Sendo

assim, as propriedades físicas e químicas do amido tem sido objeto de estudo por inúmeras pesquisas (SOUZA et al., 2006; OJOGBO et al., 2020; SANTOS et al., 2022; AI; JANE, 2018).

A mandioca é uma cultura economicamente importante com grandes demandas no mercado mundial e uma ampla variabilidade genética. Essa variabilidade é decorrente da seleção natural, processo de domesticação, facilidade de polinização cruzada e da alta heterozigosidade, o que origina uma infinidade de genótipos capazes de adaptar-se às condições edafoclimáticas extremas (áreas propensas a secas, inundações, solos de alta acidez e baixa fertilidade), que geralmente não são toleráveis por outras culturas (VENTURINI et al., 2016). Seu potencial tecnológico pode representar um grande diferencial na valorização da espécie para o país por apresentar perfis diferenciados de características físico-químicas e morfológicas (SANTOS et al., 2016). Portanto, é essencial a exploração da variabilidade genética presente em bancos de germoplasma de mandioca.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura da mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura perene, arbustiva, que pertence à família Euphorbiaceae (LIMA et al., 2019), com ampla adaptação a cultivo em solos com baixa disponibilidade de nutrientes, seca e diferentes condições edafoclimáticas (TAGLIAPIETRA et al., 2021). A morfologia dos genótipos de mandioca pode ser bastante variável em diversos órgãos como folhas (número de lóbulos, coloração das folhas, nervura, etc...), caule (cor externa do caule, do córtex, da epiderme e dos ramos terminais), número de hastes, características de raiz (cor de polpa, cor da casca, entrecasca, formato, etc...) além de diferenças no hábito de crescimento e retenção foliar (FUKUDA; IGLESIAS, 2006).

A mandioca é a principal fonte de carboidratos para milhões de pessoas, principalmente em países em desenvolvimento (ARAÚJO; SILVA; DE LIMA-HECK, 2021; RAHMAWATI et al., 2021), sendo a quarta principal fonte de energia depois do arroz e do milho para populações na África, Ásia e América

do Sul (VERSINO et al., 2019). Além do consumo in natura, a mandioca pode ser utilizada para produção de produtos de maior valor agregado como a farinha e o amido (FRANCO et al., 2001; LATIF; MULLER, 2015).

A mandioca é principalmente cultivada em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, com destaque para países do continente africano, do sudeste asiático e América Latina (HERSHEY, 2020). Em 2012, o comércio global de produtos da mandioca e o crescimento da cultura no continente africano, possibilitou o atingimento de níveis recordes de produção de raízes (HOWELER et al., 2013). A Nigéria lidera a produção de raízes de mandioca, seguida pela República Democrática do Congo, Tailândia e Gana, com uma produção de 63,0, 45,7, 28,8 e 22,7 milhões de toneladas, respectivamente, de raiz em 2021 (FAOTAST, 2023). O Brasil encontra-se em quinto lugar, com produção de 18,1 milhões de toneladas e produtividade média de 15,01 t ha⁻¹ (FAOTAST, 2023). No entanto, nos últimos 20 anos a produção de mandioca reduziu aproximadamente 16%, apresentando em 1999 aproximadamente 20 milhões de toneladas e caindo para 17 milhões em 2019, retratando a perda significativa de produção (FAOSTAT, 2023).

A Figura 1 apresenta a evolução da produção e produtividade de raiz de mandioca no Brasil, no período de 2000 a 2023. Em relação ao mercado nacional, o estado do Pará é o maior produtor com produção em 4,05 milhões, seguido pelo Paraná com 3,41 milhões e São Paulo com 1,46 milhões de toneladas de raiz, que juntos representam quase metade da produção nacional (IBGE, 2023). O estado da Bahia produziu 766.772 toneladas (IBGE, 2023).

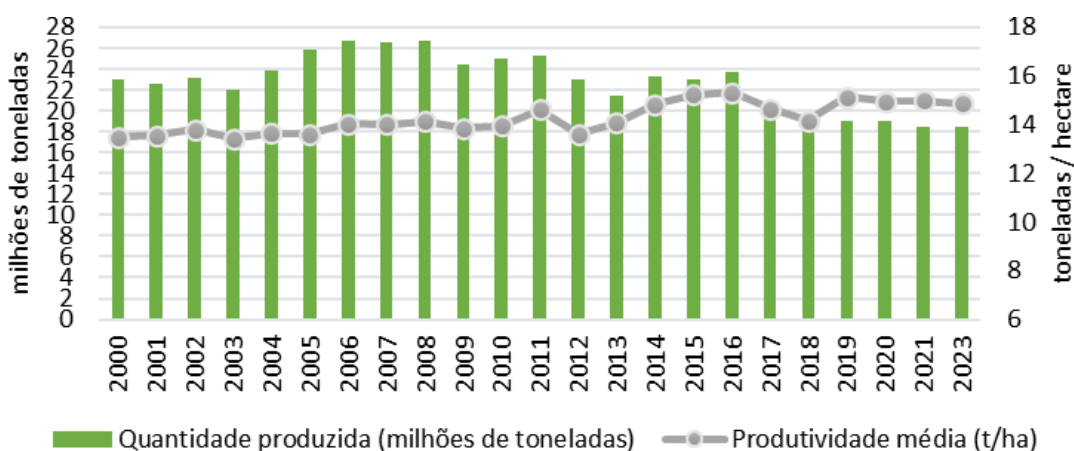


Figura 1. Evolução da produção e produtividade de raiz de mandioca segundo o IBGE (IBGE, 2023).

2.2 Diversidade genética

Embora a mandioca seja capaz de produzir sementes, a propagação comercial da cultura é realizada principalmente de forma vegetativa por secções do caule denominadas popularmente como manivas. Qualquer parte do caule pode ser usada, preferencialmente, as hastes maduras (quando o diâmetro da medula é igual ou inferior a 50% do diâmetro do caule) (CEBALLOS; CALLE, 2007).

Em decorrência da evolução da espécie, seleção natural, polinização cruzada tendo como resultado elevada heterozigosidade, a mandioca apresenta ampla variabilidade genética natural, o que explica sua adaptação às diferentes condições de clima e solo, possibilitando o seu cultivo em diversos países (VENTURINI et al., 2016; EBERTZ; PALOMINO, 2017). Por outro lado, os efeitos antrópicos, têm trazido impacto significativo na perda de diversidade em diversos ecossistemas ao redor do mundo. Vários fatores antropogênicos contribuem para essa perda e podem ter consequências graves para os ecossistemas e para a própria humanidade. Assim, tornou-se necessário a conservação do patrimônio genético disponível de mandioca para evitar a erosão genética da espécie. O principal objetivo dos bancos de germoplasma é armazenar os recursos genéticos disponíveis, de maneira a evitar a perda de genes ou de combinações gênicas favoráveis e, assim, assegurar uma ampla base genética para os programas de melhoramento e demais usos potenciais da espécie (FIGUEREDO et al., 2019).

A principal coleção de germoplasma da mandioca é mantida no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado na Colômbia, tanto em *ex situ* (campo) como *in vitro* (laboratório), e inclui um total de 6.155 acessos de 28 países, representados em 5.690 clones e 465 genótipos de espécies silvestres, sendo que mais de 37% da diversidade genética de mandioca conservada no banco de dados do CIAT é originária da Colômbia. Contudo, coleções de outros países da América do Sul (21%), bem como da América Central e do Caribe (7%) e Ásia (7%) também são conservadas no CIAT (CIAT, 2019). No Brasil, o

principal Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de mandioca está localizado na EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, localizada em Cruz das Almas – BA. O BAG possui cerca de 2300 acessos com ampla base genética.

Além da conservação dos recursos genéticos, os acessos dos BAGs têm sido caracterizados para posterior uso nos programas de melhoramento genético (HERNANDEZ-SUAREZ, 2018; PÁDUA, 2018). A caracterização do germoplasma pode ser realizada por meio de caracteres fenotípicos (descritores morfológicos e agronômicos) e por marcadores moleculares (KHOURY; LALIBERTÉ; GUARINO, 2010). A caracterização morfológica permite identificar e diferenciar fenotipicamente os acessos, geralmente tendo alta herdabilidade e a expressão fenotípica pouco influenciada pelo ambiente. Já a caracterização agronômica permite visualizar de forma preliminar a adaptação e o potencial produtivo dos fenótipos, sendo acessada desejáveis sob ponto de vista agronômico e econômico, porém por caracteres com baixa herdabilidade e expressão altamente influenciada pelas condições ambientais. Desse modo, ambos contribuem para identificar genótipos com características de interesse para uso como parentais em programas de melhoramento (ELAMEEN et al., 2011; LAURIE et al., 2013).

2.3 Características do amido

Nas plantas superiores o amido pode ser sintetizado nos cloroplastos atuando como reserva de curto prazo ou nos amiloplastos atuando como reserva de energia de longo prazo (TAIZ; ZEIGER, 2017). O amido é o biopolímero mais abundante da mandioca, composto por dois polímeros de glicose: amilose e amilopectina (BARBOSA et al., 2019). A amilose se acumula entre 15 e 35% dos grânulos e é um polissacarídeo linear com unidades de D-glicose unidas por ligação alfa (1-4) (Figura 2). Por outro lado, a amilopectina é uma molécula altamente ramificada com ligações alfa (1-4) e 5% de ramificações unidas por ligações alfa (1-6) (Figura 2) (BEMILLER, 2019; MAJZOABI; FARAHNAKY, 2021).

O amido por ser um material renovável, biodegradável e não tóxico, pode ser utilizado em diversos segmentos industriais, como por exemplo, na indústria alimentícia, têxtil, metalúrgica, farmacêutica, cosmética, entre outros (OJOGBO

et al., 2020). Na indústria alimentícia, este elemento interfere nas propriedades de textura de muitos alimentos e possui várias aplicações, como retentor de água, espessante, geleificante, agente de volume e viscosidade; além disso, o amido de mandioca não apresenta o sabor típico de cereal (TEIXEIRA et al., 2017; MENDES; BORA; RIBEIRO, 2012; GARRIDO et al., 2014).

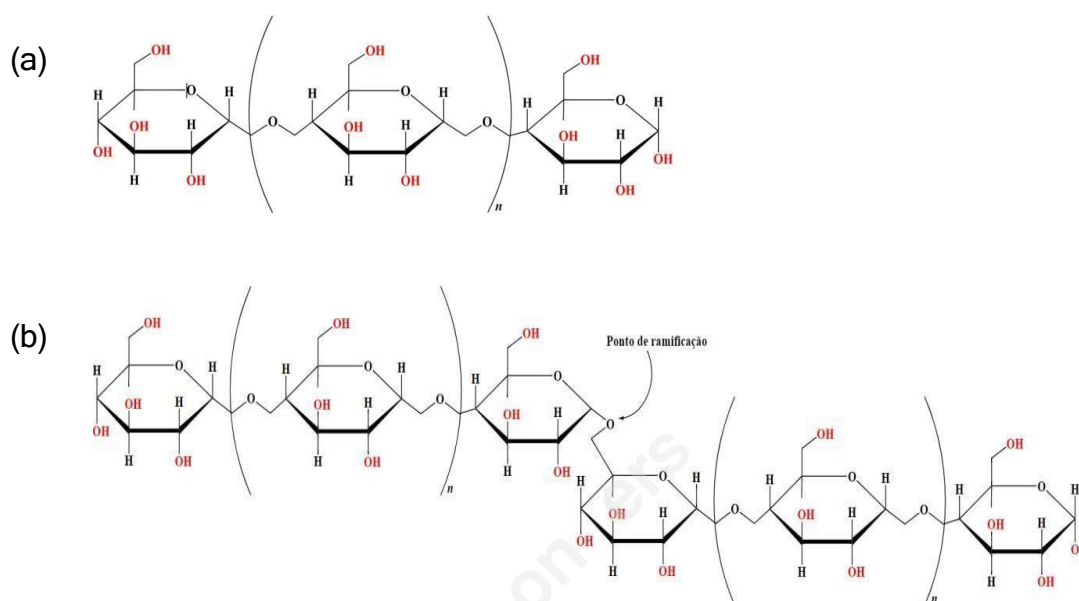


Figura 2. Fórmula estrutural da amilose (a) e amilopectina (b). Fonte: Farias (2022).

A função do amido na indústria está diretamente relacionada com a estrutura, tamanho dos grânulos do amido e as proporções da amilose e amilopectina que variam entre espécies ou entre genótipos (DEREJE, 2021; MAKROO et al., 2021). A amilose possui alta tendência à retrogradação com produção de géis firmes e filmes mais resistentes, em contrapartida, a amilopectina, quando dispersa em água, torna-se mais estável e produz géis macios e filmes fracos. O conteúdo de amilose é um parâmetro significativo de qualidade para a maioria dos produtos à base de amido. Além desses componentes, é possível identificar frações menores de proteínas e lipídios que interferem nas propriedades físico-químicas dos amidos de diferentes origens

botânicas (ZHU; et al., 2018; AZEVEDO et al., 2018; ASHOGBON; AKINTAYO, 2014).

Na indústria, modificações físicas (pré-gelatinização, hidrotérmicos e não térmicos) e químicas (oxidação, esterificação, eterificação) são por vezes necessárias para superar características indesejáveis e/ou tornar o amido adequado para utilizações específicas (SANTOS et al., 2022; AI; JANE, 2018). A utilização industrial de amidos nativos é limitada devido à insolubilidade em água e sua tendência a retrogradar facilmente e sofrer sinérese e, portanto, formar pastas e géis instáveis (ASHOGBON; AKINTAYO, 2014). Além disso, existe uma resistência ao uso de amidos, submetidos a modificações químicas, usados na indústria de alimentos, uma vez que muitos produtos químicos são utilizados neste processo (MOORTHY, 2002). Desta forma, amidos nativos e com características diversificadas são objeto do melhoramento das culturas amiláceas, visando diminuir a necessidade de modificações do amido para fins comerciais, além da redução de custos e geração de resíduos.

2.4 Propriedade de pasta do amido de mandioca

A interação entre moléculas de amido durante o aquecimento na presença de água acarreta nas modificações das propriedades, sendo estas dependentes da quantidade de água presente, da temperatura e tempo de tratamento (GOMES et al., 2004). Dentre os equipamentos utilizados para determinar as propriedades de pasta do amido, o analisador rápido de viscosidade (RVA – *rapid visco analyser*), é um dos métodos mais utilizados que abrange aquecimento, cisalhamento e resfriamento (PALABIYIK et al., 2017). Esse equipamento analisa o comportamento do grânulo de amido submetido à hidratação e ciclos de aquecimento e resfriamento. Sendo assim, o comportamento reológico do amido é caracterizado pelas fases de empastamento, cozimento e retrogradação.

Durante a fase inicial de aquecimento, na qual a temperatura é elevada de 50 a 95 °C ocorre intensa absorção de água pelos grânulos de amido que passam por inchamento, gerando aumento repentino da viscosidade da suspensão, cuja temperatura e intensidade dependem do tipo de amido assim como da presença de solutos na solução (ZORTÉA et al., 2011). A fase do

cozimento é caracterizada pelo comportamento dos grânulos de amido gelatinizados quando estão sendo submetidos simultaneamente a agitação mecânica e cocção, com manutenção da temperatura a 95 °C. Já a fase de retrogradação é caracterizada pela elevação da viscosidade aparente que ocorre em consequência do resfriamento das pastas de amido de 95 para 50 °C (ZORTÉA et al., 2011). Durante o processo, a viscosidade de pasta é medida em relação ao tempo e temperatura, sendo os parâmetros obtidos a temperatura de empastamento, tempo de pico, viscosidade de pico, viscosidade mínima, quebra de viscosidade, viscosidade final e tendência a retrogradação.

Quando os grânulos de amido são aquecidos na presença de água, as moléculas de amido vibram com força, rompendo as ligações intermoleculares, estabelecendo ligações de hidrogênio com a água e provocando inchamento dos grânulos, acompanhado do decréscimo do número e tamanho das regiões cristalinas, além da perda da característica de birrefringência (AZEVEDO et al., 2018). Nesse momento, a viscosidade da solução aumenta consideravelmente, já que, com o inchamento, os grânulos aderem uns aos outros e podem até romper-se quando a solução é agitada, com diminuição da viscosidade. Com isso, desaparece a birrefringência, e tem-se o chamado ponto ou temperatura de gelatinização (HOOVER, 2001). Nessa temperatura, na qual varia conforme a origem botânica do amido, as ligações de hidrogênio mais fracas entre as cadeias de amilose e de amilopectina são rompidas e os grãos de amido nessas regiões começam a intumescer e formar soluções consideravelmente viscosas. Após esse processo, as moléculas de amido gelatinizado podem se reestruturar em meio a condições favoráveis, recuperando a cristalinidade e determinando à retrogradação do amido. Durante o armazenamento, as moléculas do amido gelatinizado perdem energia e as ligações de hidrogênio se tornam mais fortes e assim as cadeias formam uma estrutura mais ordenada, com formação de hélices simples e duplas resultando na formação de zonas cristalinas entre as moléculas. Em geral é um processo que ocorre em dois estágios. O primeiro é caracterizado pela formação de regiões cristalinas a partir da amilose retrogradada, ocorrendo de forma rápida, e o segundo estágio envolve a formação de uma estrutura ordenada dentro da amilopectina (DENARDIN; SILVA, 2009). Como consequência, os géis não se tornam rígidos com o avanço do resfriamento (retrogradação). Portanto, o grau e o tamanho das ramificações,

bem como o seu relativo modelo de distribuição podem ser úteis para prever o comportamento do amido (JANE et al., 1999).

Outros fatores como tamanho dos grânulos e a presença de componentes, tais como lipídeos e proteínas, também pode influenciar o comportamento geral do amido (JANE et al., 1999). Por exemplo, o amido da mandioca apresenta boas propriedades de pasta, menor sinérese e sabor neutro devido ao seu baixo teor de lipídios e proteínas, o que lhe confere uma vantagem sobre os amidos de cereais para a indústria alimentícia (CARMO et al., 2020; MOORTHY, 2002). Por absorver mais água, o amido de mandioca é usado na indústria frigorífera como agente ligante em salsichas e linguiças. Uma vez que não possui glúten, é utilizado para o preparo de produtos para celíacos ou para padronizar o teor de glúten em diversos alimentos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2015). Portanto, a presença de variabilidade em características de propriedades de pasta possibilita o desenvolvimento de variedades com aplicações alimentares e industriais específicas.

2.5 Forma e tamanho dos grânulos de amido

O amido é sintetizado nas organelas celulares chamadas de amiloplastos, e conforme seu desenvolvimento, formam uma estrutura semicristalina conhecida como grânulo de amido (LLOYD; KOSSMANN, 2019). Os grânulos de amido de mandioca apresentam uma grande diversidade de formatos (redondo, oval, poligonal e oval truncado) e tamanhos (diâmetro de 2,0 a 3,1 μm) (GUSNI et al., 2022).

Em mandioca, também foram reportadas variações em relação ao tipo de grânulos (redondo, truncado cilíndrico, oval, esférico e composto) e tamanho variando de 4 a 43 μm (MOORTHY, 2002). Buléon et al. (1998) observaram uma amplitude de tamanho de grãos similar, com variação de 4 a 35 μm , no entanto, encontraram menor variação nos formatos dos grânulos (redondo e oval).

Para avaliação das características morfológicas dos grânulos de amido utilizam-se técnicas microscópicas. Segundo Eliasson (2017), o microscópio óptico ou microscopia de luz permite verificar a forma e a dimensão dos grânulos de amido, bem como obter imagens de sua superfície, para que seja possível avaliar as estruturas e a diversidade dos grânulos disponíveis.

Devido a influência de características relacionadas a morfologia dos grânulos de amido nas propriedades térmicas e de pasta, por exemplo no poder de inchaço do grânulo e gelatinização (KUMAR; KHATKAR, 2017), o presente estudo busca correlacionar esses parâmetros. Por exemplo, os amidos podem sofrer diferentes estágios de intumescimento a partir da absorção de água de regiões amorfas de seus grânulos (CHISENGA et al., 2019). Portanto, investigar a variabilidade entre as variedades de mandioca para forma e tamanho dos grânulos e as propriedades da pasta, irão permitir a seleção de variedades de mandioca para diferentes aplicações industriais. Assim, o objetivo geral desse estudo foi avaliar a variação no tamanho e formato dos grânulos de amido e suas implicações no perfil de viscosidade da pasta por meio do *screening* em um painel de germoplasma de mandioca com ampla diversidade fenotípica.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AI, Y.; JANE, J.L. Understanding starch structure and functionality. In: Sjö M, Nilsson L, editors. *Starch in food: structure, function and applications*. 2nd ed. **Woodhead Publishing**; p. 151-78, 2018.
- ARAÚJO, É. de O.; DA SILVA, P. M.; DE LIMA-HECK, C. R. Análise comportamental do agronegócio da mandioca no Brasil e no estado do Amazonas de 2006 a 2015. **Acta Geográfica**, v. 15, n. 38, p. 102-123, 2021.
- ARISTIZÁBAL, J.; SHARMA, S. Adding value to cassava family farming through fermented cassava foods. **Indian Food Industry Mag.** v. 2 n. 6, Nov-Dec, 2020.
- ASHOGBON, A. O.; AKINTAYO, E. T. Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: A review. **Starch-Staerke**, v. 66, p. 41-57, 2014.
- AZEVEDO, L. C. De; De SÁ, A. S. C.; ROVANI, S.; FUNGARO, D. A. Propriedades do amido e suas aplicações em biopolímeros. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, p. 351-358, 2018.
- BARBOSA, J. V.; MARTINS, J.; CARVALHO, L.; BASTOS, M. M.; MAGALHÃES, F. D. Effect of peroxide oxidation on the expansion of potato starch foam. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 428-435, 2019.
- BEMILLER, J. N. Starches: molecular and granular structures and properties. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**, v. 3, p. 159-189, 2019.
- BULÉON, A. et al. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85-112, 1 ago. 1998.
- CEBALLOS, H.; CALLE, F. Cassava. In: JUAN, F.; NEBAMBI, L.; LARINDE, M.; BARKER, I.; ROCA, W.; CHUJOY, E. (Eds.). *Quality declared planting material Protocols and standards for vegetatively propagated crops*. Lima: Food & Agriculture Organization of the United Nations, p. 33-39, 2007.
- CHISENGA, M.S; WORKNEH, S.T; BULTOSA, G; LAING, M; Characterization of physicochemical properties of starches from improved cassava varieties grown in Zambia. **AIMS Agriculture and Food**, v. 4, n. 4, p. 939-966, 2019.
- CIAT. Centro Internacional Agricultura. Tropical. Disponível de em:<<https://ciat.cgiar.org/what-we-do/crop-conservation-and-use/cassava-diversity/>>. Acesso em 21 nov. 2019.

- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Análise Mensal. Mandioca. Out. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-mandioca>. Acesso em: 04 de outubro de 2023.
- DENARDIN, C. C.; Da SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, 2009.
- DEREJE, B. Composition, morphology and physicochemical properties of starches derived from indigenous Ethiopian tuber crops: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, p. 911-921, 2021.
- CARMO, C. D., BANDEIRA E SOUSA, M., SANTOS PEREIRA, J. D., CEBALLOS, H., & OLIVEIRA, E. J. Identification of waxy cassava genotypes using fourier-transform near-infrared spectroscopy. **Crop Science**, v. 60, n. 2, p. 883-895, 2020. <https://doi.org/10.1002/csc2.20102>
- EBERTZ, O. F.; PALOMINO, E. C. Caracterização morfológica de genótipos de *Manihot esculenta* Crantz obtidos via sementes. **Revista Agroecossistemas**, v. 9, n. 2, p. 66-77, 2017.
- ELAMEEN, A. et al. Phenotypic diversity of plant morphological and root descriptor traits within a sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam., germplasm collection from Tanzania. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, n. 3, p. 397-407, 2011.
- ELIASSON, A.-C. Starch: Physicochemical and functional aspects. In: Eliasson A-C, editor. **Carbohydrates in food**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press; p. 479-577, 2017.
- FAOSTAT- FOOD AND AGRICULTURE DATA. 2013.. Disponível on-line: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 22 Ago. 2023.
- FIGUEREDO, P. E.; TIAGO, A. V.; ZANETTI, G. T.; PINTO, J. M. A.; ROSSI, A. A. B.; HOOGERHEIDE, E. S. S. Diversidade genética de mandiocas na região periurbana de Sinop, Mato Grosso, Brasil. **Magistra**, v. 30, n. 1, p. 143-153, 2019.
- FOOD INGREDIENTS BRASIL. Amidos estrutura e fontes. **Food Ingredients Brasil**, v. 35, p. 1-26, 2015.
- FRANCO, C. M. L. et al. Propriedades do Amido. In: Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, **Propriedades Gerais do Amido**, CEREDA, M.P. (coord.). São Paulo: Fundação Cargill, v. 1, p. 224, 2001.

- FUKUDA, W.M.G.; IGLESIAS, C. Recursos genéticos. In: SOUZA, L. da S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P. L. P. de; FUKUDA, W.M.G. (Ed.). Aspectos Socioeconômicos e Agronômicos da Mandioca. Cruz das Almas, BA: **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, p. 301-323, 2006.
- GARRIDO, L. H.; SCHNITZLER, E.; ZORTÉA, M. E. B.; DE SOUZA ROCHA, T.; DEMIATE, I. M. Physicochemical properties of cassava starch oxidized by sodium hypochlorite. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2640- 2647, 2014.
- GOMES, A.M.M., DA SILVA, C.E.M., RICARDO, N.M.P.S., SASAKI, J.M. AND GERMANI, R. Impact of Annealing on the Physicochemical Properties of Unfermented Cassava Starch ("**Polvilho Doce**"). *Starch/Stärke*, 56: 419- 423, 2004. <https://doi.org/10.1002/star.200300271>
- GUSNI, V. S.; CHATRI, M.; DES, M.; AKHYAR, A.; HARTATI, N. S.; FITRIANI, H.; TARYANA, N. Diversity of the Starch Granule Morphology of Several Types Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA**, v. 23, n. 03, p. 167-174, 2022.
- HERNANDEZ-SUAREZ, C. Measuring the representativeness of a germplasm collection. **Biodiversity and conservation**, v. 27, n. 6, p. 1471-1486, 2018.
- HERSHEY C.H. Cassava genetic improvement: Theory and practice. Cali (Colombia): **International Center for Tropical Agriculture**. p. 443. 2020.
- HOOGERHEIDE T, A. V, E. S. S.; PEDRI, E. C. M.; ROSSI, F. R.; CARDOSO, E. S.; PINTO, J. M. A.; PENA, G. F.; ROSSI, A. A. B. Genetic diversity and population structure of cassava ethno-varieties grown in six municipalities in the state of Mato Grosso, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 4, egmr18357, 2019.
- HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. *Carbohydrate Polymers*, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001
- HOWELER, R.; LUTALADIO, N.; THOMAS, G. **Save and grow: cassava. A guide to sustainable production intensification**. FAO, Roma (Italia), 2013.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Banco de Dados Agregados. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Tabela 1612 - Área plantada, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras

temporárias, 2022. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612> Acesso em 06 abr. 2023.

JANE, J., CHEN, Y.Y., LEE, L.F., MCPHERSON, A.E., WONG, K.S., RADOSAVLJEVIC, M. AND KASEMSUWAN, T. (1999), Effects of Amylopectin Branch Chain Length and Amylose Content on the Gelatinization and Pasting Properties of Starch. **Cereal Chemistry**, 76: 629-637. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.5.629>

KHOURY, C.; LALIBERTÉ, B.; GUARINO, L. Trends in ex situ conservation of plant genetic resources: a review of global crop and regional conservation strategies. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 57, n. 4, p. 625-639, 2010.

KUMAR, R.; KHATKAR, S. B. Thermal, pasting and morphological properties of starch granules of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. **Journal of food science and technology**, v. 54, p. 2403-2410, 2017.

LATIF, S.; MULLER, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 44, n. 2, p. 147-158, 2015.

LAURIE, S. M. et al. Characterization and evaluation of South African sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) LAM) land races. **South African Journal of Botany**, v. 85, p. 10-16, 2013.

LI, Z.; WEI, C. Morphology, structure, properties and applications of starch ghost: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 2084-2096, 2020.

LIMA, L. P.; AZEVEDO, C. F.; RESENDE, M. D. V. de; SILVA, F. F.; VIANA, J. M. S.; OLIVEIRA, E. J. Triple categorical regression for genomic selection: application to cassava breeding. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 5, p. 368-375. 2019.

LLOYD, J. R.; KOSSMANN, J. Starch trek: The search for yield. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1-8, 2019.

MAJZOBI, M.; FARAHNAKY, A. Granular cold-water swelling starch; properties, preparation and applications, a review. **Food Hydrocolloids**, v. 111, p. 106393, 2021.

MAKROO, H. A.; NAQASH, S.; SAXENA, J.; SHARMA, S.; MAJID, D.; DAR, B. N. Recovery and characteristics of starches from unconventional sources and their potential applications: A review. **Applied Food Research**, v. 1, n. 1, p. 100001, 2021.

- MENDES, M. L. M.; BORA, P. S.; RIBEIRO, A. P. L. Propriedades morfológicas e funcionais e outras características da pasta de amido nativos e oxidado da amêndoa do caroço de manga (*Mangifera indica* L.) variedade Tommy Atkins. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, São Paulo, 2012.
- MOORTHY, S. N. Physicochemical and Functional Properties of Tropical Tuber Starches: A Review. *Starch - Stärke*, v. 54, n. 12, p. 559-592, 2002.
- OJOGBO, E.; OGUNSONA, E. O.; MEKONNEN, T. H. Chemical and physical modifications of starch for renewable polymeric materials. **Materials Today Sustainability**, v. 7, p.100028, 2020.
- PÁDUA, J. G. Conservation of crop genetic resources in Brazil in the context of the target 9 of the Global Strategy for Plant Conservation. **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 1557-1565, 2018.
- PALABIYIK, I., TOKER O. S., KARAMAN, S., YILDIZ, O. A modeling approach in the interpretation of starch pasting properties. **Journal of Cereal Science**, v. 74, p. 272-278, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.02.008>
- RAHMAWATI, R. S.; SUKMA, D.; ARDIE, S. W.; SUDARSONO, S. Postharvest physiological deterioration in cassava: potential problems, possible inhibition, and resistant level identification. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **IOP Publishing**, p. 012035, 2021.
- SANTOS, S. C; SOUZA, M. B.; BRITO, A. C.; OLIVEIRA, L. A.; CARVALHO, C. W. P.; OLIVEIRA, E. J. Genome-wide association study of cassava starch paste properties. **PLoS ONE**, 17, v. 1, p. e0262888, 2022.
- SANTOS, T. P. R., LEONEL, M., GARCIA, É. L., CARMO, E. L., & FRANCO, C. M. L. Crystallinity, thermal and pasting properties of starches from different potato cultivars grown in Brazil. **International Journal of Biological**, v.82, p.144-149, 2016.
- SILVA, L. E. B., SANTOS, J. K. B. dos., AMORIM, N. O. D; SOUZA, T. A. D. Analysis of the development of the culture of the *Panicum miliaceum* L. (*Panicum miliaceum* L.) in soils where there was the cultivation of manioc (*Manihot esculenta* Crantz), with addition of the inoculation of the solution of Hoagland. **Diversitas Jornal**, v. 3(1), n.5-12. 2018.
- SOUZA, L. D; SOUZA, L. S; GOMES, J. C. (2006) Exigências edáficas da cultura da mandioca. In: SOUZA, L. S.; FARIAS, A. R. N.; MATTOS, P. L. P.; FUKUDA,

- W. M. G. (Eds.), Aspectos Socioeconômicos e Agronômicos da Mandioca. Cruz Das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, p. 70-214, 2006.
- TAGLIAPIETRA, B. L.; ZANON, A. J.; FERNANDES, T. L. Nutritional quality and sensory acceptance of biofortified cassava. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, p. e2020247, 2021.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TEIXEIRA, P. R. G.; VIANA, A. E. S.; CARDOSO, A. D.; MOREIRA, G. L. P.; MATSUMOTO, S. N.; RAMOS, P. A. S. Physical-chemical characteristics of sweet cassava varieties. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 2, p. 158-165, 2017.
- VASCONCELOS, L.M.; BRITO, A.C.; CARMO, C.D.; OLIVEIRA, E.J. **Polymorphism of starch pathway genes in cassava**: Genetics and Molecular Research 15 (4): gmr15049082, 2016.
- VENTURINI, M. T.; SANTOS, L. R.; VILDOSO, C. I. A.; SANTOS, V. S.; OLIVEIRA, E. J. Variation in cassava germplasm for tolerance to post-harvest physiological deterioration. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p.1-18, 2016.
- VERSINO, F.; URRIZA, M.; GARCÍA, M. A. Eco-compatible cassava starch films for fertilizer controlled-release. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 302-307, 2019.
- ZHU, F.; XIE, Q. Structure and physicochemical properties of starch. In: Sui, Z.; Kong, X. editors. Physical Modifications of Starch. Singapore: **Springer Nature**; 2018. p. 1-14.
- ZORTÉA, M. E. B.; DEMIATE, I. M.; PRAXEDES, M. A.; WOSIACKI, G. Avaliação da viscosidade aparente de pastas de amidos nos viscosímetros Brookfield RVDV-II+ PRO e rápido visco-analisador RVA-4. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n.1, p.326-335, 2011.

ARTIGO 1**VARIABILIDADE FENOTÍPICA DO AMIDO DE MANDIOCA PARA
TAMANHO E FORMATO DO GRÂNULO DE AMIDO E SUA IMPLICAÇÃO
NAS PROPRIEDADES DE PASTA**

Variabilidade fenotípica do amido de mandioca para tamanho e formato do grânulo de amido e sua implicação nas propriedades de pasta

Resumo: As características dos grânulos de amido de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) exibem considerável diversidade dentro da espécie, o que pode influenciar várias aplicações industriais. Este estudo teve como objetivo avaliar a variabilidade no tamanho e formato dos grânulos de amido e suas implicações nas propriedades de pasta. Foram avaliados 276 genótipos de mandioca para parâmetros como: número de grânulos por grama de amido (NG), área do grânulo (AG, em μm^2), comprimento (CG, em μm), diâmetro (DG, em μm), perímetro (PG, em μm) e circularidade (CIR) dos grânulos de amido. Os mesmos genótipos foram analisados quanto a importantes propriedades de pasta, incluindo quebra de viscosidade, viscosidade mínima, viscosidade máxima, tendência à retrogradação e viscosidade final. Houve uma distribuição bimodal nas características morfológicas dos grânulos de amido, levando à classificação de genótipos em duas populações distintas por meio da análise discriminante de componentes principais (DAPC). Diferenças significativas foram observadas entre acessos de mandioca para características associadas aos grânulos de amido. Grânulos de amido da População 1 apresentaram maior tamanho e formato mais elíptico, enquanto os da População 2 apresentaram grânulos menores e mais arredondados. Essa diferenciação foi ainda mais suportada pelo agrupamento do DAPC, com AG, DG, CG e PG influenciando principalmente o agrupamento dos genótipos da População 1, enquanto CIR desempenhou um papel importante na distinção da População 2. Estimativas de alta herdabilidade (h^2) foram observadas para todas as características, variando de 0,71 para CIR a 0,93 para AG. No entanto, apenas correlações dentro de cada grupo de variáveis foram identificadas, sem correlações significativas detectadas entre parâmetros de propriedades de pasta e as características morfométricas dos grânulos de amido de mandioca. Essas descobertas fornecem *insights* valiosos para futuros avanços no melhoramento da mandioca, servindo como uma referência fundamental para pesquisadores e melhoristas desenvolverem variedades de mandioca para aplicações industriais.

Palavras-chave: Germoplasma; *Manihot esculenta* Crantz; melhoramento; seleção; uso; correlação.

Phenotypic variability of cassava starch for starch granule size and shape and its implication on pasting properties

Abstract: The characteristics of cassava starch granules (*Manihot esculenta* Crantz) exhibit considerable diversity within the species, which can influence various industrial applications. This study aimed to assess the variability in size and shape of starch granules and their implications for pasting properties. A comprehensive evaluation was conducted on 276 genotypes, focusing on parameters such as the number of granules per gram of starch (NG), granule area (AG, in μm^2), length (CG, in μm), diameter (DG, in μm), perimeter (PG, in μm), and circularity (CIR) of starch granules. The same genotypes were analyzed for important paste properties, including viscosity breakdown, minimum viscosity, maximum viscosity, tendency to retrogradation, and final viscosity. The analysis unveiled a bimodal distribution in the morphological characteristics of starch granules, prompting the classification of genotypes into two distinct populations through discriminant analysis of principal components (DAPC). Significant disparities were observed among cassava accessions for all quantitative traits associated with starch granules. Granules from Population 1 exhibited larger and more elliptical shapes, whereas those from Population 2 were smaller and more rounded. This differentiation was further supported by the DAPC cluster, with AG, DG, CG, and PG primarily influencing the grouping of Population 1 genotypes, while CIR played an important role in distinguishing Population 2. High heritability estimates (h^2) were observed across traits, ranging from 0.71 for CIR to 0.93 for AG. However, only correlations within each group of variables were identified, with no significant correlations detected between pasting property parameters and the morphometric characteristics of cassava starch granules. These findings provide valuable insights for future advancements in cassava breeding, serving as a fundamental reference for researchers and breeders to improve cassava varieties for industrial applications.

Keywords: Germplasm; *Manihot esculenta* Crantz; breeding; selection; use, correlation.

1. Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), é uma espécie que além do consumo in natura, pode ser utilizada para produção de produtos de maior valor agregado como a farinha e o amido (Latif e Muller, 2015). O amido é um polissacarídeo natural e o segundo carboidrato mais abundante no mundo, encontrado em grãos de cereais, leguminosas, tubérculos, raízes e folhas (Omorieghe Egharevba, 2019). Dentre as diferentes fontes de amido, a mandioca destaca-se pelo fácil cultivo da planta, pela elevada capacidade de acúmulo de amido em suas raízes e pela simplicidade no processo de extração (Vasconcelos et al., 2017).

Por ser um material renovável, biodegradável e não tóxico, o amido pode ser utilizado em diversos segmentos industriais, como por exemplo, na indústria alimentícia, têxtil, metalúrgica, farmacêutica, cosmética, entre outros (Chang et al., 2019; Ojogbo et al., 2020; Matos et al., 2022). Na indústria alimentícia, o amido interfere nas propriedades de textura de muitos alimentos e possui várias aplicações como retentor de água, espessante, geleificante, agente de volume e viscosidade (Teixeira et al., 2017; Garrido et al., 2014).

A função do amido na indústria está diretamente relacionada com a estrutura, tamanho dos grânulos do amido e as proporções da amilose e da amilopectina que variam entre espécies ou entre genótipos (Dereje, 2021; Makroo et al., 2021). A amilose possui alta tendência à retrogradação e produção de géis firmes e filmes fortes, enquanto que a amilopectina, quando dispersa em água, torna-se mais estável e produz géis macios e filmes mais fracos. O conteúdo de amilose é um parâmetro significativo de qualidade para a maioria dos produtos à base de amido. Além desses componentes, é possível identificar frações menores de proteínas e lipídios que interferem nas propriedades físico-químicas dos amidos de diferentes origens botânicas (Ashogbon e Akintayo, 2014; Azevedo et al., 2018; Zhu et al., 2018). Em comparação com cereais, as principais vantagens do amido de mandioca para a indústria alimentícia são a menor sinérese e sabor neutro devido ao seu baixo teor de lipídios e proteínas (Carmo et al., 2020; Moorthy, 2002). Além disso, o amido de mandioca é preferido na indústria de embutidos, devido à gelatinização em menor

temperatura e maior viscosidade aparente quando comparada ao amido de milho (Demiate et al., 2011).

Na maioria dos processos industriais, o amido nativo (forma diretamente extraída das raízes, tubérculos ou grãos) precisa sofrer modificações químicas (oxidação, esterificação e eterificação) ou físicas (pré-gelatinização, hidrotérmicos e não térmicos) para superar características indesejáveis e/ou adquirir alguns atributos funcionais, como espessamento, texturização, melhoria na aparência e propriedades de estabilização (Chiu e Solarek, 2009; Ai e Jane, 2018; Santos et al., 2022). A utilização industrial de amidos nativos é limitada devido à insolubilidade em água e sua tendência a retrogradar facilmente e sofrer sinérese, tendo como consequência a formação de géis instáveis (Ashogbon e Akintayo, 2014). Entretanto, mais recentemente tem-se observado uma certa resistência ao uso de amidos modificados quimicamente na indústria de alimentos, em detrimento de amidos naturalmente diferenciados (Moorthy, 2002). Desta forma, amidos com características naturalmente diferenciadas são objeto do melhoramento em diversas culturas amiláceas, visando diminuir a necessidade de modificações do amido para fins comerciais, além da redução de custos e de resíduos gerados no processo de modificação.

A molécula de amido é composta por dois polímeros de glicose (amilose e amilopectina), cujos grânulos possuem variados tamanhos e formatos (Singh et al., 2010). A morfologia dos grânulos de amido influencia diretamente nas propriedades térmicas e de pasta. Por exemplo, em amido de trigo quanto menor os grânulos, maior será a temperatura necessária para gelatinização (Kumar e Khatkar, 2017). Os amidos podem sofrer diferentes estágios de intumescimento, desde a absorção de água nas regiões amorfas de seus grânulos de amido até a desintegração dos grânulos (Chisenga et al., 2019).

Considerando a estrutura granular, o amido apresenta variações de tamanho e forma, dependendo da origem botânica específica, podendo ser esférico, lenticular, poliédrico ou de forma irregular, com tamanhos variando de menos de 1 a mais de 100 μm (Qi e Tester, 2016; Hounbo et al., 2024). Em mandioca, foram reportadas variações em relação ao tipo de grânulos (redondo, truncado e esférico) e tamanho variando de 4 a 40 μm (Ceballos et al., 2008; Vasconcelos et al., 2017; Oliveira et al., 2018; Chisenga et al., 2019). Já em uma população

endogâmica S₁ essa amplitude de tamanho foi menor, com variação de 9.8 a 12.4 µm (Oliveira et al., 2018).

Grânulos de amido com diferentes tamanhos apresentam estruturas moleculares e supramoleculares variadas (Cai et al., 2014; Guo et al., 2023), o que influencia ainda mais as propriedades físico-químicas, o processo de modificação por hidrólise enzimática e, por consequência nas aplicações alimentícias e não alimentícias (Pellegrini et al., 2018; Li et al., 2023). Os grânulos de amido menores possuem uma maior superfície que permite rápida hidratação, além disso, a presença de poros e canais na superfície dos grânulos de amido aumentam a absorção de água (Cornejo-Ramírez et al., 2018). Assim, taxas de hidratação mais elevadas aumentam o inchaço, a viscosidade e a capacidade de gelatinização dos grânulos de amido (Cornejo-Ramírez et al., 2018). De acordo com Guo et al. (2023), os grânulos de amido com diferentes tamanhos apresentam composições químicas e estruturas moleculares variadas, que podem resultar em diferentes propriedades físico-químicas e, portanto, desempenhando diversos papéis no processamento de alimentos. Assim, os programas de melhoramento genético podem se beneficiar do conhecimento sobre a composição, estrutura e função do amido de mandioca de diferentes tamanhos para maior adoção das novas cultivares, sobretudo para fins industriais.

Os fatores que influenciam as propriedades do amido são geneticamente inerentes às diferentes fontes botânicas e suas variedades (Chisenga et al., 2019). Os relatos sobre a correlação entre propriedades de pasta e tamanho e formato dos grânulos de amido em mandioca são escassos, mas extremamente úteis para direcionar os trabalhos de pesquisa, sobretudo no melhoramento genético. Sendo assim, estudos envolvendo populações diversas de mandioca e alta variabilidade para tamanho e formato de grânulos de amido são necessários para determinar com precisão a associação entre as propriedades de pasta, e com isso orientar o processo de desenvolvimento de variedades com amidos mais interessantes para pronto uso industrial. Portanto, o objetivo do presente estudo é avaliar a variabilidade genética do germoplasma de mandioca em relação ao tamanho e formato dos grânulos de amido e determinar suas implicações nas propriedades de pasta de amido.

2. Material e métodos

2.1 Extração e armazenamento do amido

Foi analisado um conjunto de 276 amostras de amido oriundo de acessos pertencentes ao banco de germoplasma de mandioca (BAG-Mandioca) e do programa de melhoramento da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Os acessos de mandioca foram conduzidos em ensaios clonais no período de 2011 a 2022, na área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura (12°14'19.11"S latitude, 39°06'1.22"O longitude). Todos os ensaios foram conduzidos em condições de sequeiro (sem irrigação complementar), seguindo o manejo cultural da região, de acordo com as recomendações de Souza et al. (2006). O plantio foi realizado durante o período chuvoso na região (abril a julho) de modo a garantir a quantidade mínima de umidade no solo necessária para germinação e estabelecimento da cultura.

A extração do amido foi feita segundo Vasconcelos et al. (2017), em que as raízes de mandioca foram selecionadas, lavadas e descascadas para remover qualquer sujeira ou impureza externa. Aproximadamente 500 g de raízes foram cortadas em pedaços pequenos para facilitar o processamento. As partes selecionadas foram trituradas em liquidificador com hélice não cortante (para diminuir o cisalhamento dos grãos de amido e, conseqüente modificação física) durante 1,5 min na proporção 1:1 (raiz/água fria) com uma pausa de 1 min, mais uma batida de 1,5 min totalizando 4 min por amostra. Este processo foi repetido uma vez durante um minuto. Após esse procedimento, o material triturado foi filtrado em tecido tipo "voal" e em peneira de 220 Mesh acoplada em balde plástico (volume 5 litros). Em seguida foi realizada a lavagem da massa triturada com 3,5 litros de água fria. O filtrado foi acondicionado em câmara fria a 5 °C durante 12 horas para decantação do amido. Após esse período, foi descartado o sobrenadante e o amido decantado no fundo do pote foi lavado com 20 mL de álcool 95% para acelerar a secagem do amido. O álcool foi descartado, o amido transferido para outros recipientes e acondicionados em estufa com circulação de ar forçada a 40 °C até a secagem completa. O amido seco foi então macerado, com o auxílio de gral e pistilo, até a obtenção de um pó de textura fina. O pó de amido foi armazenado em recipientes herméticos a ± 5 °C, devidamente protegidos da umidade e de possíveis fontes de contaminação.

2.2 Análise morfológica dos grânulos de amido

Para a visualização dos grânulos de amido, preparou-se uma solução de 1 g de amido e 75 g de água. Posteriormente, misturou-se 0,8 mL desta solução com 1,8 mL de solução de iodo 2% (2 g de iodeto de potássio - KI; 0,2 g de iodo - I₂ e 100 mL de água destilada) e agitou por 2 minutos para homogeneização das amostras. Um volume de 0,2 mL foi transferido para câmara de Neubauer com auxílio de uma micropipeta para observação em microscópio óptico LEICA (DM500, Alemanha), aumento de 40 vezes.

Cada acesso foi submetido à preparação de lâminas microscópicas, na qual foram obtidas quatro imagens por genótipo. Essas imagens foram posteriormente divididas em quatro quadrantes, utilizados como repetição da amostra. As imagens digitais foram capturadas com o auxílio do software LAS EZ, onde os quadrantes da extremidade câmera e do centro foram registrados. Em seguida, foi realizado o processamento e análise das imagens com auxílio do software ImageJ (Schneider et al., 2012) para mensuração das características: área dos grânulos (AG, em μm^2), circularidade (CIR, grau de arredondamento dos grânulos de amido), número de grânulos (NG), diâmetro dos grânulos (DG, em μm), comprimento dos grânulos (CG, em μm), perímetro dos grânulos de amido (PG, em μm). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso com quatro repetições por genótipo.

2.3 Análise das propriedades de pasta do amido

As propriedades de pasta dos amidos foram avaliadas usando um aparelho Rápido ViscoAnalisador (modelo RVA-4500, series 4; da *Newport Scientific*, Warriewood, Australia), utilizando a programação Padrão 1 do software *Thermocline for Windows* (TCW), versão 7 (*NewPort Scientific*). A análise foi realizada em duplicata utilizando-se 3 g de amostra de amido ($\pm 14\%$ de umidade) em 25 g de água destilada. Para a correção das massas das amostras e da água, para obtenção de 14% de umidade, foi realizada a análise de umidade dos amidos utilizando um analisador de umidade por infravermelho (Gehaka IV2500).

Para isso, foram utilizadas as seguintes fórmulas: $m2 = \frac{(100-14) \times m1}{(100-u1)} e w = 25,0 +$

$(m1 - m2)$, onde $m1$ é a massa da amostra em gramas; $m2$ é a massa de amostra corrigida para base em gramas (14%); $u1$ é a umidade da amostra em %; e w é o peso da água corrigida em gramas. A amostra de amido foi adicionada em um recipiente com água. A suspensão de amido foi então submetida a seguinte programação (mudança de temperatura/tempo): aquecimento a 50 °C por 1 min; aquecimento de 50 a 95 °C, em uma taxa de incremento de 6 °C por minuto; mantida a 95 °C por 2,5 minutos; resfriamento de 95 °C a 50 °C, em uma taxa de decréscimo de 6 °C por minuto. Finalmente, a amostra foi mantida a 50 °C por 2 minutos. A suspensão foi submetida a 960 rpm nos primeiros 10 segundos do teste e para 160 rpm pelo restante do tempo. A duração total da análise foi de 13 minutos por replicata.

A viscosidade da pasta foi expressa em centipoise (cP). Durante este período, foram avaliados os seguintes parâmetros: tendência a retrogradação (TR, em cP), viscosidade final (VF, em cP), quebra de viscosidade (QV, em cP), viscosidade mínima após o aquecimento a 95 °C (VMin, em cP) e viscosidade de pico ou máxima (VMax, em cP).

2.4 Análise dos dados

Inicialmente, foi realizada uma análise exploratória dos dados, onde foi observado uma distribuição bimodal para as características morfológicas do amido. Os dados foram então divididos em duas populações para análise de modelos mistos e atendimento do pressuposto de independência dos dados, uma vez que os modelos mistos permitem estudar estruturas de covariância mais complexas, estimar componentes de variância não-viesados e prever valores genéticos de forma mais acurada em diversas situações (Henderson, 1984).

A separação dos acessos em duas populações foi realizada pela análise discriminante dos componentes principais (DAPC), usado o pacote adegenet (Jombart, 2010) do software R versão 4.1.3 (R Core Team, 2023). Essa análise é usada para reduzir a dimensionalidade dos dados e, ao mesmo tempo, preservar a capacidade discriminativa entre grupos. O número de cluster com base nos atributos associados à qualidade da raiz e aspectos agronômicos foi

determinado com base em *K-means* sucessivos e número crescente de grupos (k variando de 2 a 15) após transformar o conjunto de dados pela análise de componentes principais usando a função *find.clusters* do pacote *ade4* (Jombart et al., 2010). O *Bayesian Information Criterion* (BIC) foi utilizado para definir o número ideal de clusters e a solução de agrupamento mais adequada com menor BIC. Após determinar o número de grupos mais adequado para representar a diversidade de germoplasma, um heatmap foi construído usando o pacote *circlize* (Gu et al., 2014).

Os melhores preditores lineares não viesadas (BLUPs), parâmetros e componentes de variância genético e residual foram obtidos para cada característica. As características dos grânulos de amido foram avaliadas de acordo com o seguinte modelo linear: $Y_{ij} = m + g_i + r_j + e_{ij}$, em que Y_{ij} é a variável de resposta do i-ésimo genótipo no j-ésimo bloco; m é a média (efeito fixo); g_i é o efeito do i-ésimo genótipo (efeito aleatório); r_j é o efeito da j-ésima replicação (assumida como efeito fixo); e_{ij} é o erro aleatório. As variáveis de propriedade de pasta foram avaliadas pelo seguinte modelo: $Y_{ijk} = m + g_i + e_j + r_k + e_{ijk}$, em que Y_{ijk} é a variável de resposta do i-ésimo genótipo no j-ésimo bloco; m é a média (fixa); g_i é o efeito do i-ésimo genótipo (aleatório); e_j é o efeito do j-ésimo ensaio (presumido como fixo); r_k é o efeito da k-ésima replicação (presumida como fixa); e_{ijk} é o erro aleatório.

A herdabilidade no sentido amplo foi obtida pela seguinte equação: $h^2 = \frac{V_g}{V_f}$, onde

V_g é a variância genotípica e V_f é a variância fenotípica. Além da herdabilidade, os coeficientes de variação genético e residual e a acurácia seletiva também foram estimadas. A correlação de Pearson entre os BLUPs das variáveis de tamanho e forma de grânulos e das variáveis de propriedades de pasta do amido foram analisadas pelo pacote *corrplot* (Wei e Simko, 2021).

3. Resultados

3.1 Variação fenotípica e parâmetros genéticos para características dos grânulos de amido de mandioca

A estruturação da diversidade genética das populações com base nos BLUPs somados ao intercepto (deste ponto em diante, denominado apenas de BLUP) foi realizada pela análise visual da relação entre os valores do BIC em função da variação do número de clusters (Figura 1). Por meio do algoritmo *K-means* os acessos de mandioca foram agrupados em duas populações.

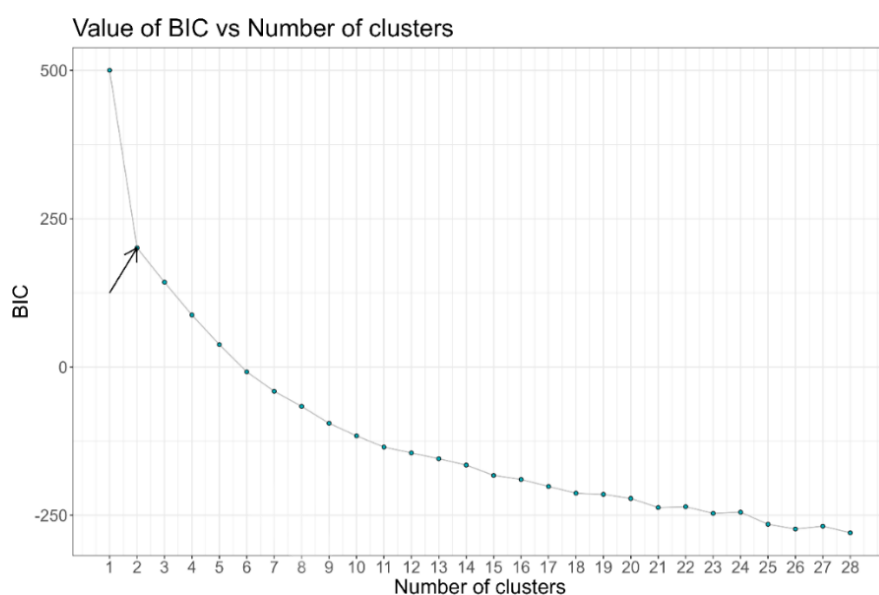


Figura 1. Valores do critério de informação bayesiana (BIC) para diferentes números de clusters com base em dados fenotípicos de características relacionadas ao tamanho e formato dos grânulos de amido de mandioca.

A distribuição da frequência dos BLUPs para todas as características é apresentada na Figura 2. Para todas as características, exceto número de grânulos de amido, houve uma clara separação das duas populações de clones com propriedades distantes em relação ao tamanho e formato dos grânulos de amido, em termos de distribuição e amplitude dos dados. Portanto, a análise desses dados de forma conjunta (população única) faria com que houvesse uma distribuição bimodal e com isso haveria violação às pressuposições básicas de distribuição normal dos efeitos residuais e aleatórios. De acordo com Schielzeth

et al. (2020) violações das suposições de distribuição dos resíduos introduz viés nas estimativas da variância do efeito aleatório nos casos de distribuição bimodal. Portanto, houve a necessidade de segregação das populações para atender a esses pressupostos do modelo misto.

A amplitude de variação das características área, diâmetro, comprimento e perímetro dos grânulos de amido foram similares para as duas populações; no entanto, a concentração dos dados na População 1 foi mais elevada nos menores valores, em comparação com a População 2 (Figura 2). A variação da área dos grânulos foi de 9,90 a 82,78 μm^2 para a População 1 e de 40,66 a 208,64 μm^2 para a População 2, com a maioria os genótipos entre 12 a 40 μm^2 e entre 100 a 130 μm^2 , nas Populações 1 e 2, respectivamente. Para a característica circularidade, a amplitude da circularidade dos grânulos de amido (grau de arredondamento), das Populações 1 e 2 variou entre 0,87 a 0,97 e 0,85 a 0,93, respectivamente. Isso significa que os grânulos de amido da População 1 tendem a ser mais elípticos, enquanto os da População 2 tenderam a ser mais arredondados.

A distribuição dos BLUPs para a característica número de grãos de amido na solução de análise, foi bastante parecida entre as duas populações, com variação entre 173 a 1174 grânulos de amido por quadrante. Por outro lado, para a característica diâmetro dos grânulos de amido, a amplitude dos dados variou de 2,98 a 7,85 μm para a População 2 e de 5,75 a 13,46 μm para a População 1, com a maior parte dos dados distribuídos entre 3,2 a 5,0 μm e entre 8,5 a 11,0 μm nas duas populações, respectivamente (Figura 2). Para comprimento dos grânulos de amido a variação foi de 4,37 a 11,6 μm para a População 2 e de 8,92 a 17,72 μm para a População 1, com a maior frequência de genótipos com grânulos de amido variando comprimento entre 6,0 a 7,0 μm e entre 12,0 a 14,0 μm nas duas populações, respectivamente. O perímetro dos grânulos de amido apresentou distribuição bastante semelhante ao diâmetro e comprimento dos grânulos, tendo amplitude variando entre 10,22 a 27,52 μm e 24,06 a 50,29 μm nas População 2 e 1, respectivamente. Para essa última característica, a maioria dos dados apresentou entre 13,0 a 17,0 μm e entre 35,0 a 40,0 μm nas População 1 e 2, respectivamente (Figura 2).

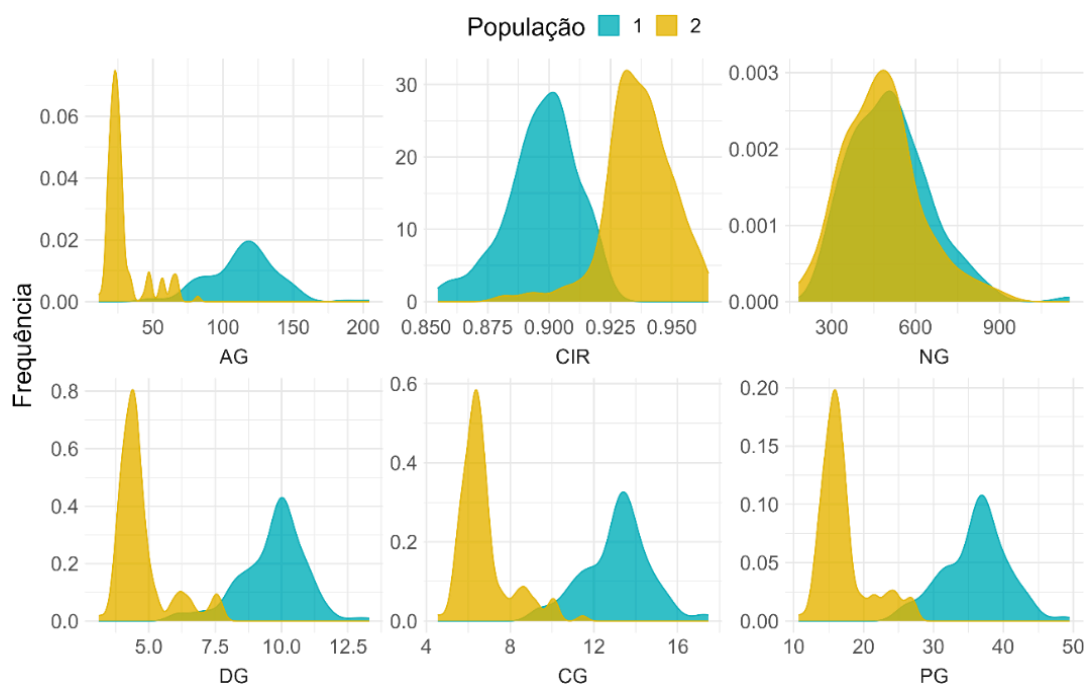


Figura 2. Gráficos de distribuição dos *best linear unbiased prediction* (BLUP) para características morfológicas dos grânulos de amido de mandioca em duas populações de mandioca. AG: área dos grânulos (μm^2), CIR: circularidade, NG: número de grânulos, DG: diâmetro dos grânulos (μm), CG: comprimento dos grânulos (μm), PG: perímetro dos grânulos de amido (μm).

O efeito genético para todas as características foi bastante pronunciado em comparação com os efeitos residuais nas duas populações (Tabela 1). Com isso, as estimativas de h^2 e acurácia experimental foram bastante elevadas. As h^2 variaram de 0,71 para circularidade (nas duas populações) a 0,93 para área dos grânulos na População 2, enquanto, as acurácias experimentais foram todas maiores que 0,90 (Tabela 1). As características diâmetro, comprimento e perímetro dos grânulos de amido da População 1 apresentaram maior variância fenotípica, quando comparado com a População 2.

Os coeficientes de variação genética (CVg%), que expressam em porcentagem da média geral a quantidade de variação genética existente, apresentaram valores de magnitude mediana (>20%) para área e número de grânulos de amido nas duas populações e para diâmetro e perímetro dos grânulos de amido na População 2 (Tabela 1). Dentre todas as características, a circularidade dos grânulos de amido foi a que apresentou o menor CVg (1,69 e 1,55% nas Populações 1 e 2, respectivamente). Contudo, em todas as

características o CVg foi maior do que o coeficientes de variação residual (CVr%).

Tabela 1: Parâmetros genéticos obtidos da análise de modelos mistos para os atributos associados a característica de grânulo de amido de mandioca em função do agrupamento das duas populações.

Parâmetros	População 1					
	AG	CIR	NG	DG	CG	PG
Var Gen	612,97	0,0002	21333,43	1,56	2,58	21,72
Var Res	100,86	0,0001	2176,44	0,22	0,50	4,49
Var Fen	713,83	0,0003	23509,87	1,78	3,07	26,21
h^2	0,86	0,71	0,91	0,87	0,84	0,83
Acurácia	0,98	0,95	0,99	0,98	0,98	0,98
CVg	21,65	1,69	28,63	12,88	12,25	12,91
CVr	8,78	1,09	9,15	4,88	5,38	5,87
CVg/CVr	2,47	1,55	3,13	2,64	2,27	2,20
Parâmetros	População 2					
	AG	CIR	NG	DG	CG	PG
Var Gen	195,99	0,0002	19353,74	0,96	1,50	12,45
Var Res	14,97	0,0001	1712,78	0,10	0,18	1,53
Var Fen	210,96	0,0003	21066,52	1,06	1,68	13,98
h^2	0,93	0,71	0,92	0,90	0,89	0,89
Acurácia	0,99	0,95	0,99	0,99	0,99	0,99
CVg	48,53	1,55	29,06	20,73	18,13	20,68
CVr	13,41	0,98	8,64	6,79	6,31	7,25
CVg/CVr	3,62	1,57	3,36	3,05	2,87	2,85

Var Gen: variância genética, Var Res: variância residual, Var Fen: variância fenotípica, h^2 : herdabilidade no sentido amplo, CVg, CVr, e CVg/CVr são os coeficientes de variação genético, residual e a razão entre eles, respectivamente, para as características área dos grânulos (AG, em μm^2), circularidade (CIR, grau de arredondamento dos grânulos de amido), número de grânulos (NG), diâmetro dos grânulos (DG, em μm), comprimento dos grânulos (CG, em μm), perímetro dos grânulos de amido (PG, em μm).

3.2 Agrupamento dos genótipos de mandioca com base nas características dos grânulos de amido

Na análise de componentes principais (PCA), os dois primeiros componentes principais foram responsáveis por explicar 97,9% da variância total nos dados da população amostral, garantindo, assim, uma boa representação da dispersão dos acessos de mandioca em relação às características avaliadas (Figura 3). Houve ampla variação na dispersão dos caracteres entre os acessos de mandioca nos dois grupos. As características área, diâmetro, comprimento e perímetro dos grânulos de amido foram responsáveis pelo agrupamento dos genótipos da População 1 (mais à esquerda dos quadrantes da PCA), enquanto a característica circularidade foi responsável pela maior separação da População 2 (à direita dos quadrantes da PCA) levando-se em consideração o PCA 1 que foi responsável pela maior parte da variação fenotípica dos dados. Por outro lado, o número de grânulos de amido não exerceu influência significativa na distinção das duas populações, conforme já previamente confirmado na distribuição dos BLUPs para essa característica.

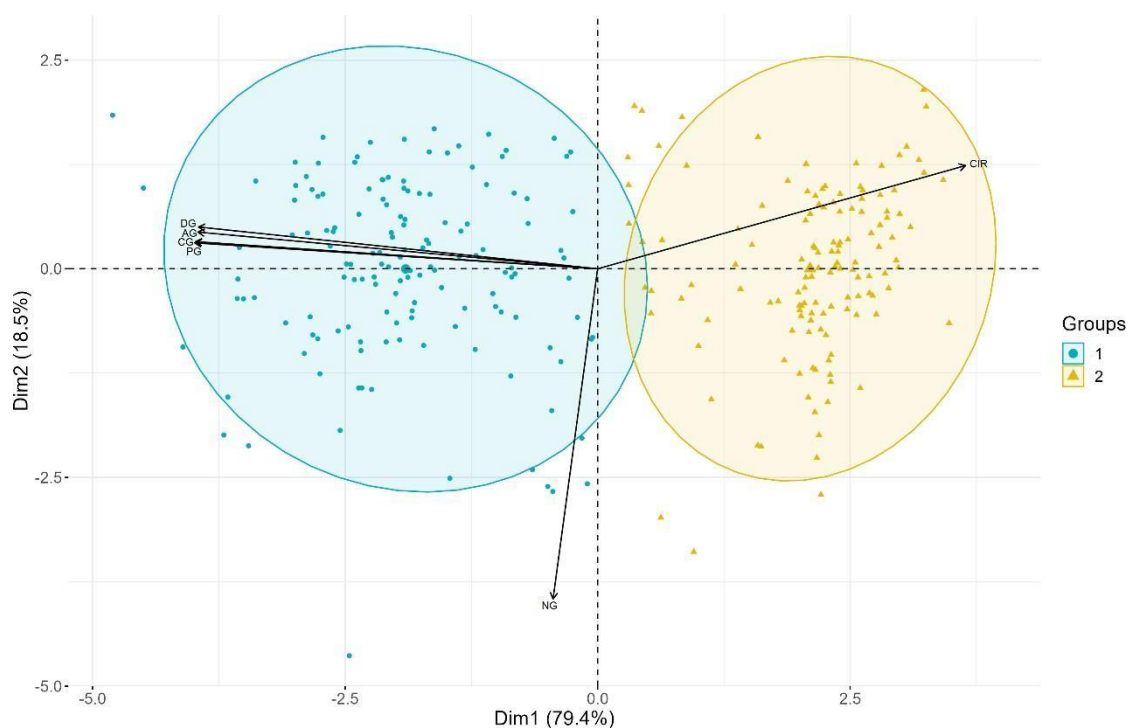


Figura 3. Análise biplot de componentes principais (PCA) dos *best linear unbiased prediction* (BLUP) para características morfológicas dos grânulos de amido de mandioca

em duas populações de mandioca. AG: área dos grânulos (μm^2), CIR: circularidade, NG: número de grânulos, DG: diâmetro dos grânulos (μm), CG: comprimento dos grânulos (μm), PG: perímetro dos grânulos de amido (μm).

3.3 Caracterização da diversidade dos clones de mandioca para tamanho e formato dos grânulos de amido

De acordo com o heatmap das duas populações de mandioca, existe uma clara diferenciação dos caracteres para tamanho e formato dos grânulos de amido em acessos de mandioca (Figura 4). Os principais atributos da População 1 foram os valores mais elevados para a maioria das características observadas, à exceção da circularidade, que foi mais importante para distinção da População 2. Por outro lado, a característica número de grânulos de amido apresentou distribuição semelhante nas duas populações e assim, não houve uma contribuição dessa característica para melhor distinção entre as duas populações. Embora a separação das duas populações tenha sido realizada de forma clara, ainda é possível observar a possibilidade de identificação de sub-grupos dentro das populações para as características de tamanho e formato de grânulos de amido (Figura 4). Isso pode significar características e propriedades diferentes em comparação com o restante dos grânulos.

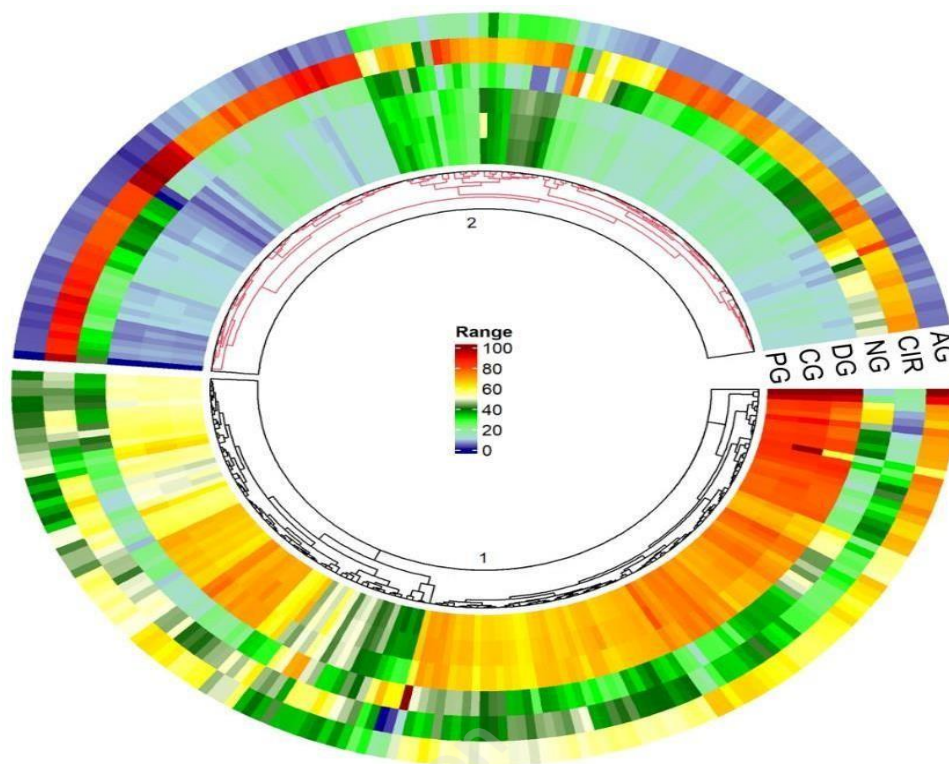


Figura 4. Heatmap circular do agrupamento das características relacionados ao tamanho e formato do grânulo de amido de mandioca dos genótipos de mandioca com base nos *best linear unbiased prediction* (BLUP). AG: área dos grânulos (μm^2), CIR: circularidade, NG: número de grânulos, DG: diâmetro dos grânulos (μm), CG: comprimento dos grânulos (μm), PG: perímetro dos grânulos de amido (μm).

De acordo com a comparação da distribuição das características nas diferentes populações de mandioca, apenas número de grânulos de amido não apresentou diferença significativa, tendo médias de 510,13 e 478,73 para as populações 1 e 2, respectivamente (Figura 5). Em relação à área dos grânulos, as médias foram de 114,38 e 28,85 μm^2 para a População 1 e 2, respectivamente, com média geral de 85,63 μm^2 . A População 1 exibiu uma variação mais ampla para a característica área dos grânulos quando comparada à População 2.

O diâmetro e comprimento dos grânulos de amido apresentaram amplitude muito próximas na População 1 (média de 9,69 e 13,10 μm ,

respectivamente) e na População 2 (média de 4,72 e 6,74 μm , respectivamente). Isto resultou em um grau de arredondamento dos grânulos de amido próximo de 1 (média de 0,90 e 0,94 nas Populações 1 e 2, respectivamente). Essa tendência se repetiu para as características em perímetro dos grânulos de amido, os quais divergiram as médias em cerca de 19 μm , com a População 1 tendo média de 36,09 μm e a População 2 com média de 17,06 μm .

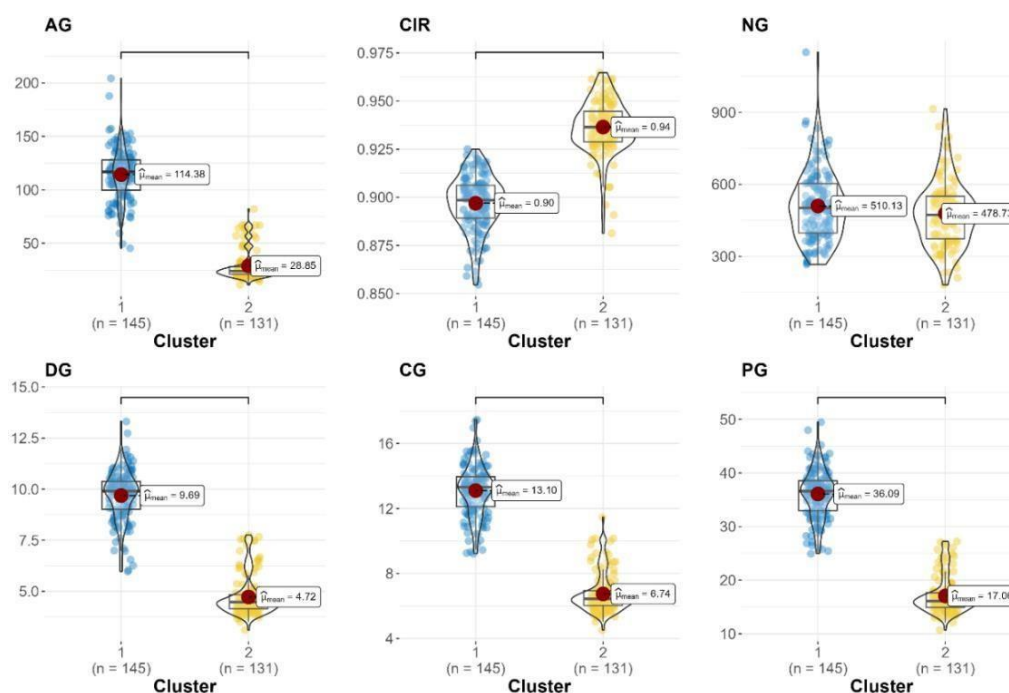


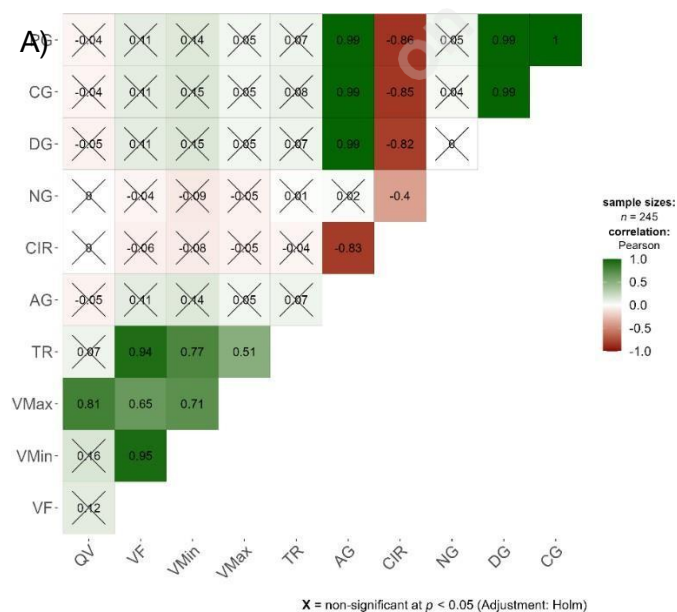
Figura 5. Box/Violino plot dos *best linear unbiased prediction* (BLUP) dos diferentes agrupamentos dos acessos de mandioca para as características relacionadas ao tamanho e formato dos grânulos de amido. AG: área dos grânulos (μm^2), CIR: circularidade, NG: número de grânulos, DG: diâmetro dos grânulos (μm), CG: comprimento dos grânulos (μm), PG: perímetro dos grânulos de amido (μm).

3.4 Correlações entre as características dos grânulos de amido e propriedades de pasta

As correlações de Pearson entre os BLUPs das características morfológicas dos grânulos de amido e as características das propriedades de pasta são apresentadas na Figura 6. De modo geral, o sentido e as magnitudes das correlações foram bastante similares ao considerar a análise conjunta dos dados das duas populações e sua análise em separado por população.

Houveram apenas correlações dentro de cada grupo de características, ou seja, não houve correlações significativas entre as características das propriedades de pasta e as características morfométricas dos grânulos de amido. Em relação às propriedades de pasta, a quebra de viscosidade apresentou correlação significativa com viscosidade máxima (0,81). As outras variáveis das propriedades de pasta mostraram correlações variando de 0,51 a 0,95. A característica viscosidade final apresentou uma forte correlação ($>0,90$) com tendência a retrogradação e viscosidade mínima.

Somente na População 2, número de grânulos de amido mostrou uma correlação significativa de baixa magnitude com diâmetro dos grânulos de amido (-0,31). Adicionalmente, a característica circularidade apresentou correlação negativa com todas as outras variáveis morfométricas (variação de -0,82 a -0,86) quando se procedeu a análise de correlação independentemente da população. Para as demais características morfométricas, as correlações foram positivas e de alta magnitude ($>0,93$).



B)

C)



Figura 6. Correlograma de Pearson entre os BLUPs das características de tamanho e formato dos grânulos de amido e suas propriedades de pasta avaliados em acessos de mandioca considerando todos os clones (A), apenas os clones da População 1 (B) e da População 2 (C). PG: perímetro dos grânulos de amido (μm); CG: comprimento dos grânulos (μm); DG: diâmetro dos grânulos (μm); NG: número de grânulos; CIR: circularidade; AG: área do grânulo (μm^2); TR: tendência a retrogradação (cP); VMax: viscosidade máxima (cP); VMin: viscosidade mínima (cP); VF: viscosidade final (cP). As correlações marcadas com x não foram consideradas significativas ($p > 0,05$).

4. Discussão

4.1 Variabilidade do tamanho e formato dos grânulos de amido

Avaliações e caracterizações do germoplasma em programas de melhoramento de mandioca vem crescendo nos últimos anos (Ceballos et al., 2008; Nuwamanya et al., 2010; Vasconcelos et al., 2017; Oliveira et al., 2018), com o objetivo de desenvolver novos genótipos que atendam às demandas do mercado por amido com propriedades específicas. No presente trabalho, foi avaliado um painel de diversidade de mandioca e identificadas diferenças significativas para as características de tamanho e formato dos grânulos de amido. Em relação aos recursos genéticos da mandioca, no presente estudo foi encontrada uma amplitude para comprimento de grânulos de amido entre 4 – 17 μm , que é inferior ao observado no germoplasma da América Latina que variou de 4 a 40 μm , com média de 12 μm (Ceballos et al., 2007). No entanto, outros estudos em genótipos do germoplasma brasileiro relataram uma faixa de 9 a 14 μm (Vasconcelos et al., 2017) e 9,8 a 12,4 μm (Oliveira et al., 2018) para comprimento dos grânulos de amido. Em estudos no germoplasma de mandioca africano, Chisenga et al. (2019) relataram variação no tamanho dos grânulos de amido entre 1,17 e 22,22 μm , com grandes diferenças entre variedades. Portanto, os valores do tamanho dos grânulos de amido de mandioca estão dentro da variação descrita para a espécie, e podem ainda ser classificados como de tamanho pequeno a médio quando comparado com outras espécies como trigo, batata e *Canna indica* (Pérez e Bertoft, 2010). Ainda de acordo com Agnes et al. (2017), grânulos pequenos têm uma maior área de superfície que pode levar a uma alta capacidade de absorção de água.

O processo de deposição de amido nos amiloplastos dos órgãos de armazenamento das plantas é dinâmico, envolvendo a contínua deposição de moléculas de glicanos (amilose e amilopectina) e o desenvolvimento da estrutura supramolecular característica (Li et al., 2023). Ainda de acordo com estes autores, essa dinamicidade biológica é um dos principais fatores que contribuem para a variabilidade dos tamanhos dos grânulos de amido, resultando em variações na arquitetura molecular e no empacotamento da amilose e amilopectina para formar estruturas de níveis mais complexos.

Considerando as características conforme a distribuição bimodal, na População 1 foi observado grânulos maiores e com formato elíptico, com maior área (média de 114,38 μm^2), diâmetro (média de 9,69 μm) e comprimento dos

grânulos (média de 13,10 μm), em comparação a População 2, que possui grânulos de formato circular com menor área (média de 28,85 μm^2), diâmetro (média de 4,72 μm) e comprimento dos grânulos (média de 6,74 μm). Outros estudos sobre morfometria dos grânulos de amido também reportaram uma distribuição bimodal dos dados em mandioca (Sívoli et al., 2012) e trigo (Zhang et al., 2010; Li et al., 2016). Ao analisarem amido de cultivares de mandioca, Sívole et al. (2012) reportaram um conjunto de clones com grânulos de formato oval-truncado e de maior tamanho em comparação com outro agrupamento com grânulos redondos e menores. Em uma distribuição trimodal, os grânulos do amido de mandioca foram classificados como pequenos (variação de 2 a 6 μm), de tamanho médio (variação de 7 a 12 μm) e grandes (variação de 13 a 20 μm) (Nuwamanya et al., 2010). Os resultados do presente estudo também demonstram que existe a possibilidade de identificação de sub-grupos dentro das duas populações obtidas com base nas características de tamanho e formato de grânulos de amido.

Na literatura, é comum a classificação dos grânulos de amido de acordo com a forma e tamanho dos grânulos, sobretudo em cereais (Li et al., 2016). Por exemplo, em trigo possuem dois tipos de grânulos de amido: os grânulos tipo A (>10 μm de diâmetro) e os grânulos B (< 10 μm de diâmetro) (Parker, 1985; Li et al., 2016). No entanto, em mandioca ainda não existe uma classificação padrão para a tamanho e formato de grânulos.

Além da variação natural, é possível obter genótipos de mandioca com variações significativas no tamanho dos grânulos e nas propriedades do amido por meio de cruzamentos entre genótipos contrastantes (Nuwamanya et al. 2010; Oliveira et al., 2018). Em um estudo de autopolinização em mandioca, foi observado que a distribuição do tamanho dos grânulos apresentou variação significativa entre os indivíduos S_1 e em alguns casos, 70% desses indivíduos S_1 produziram grânulos menores que 15 μm (Oliveira et al., 2018). Portanto, por meio do melhoramento convencional é possível alterar geneticamente a distribuição do tamanho dos grânulos de amido em progênies oriundas do cruzamento de parentais contrastantes (Jaiswal et al. 2014). Isso é possível, pois apesar da escassez de estudos focando nos fatores genéticos que controlam os atributos morfológicos dos grânulos de amido, há relatos que indicam a natureza poligênica da característica, sendo influenciada por efeitos genéticos aditivos (Stoddard, 2003; Khlestkin et al., 2020).

Os CVg para todas as características foram maiores do que o CVr, com isso os valores do coeficiente de variação relativa (CVg/CVr) foram superiores a um, o que evidencia perspectivas muito favoráveis para obtenção de ganhos genéticos na seleção entre progênies quando aplicado procedimentos adequados de seleção. Embora não existam outros dados dessa natureza reportados na literatura para atributos associados aos grânulos de amido, diversos autores tem reportado CVr para diversas características agronômicas. Sampaio-Filho et al. (2023) relataram CVr acima da unidade para características como produtividade de raízes frescas, altura de plantas, índice de colheita e teor de matéria seca nas raízes. Por outro lado, alguns autores relataram CVr abaixo da unidade para atributos como peso fresco das raízes e da parte aérea, além do comprimento e diâmetro das raízes em condições normais de plantio (Almeida et al., 2019) e para as características altura das plantas, número de hastes, retenção de folhas, severidade de ácaros, diâmetro do caule, número de raízes, comprimento e diâmetro das raízes, peso das raízes e da parte aérea em ensaios conduzidos sob déficit hídrico (Oliveira et al., 2021). Estes últimos resultados, indicam maior dificuldade no processo de seleção das características agronômicas nas populações estudadas.

No geral, as estimativas de h^2 ($>0,71$) e acurácia experimental ($>0,95$) foram bastante elevadas para características associadas ao tamanho e formato dos grânulos de amido de mandioca. Segundo Resende (2002), a acurácia evidencia a alta precisão das inferências das médias genótípicas e tem a propriedade de informar sobre o correto ordenamento dos genótipos para fins de seleção. Além disso, valores elevados de herdabilidade permitem uma seleção de parentais mais acurada (Parkes et al., 2020; Ceballos et al., 2017). De fato, existem diversos relatos de elevadas herdabilidades para características associadas aos grânulos de amido em outras espécies. Oliveira et al. (1994), reportaram $h^2 > 0,87$ para características como volume e superfície da área dos grânulos do tipo A e B em cevada. Em espécies de propagação assexuada, como o inhame (*Dioscorea alata* L.), Hougbo et al. (2024) avaliaram grânulos de amido de 47 diferentes genótipos e identificaram alta herdabilidade ($h^2 = 0,85$) para características como área dos grânulos de amido. Embora Falconer e

Mackay (1996), tenha destacado que a herdabilidade não é apenas uma característica individual, mas também uma propriedade da população e das circunstâncias ambientais às quais os indivíduos estão expostos, verifica-se que os dados de herdabilidade do tamanho e formato dos grânulos de amido de mandioca está coerente com relatos de literatura para outras espécies.

Como a principal função da herdabilidade no melhoramento de características métricas é sua importância preditiva ao expressar a confiabilidade do valor fenotípico como um indicador do valor genético, ou seja, o grau de concordância entre o valor fenotípico observado e o valor genético subjacente (Vencovsky e Barriga, 1992), verifica-se a possibilidade de realizar seleções nas duas populações de mandioca, com possibilidade de elevados ganhos genéticos nas progênes futuras.

Os acessos avaliados foram agrupados em duas populações, considerando a distribuição bimodal das características, devido a necessidade de acomodar a heterogeneidade de variâncias que ocorre neste tipo de distribuição. Essa abordagem simplifica a interpretação dos resultados, facilitando a compreensão das diferenças entre os grupos. De modo geral, o tamanho do grânulo de amido e a sua origem botânica contribuem para definir sua distribuição em unimodal, bimodal e trimodal (Denardin et al., 2009). Neste estudo, houve uma distribuição bimodal, embora dependendo da época de colheita e das condições de cultivo, pode ocorrer uma distribuição trimodal dos acessos de mandioca com base na morfometria dos grânulos (Sriroth et al., 1999; Nuwamanya et al., 2010). Geralmente, os grânulos de amido obtidos de plantas cultivadas na estação seca são predominantemente menores, sendo assim classificados em uma terceira classe (Nuwamanya et al., 2010). Outro fator que pode alterar a estrutura do amido é a temperatura aplicada no momento da sua extração (Agama-Acevedo et al., 2019). Entretanto, esse efeito foi controlado no presente estudo, pois todas as amostras de amido foram extraídas seguindo um protocolo padrão estabelecido por Vasconcelos et al. (2017).

4.2 Correlações entre tamanho e formato dos grânulos de amido e propriedades de pasta

As elevadas correlações entre as variáveis para tamanho e formato dos grânulos de amido, exceto número de grânulos e circularidade, podem favorecer a adoção de estratégias de melhoramento mais eficazes para acelerar o desenvolvimento de novas variedades de mandioca. A alta correlação positiva entre área, diâmetro, perímetro e comprimento do grânulo de amido indica que em estudos futuros apenas uma dessas características pode ser utilizada para otimizar a coleta de dados, pois a seleção dos genótipos desejáveis pode não ser alterada. Em contrapartida, a correlação entre o número de grânulos de amido e área, diâmetro, perímetro e comprimento dos grânulos foi não significativa, indicando que sua avaliação deve ser mantida em análises posteriores, pois não proporcionou informações complementares para as outras características.

Em outros estudos, o tamanho dos grânulos de amido também apresentou correlação negativa com outras características relacionadas à qualidade e propriedades do amido como teor de amilose, substâncias solúveis em água fria e tempo para atingir a viscosidade de pico (peak time) (Nuwamanya et al., 2010). Algumas dessas correlações podem ser úteis para orientar a seleção de genótipos de indivíduos, com características específicas para um determinado mercado. Por exemplo, Bhat e Riar (2016) e Cornejo-Ramírez et al. (2018) reportaram que a distribuição do tamanho e a forma dos grânulos de amido desempenham um papel significativo em diversas propriedades funcionais, como viscosidade, poder de inchamento, capacidade de retenção, textura granular, gelatinização e comportamento durante a hidrólise ácida e enzimática. O tamanho dos grânulos de amido também pode influenciar a capacidade de cozimento em algumas espécies, como o inhame. De acordo com Kouadio et al. (2013), variedades de inhame com grânulos de amido pequenos (10-30 μm de diâmetro) tem maior capacidade de cozimento em comparação com variedades com grânulos de amido maiores (35-40 μm de diâmetro).

O tamanho dos grânulos de amido tem sido diretamente associado ao conteúdo dos componentes do amido. Por exemplo, alguns autores reportaram que quanto menor o grânulo de amido maior o teor de amilose em algumas espécies de tubérculos (Dhital et al., 2011), leguminosas (Yoshida et al., 2003), cereais (Li et al., 2016) e até mesmo em mandioca (Ceballos et al., 2008; Nuwamanya et al., 2010). Por outro lado, apesar de concentrações totais de

amido semelhantes, em genótipos com grânulos de amido pequenos e maiores, alguns estudos demonstraram a ausência de correlação entre o tamanho do grânulo e o teor de amilose (Sikora et al., 2010) ou até mesmo uma correlação negativa em rizomas de lótus (Lin et al., 2015) e amido de milho com alto teor de amilose (Cai et al., 2014). Além do teor de amilose, alguns autores mencionaram que grânulos de amido maiores possuem um maior grau de cristalinidade do que os grânulos menores (Zhang et al., 2013; Dhital et al., 2011).

Em trigo, Guo et al. (2023), reportaram uma análise comparativa da estrutura e propriedades do amido tipo A ($> 10 \mu\text{m}$ de diâmetro) e tipo B ($< 10 \mu\text{m}$ de diâmetro), abrangendo composição química, estruturas moleculares, cristalinas e morfológicas, gelatinização, propriedades de pasta e digestão. Os autores reportaram que as variações nas propriedades físico-químicas entre amido tipo A e B ocorreram principalmente devido à distribuição do comprimento das cadeias da amilopectina. Especificamente, o amido tipo A apresentou um teor mais alto de cadeias B ($13 \leq$ grau de polimerização ≤ 24) em comparação com cadeias A ($6 \leq$ grau de polimerização ≤ 12), o que leva a uma cristalinidade relativa, entalpia de gelatinização e viscosidade final mais elevadas. Além disso, as contribuições distintas do amido tipo A e B para as propriedades reológicas da massa são principalmente influenciadas pelos seus tamanhos.

Embora o entendimento e utilização da correlação entre características dos grânulos de amido, teor de amilose e propriedades de pasta possam contribuir para melhor orientar a seleção de genótipos para a indústria alimentícia, no presente estudo não houve correlações significativa entre as características de tamanho e formato dos grânulos de amido e as características de propriedades de pasta. Esse resultado indica que é possível selecionar indivíduos de mandioca para características de propriedades de pasta sem causar interferência na seleção pela qualidade dos grânulos de amido. Portanto, este é um aspecto positivo, considerando que em estudos futuros, outras características de qualidade do amido, como teor de amido, lipídios e proteínas, podem ser analisadas e correlacionadas com características morfológicas dos grânulos de amido.

De acordo com nossa revisão de literatura, as propriedades térmicas do amido e suas relações com o tamanho dos grânulos são temas de pesquisa amplamente pesquisados, embora não haja consenso nos resultados. De acordo

com Ao e Jane (2007) e Dhital et al. (2011), as frações de grânulos pequenos de cereais e tubérculos gelatinizam em temperaturas ligeiramente mais altas com uma faixa maior de temperatura de transição (variação entre temperatura de início e final) do que suas contrapartes de grânulos médios e maiores. Por outro lado, Utrilla-Coello et al. (2010) não encontraram diferenças na temperatura média de gelatinização entre os grânulos grandes e pequenos, embora o valor da entalpia de gelatinização foi maior nos grânulos de amidos pequenos. Portanto, no caso específico da mandioca recomenda-se no futuro proceder a separação física dos grânulos em seus diferentes tamanhos para que seja possível confirmar essa ausência de correlação com algumas propriedades de pasta.

As análises de propriedades de pasta foram realizadas por meio de um RVA (*Rapid Visco-Analyzer*), no qual fornece os parâmetros de viscosidade de pico ou máxima, de quebra e final, tendência à retrogradação e temperatura de empastamento, através da medida da viscosidade ao longo do tempo (Palabiyik et al., 2017). Foram observadas correlações significativas entre quebra de viscosidade e viscosidade de máxima (0,81), similar aos resultados obtidos por Santos et al. (2022), cuja correlação entre essas características foi de 0,85. Neste estudo, a tendência a retrogradação e viscosidade máxima mostraram correlações baixas (0,51) e a característica viscosidade final apresentou uma forte correlação ($>0,90$) com tendência a retrogradação e viscosidade mínima. Essa característica está relacionada a capacidade de um amido em gelificar durante o processo de cozimento e, em seguida, perder essa viscosidade à medida que esfria retrogradando. A retrogradação afeta diretamente a textura, a estabilidade e outras características dos produtos que utilizam o amido como ingrediente (Tappiban et al., 2020). Em contrapartida, um estudo realizado por Santos et al. (2022), reportaram correlações positivas com variação entre 0,07 a 0,85.

4.3 Perspectivas para o melhoramento da mandioca

A literatura tem reportado que a diversidade entre genótipos de uma mesma espécie para tamanho dos grânulos influencia as propriedades físico-químicas dos grânulos de amido e que é possível identificar genótipos com

potencial para explorar novos mercados na indústria de amido (Houngbo et al., 2024). Por outro lado, o presente estudo não identificou correlação significativa entre atributos relacionados ao tamanho e formato dos grânulos do amido de mandioca com propriedades de pasta. Apesar disso, os genótipos de mandioca da População 1 com os maiores grânulos de amido ($>10 \mu\text{m}$ de comprimento) são importante alvo de estudo quanto ao grau de digestibilidade do amido, que tem relação direta com a presença de amido resistente. De acordo com Noda et al. (2008), grânulos de amido de maior tamanho têm uma área de superfície menor do que os amidos menores, reduzindo assim a área de superfície do substrato disponível para a hidrólise enzimática e resultando em menor digestibilidade do amido. Por outro lado, a maior concentração de grânulos de amido pequenos ($<10 \mu\text{m}$) aumentou a absorção de água no farinógrafo e melhorou a qualidade da massa de macarrão, feito com amido de trigo (Soh et al., 2006). Assim, estudos dessa natureza podem ser desenvolvidos com amidos dos genótipos de mandioca da População 2, que possui predominantemente amidos desse tamanho.

Recentemente, os efeitos adversos das mudanças climáticas têm causado impactos negativos em diversas culturas, e é possível que esses fenômenos possam afetar negativamente na produtividade de raízes e no ciclo de diversas pragas e doenças na cultura da mandioca. Considerando também a possibilidade de penalidades na qualidade do amido como resultado de diversos fenômenos associados a mudanças climáticas, a exemplo do calor, seca e balanço nutricional, é preciso analisar as alterações morfométricas nos grânulos de amido de mandioca em diferentes ambientes sujeitos a essas alterações. De fato, inúmeros fatores ambientais não apenas influenciam significativamente na produtividade de diversos cereais, mas também regulam o tamanho dos grânulos de amido e suas propriedades físico-químicas correspondentes (Zhang et al., 2017; Yao et al., 2020). Em uma revisão bastante ampla sobre a influência do tamanho do grânulo de amido em aplicações industriais, Li et al. (2023), mencionaram que as relações entre o ambiente, os regimes de fertilizantes, o rendimento e a qualidade do grão/tubérculo são muito complexas e interconectadas aos mecanismos de resposta ao estresse das plantas. Portanto, em estudos futuros, será essencial explorar a interação genótipo \times ambiente para compreender melhor a variação dessas características. Com isso, a

pesquisa sobre a utilização de grânulos de amido com propriedades específicas pode abrir novos caminhos para aplicações industriais alimentares e não alimentares.

A identificação de genótipos com morfologias de grânulos diferenciados pode fornecer insights valiosos sobre os genes que controlam a formação e o crescimento dos grânulos, além de possibilitar a identificação de variedades com características de amido novas e desejáveis para abertura de novos mercados ou mesmo preencher nichos de mercado de alto valor agregado. Apesar disso, existem poucos relatos sobre triagens genéticas avançadas para descobrir variações nas características dos grânulos de mandioca. Estudos extensivos e aprofundados sobre amidos de diferentes tamanhos podem atender à crescente demanda por alimentos nutritivos e saudáveis. Portanto, compreender a contribuição da distribuição do tamanho dos grânulos de amido pode ajudar os melhoristas a responder às demandas do mercado através do desenvolvimento de novas cultivares de mandioca (Guo et al., 2023).

5. Conclusão

Este estudo evidenciou a presença de variabilidade genética nos genótipos de mandioca para tamanho e formato de grânulos de amido. Os resultados demonstraram a presença de uma distribuição bimodal dos grânulos de amido e a falta de correlação entre alguns parâmetros da propriedade de pasta com tamanho e formato dos grânulos de amido, embora o estudo evidencie a necessidade da caracterização da base genética do desenvolvimento dos grânulos de amido e a manipulação genética da distribuição de tamanho do amido, além de investigações sobre a distribuição do comprimento das cadeias de amilopectina e suas correlações com propriedades do amido, incluindo morfologia, gelatinização, empastamento e propriedades nutricionais. Os resultados ainda oferecem um ponto de partida para futuras pesquisas no melhoramento da mandioca com foco no desenvolvimento de variedades com características específicas para uso na indústria de alimentos, biotecnologia e bioplásticos, considerando atributos relacionados aos grânulos de amido.

6. Referências bibliográficas

Agama-Acevedo, E.; Flores-Silva, P. C.; Bello-Perez, L. A. Cereal starch production for food applications. In: Clerici, M.T.P.S.; Schmiele, M. (eds). Starches for food application. London: Academic Press; p. 71-10, 2019.

Agnes, A.C.; Felix, E.C.; Ugochukwu, N.T. Morphology, rheology and functional properties of starch from cassava, sweet potato and cocoyam. Asian Journal of Biological, v.3, p.1-13, 2017.

Azevedo, L. C. De; De Sá, A. S. C.; Rovani, S.; Fungaro, D. A. Propriedades do amido e suas aplicações em biopolímeros. Cadernos de Prospecção, v. 11, p. 351-358, 2018.

Bhat, F.M.; Riar, C.S. Effect of amylose, particle size & morphology on the functionality of starches of traditional rice cultivars. International Journal of Biological Macromolecules, v.92, p.637-644, 2016.

Cai, C.; Lin, L.; Man, J.; Zhao, L.; Wang, Z.; Wei, C. Different structural properties of high-amylose maize starch fractions varying in granule size. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.62, n.48, p.11711-11721, 2014. doi: 10.1021/jf503865e.

Carmo, C. D.; Bandeira E Sousa, M.; Santos Pereira, J. D.; Ceballos, H.; Oliveira, E. J. Identification of waxy cassava genotypes using fourier-transform near-infrared spectroscopy. Crop Science, v. 60, n. 2, p. 883-895, 2020. <https://doi.org/10.1002/csc2.20102>

Ceballos, H.; Davrieux, F.; Talsma, E. F.; Belalcazar, J.; Chavarriaga, P.; Andersson, M. S. Carotenoids in cassava roots. Carotenoids, v.3, p. 189-221, 2017. doi: 10.5772/intechopen.68279

Ceballos, H.; Sánchez, T.; Denyier, K.; Tofiño, A. P.; Rosero, E. A.; Dufour, D.; Smith, A.; Morante, N.; Pérez, J. C.; Fahy, B. Induction and identification of a small-granule, high-amylose mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, p. 7215-7222, 2008.

Ceballos, H.; Sanchez, T.; Morante, N.; Fregene, M.; Dufour, D.; Smith, A. M.; Mestres, C. Discovery of an amylose-free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.55, p.7469-7476, 2007.

Chang, R.; Ji, N.; Li, M.; Qiu, L.; Sun, C.; Bian, X.; Qiu, H.; Xiong, L.; Sun, Q. Green preparation and characterization of starch nanoparticles using a vacuum

cold plasma process combined with ultrasonication treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 58, p. 104660, 2019.

Chisenga, M. S.; Workneh, S. T.; Bultosa, G; Laing, M. Characterization of physicochemical properties of starches from improved cassava varieties grown in Zambia. *AIMS Agriculture and Food*, v 4, n. 4, p. 939-966, 2019. 10.3934/agrfood.2019.4.939

Chiu, C. W.; Solarek, D. Modification of starches. In: BeMiller, J.; Whistler, R. (eds.), *Starch chemistry and technology*. Burlington: Academic Press. 3rd ed.; p. 629-655, 2009.

Cornejo-Ramírez, Y. I.; Martínez-Cruz, O.; Del Toro-Sánchez, C. L.; Wong-Corral, F. J.; Borboa-Flores, J.; Cinco-Moroyoqui, F. J. The structural characteristics of starches and their functional properties. *Journal of Food*, v.16, n. 1, p. 1003-1017, 2018.

Demiante, I. M.; Kotovicz, V. Cassava starch in the Brazilian food industry. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, v. 31, n. 2, p. 388-397, 2011.

Denardin, C. C.; Silva, L. P. da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

Dereje, B. Composition, morphology and physicochemical properties of starches derived from indigenous Ethiopian tuber crops: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 187, p. 911-921, 2021.

Dhital, S.; Shrestha, A. K.; Hasjim, J.; Gidley, M.J. Physicochemical and structural properties of maize and potato starches as a function of granule size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.59, n.18, p.10151-10161, 2011. doi: 10.1021/jf202293s.

Matos, V.E.; Nogueira, S.C.S; Silva, G.R.; Kowalczyk, P.B. Differences in etheramines froth properties and the effects on iron ore flotation. Part II: three-phase systems. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, v. 43, n. 2, p. 243-250, 2022. doi:10.1080/08827508.2021.1888725

Falconer, D.S.; Mackay, T.F.C. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th Edition, Addison Wesley Longman, Harlow. 464 p. 1996.

Garrido, L. H.; Schnitzler, E.; Zortéa, M. E. B.; De Souza Rocha, T.; Demiante, I. M. Physicochemical properties of cassava starch oxidized by sodium hypochlorite. *Journal of Food Science and Technology*, v. 51, n. 10, p. 2640-2647, 2014.

Gu, Z.; Gu, L.; Eils, R.; Schlesner, M.; Brors, B. Circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics*, v. 30, n. 19, p. 2811- 2812, 2014.

Guo, L.; Chen, H.; Zhang, Y.; Yan, S.; Chen, X.; Gao, X. Starch granules and their size distribution in wheat: Biosynthesis, physicochemical properties and their effect on flour-based food systems. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, v.21, p. 4172-4186, 2023. doi: 10.1016/j.csbj.2023.08.019.

Henderson, C.R. Applications of linear models in animals breeding. Guelph. University of Guelph, 1984. 462p.

Houngbo, M.E.; Desfontaines, L.; Irep, J.-L.; Dibi, K.E.B.; Couchy, M.; Otegbayo, B.O. and Cornet, D. Starch granule size and shape characterization of yam (*Dioscorea alata* L.) flour using automated image analysis. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12861>

Jaiswal, S.; Baga, M.; Ahuja, G.; Rosnagel, B. G.; Chibbar, R. N. Development of barley (*Hordeum vulgare* L) lines with altered starch granule size distribution. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.62, p.2289-2296, 2014.

Jombart, T.; Devillard, S.; Balloux, F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. BMC genetics, v. 11, 94, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>

Khlestkin, V. K.; Erst, T. V.; Rozanova, I. V.; Efimov, V. M.; Khlestkina, E. K. Genetic loci determining potato starch yield and granule morphology revealed by genome-wide association study (GWAS). PeerJ., v.8, e10286. 2020. doi: 10.7717/peerj.10286.

Kouadio, O.K.; N'dri, D.Y.; Nindjin, C.; Marti, A.; Casiraghi, M.C.; Faoro, F.; Erba, D.; Bonfoh, B.; Amani, N.G. Effect of resistant starch on the cooking quality of yam (*Dioscorea* spp.) and cassava (*Manihot esculenta*) based paste products. International Journal of Food Sciences and Nutrition, v.64, p.484-493, 2013.

Kumar, R.; Khatkar, S. B. Thermal, pasting and morphological properties of starch granules of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. Journal of food science and technology, v. 54, p. 2403-2410, 2017.

Latif, S.; Muller, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: a review. Trends in Food Science & Technology, v. 44, n. 2, p. 147-158, 2015.

Li, M.; Daygonb, V.D.; Solahc, V.; Dhitald, S. Starch granule size: Does it matter? Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.63, n.19, p.3683-3703, 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1992607>

Li, W.; Yan, S.; Shi, X.; Zhang, C.; Shao, Q.; Xu, F.; Wang, J. Starch granule size distribution from twelve wheat cultivars in east China's Huaibei region. Canadian Journal of Plant Science, v. 96, p. 176-182, 2016.

Lin, L.; Huang, J.; Zhao, L.; Wang, J.; Wang, Z.; Wei, C. Effect of granule size on the properties of lotus rhizome C-type starch. Carbohydrate Polymers, v.134, p. 448-457, 2015. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.08.026.

Makroo, H. A.; Naqash, S.; Saxena, J.; Sharma, S.; Majid, D.; Dar, B. N. Recovery and characteristics of starches from unconventional sources and their potential applications: A review. Applied Food Research, v. 1, n. 1, p. 100001, 2021.

Moorthy, S. N. Physicochemical and Functional Properties of Tropical Tuber Starches: A Review. Starch - Stärke, v. 54, n. 12, p. 559-592, 2002.

Noda, T.; Takigawa, S.; Matsuura-Endo, C.; Suzuki, T.; Hashimoto, N.; Kottarachchi, N.S. Factors affecting the digestibility of raw and gelatinized potato starches. Food Chemistry, v.110, p. 465-470, 2008.

Nuwamanya, E.; Baguma, Y.; Emmambux, N.; Taylor, J.; Patrick, R. Physicochemical and functional characteristics of cassava starch in Ugandan varieties and their progenies. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, v.2, p.001-011, 2010

Ojogbo, E.; Ogunsona, E. O.; Mekonnen, T. H. Chemical and physical modifications of starch for renewable polymeric materials. *Materials Today Sustainability*, v. 7, p.100028, 2020.

Oliveira, A.B.; Rasmusson, D.C.; Fulcher, R.G. Genetic aspects of starch granule traits in barley. *Crop Science*, v.34, p. 1176-1180, 1994. <https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400050006x>

Oliveira, C.R.S.; Borel, J.C.; Pereira, D.A.; Carvalho, B.P.; Medrado, E.S.; Ishikawa, F.H; Oliveira, E.J. Genetic parameters and path analysis for root yield of cassava under drought and early harvest. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.21, n3, e36162137, 2021. <https://doi.org/10.1590/1984-70332021v21n3a46>

Oliveira, P. H. G. A.; Barbosa, A. C. O.; Diniz, R. P.; Ferreira, C. F.; & Oliveira, E. J. Morphological variation of starch granules in S₁ cassava progenies. *Euphytica*, v.214, 92, 2018. doi:10.1007/s10681-018-2175-6.

Omoregie Egharevba, H. Chemical Properties of Starch and Its Application in the Food Industry. In: *Chemical Properties of Starch*. [S. l.]: Intech Open, v. 9, p. 137-144, 2019.

Palabiyik, İ. et al. A modeling approach in the interpretation of starch pasting properties. *Journal of Cereal Science*, v. 74, p. 272-278, 2017.

Parker ML. 1985. The relationship between A-type and B-type starch granules in the developing endosperm of wheat. *Journal of Cereal Science*, 3, 271-278.

Parkes, E.; Aina, O.; Kingsley, A.; Iluebbey, P.; Bakare, M.; Agbona, A.; Labuschagne, M. Kulakow, P. Combining ability and genetic components of yield characteristics, dry matter content, and total carotenoids in provitamin a cassava F1 cross-progeny. *Agronomy*, v. 10, n. 12, p. 1850, 2020.

Pellegrini, M.; Lucas-Gonzalez, R.; Sayas-Barberá, E.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J. A.; Viuda-Martos, M. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) paste as partial fat replacer in the development of reduced fat cooked meat product type pâté: Effect on quality and safety. *CyTA-Journal of Food*, v. 16, n. 1, p. 1079-1088, 2018. doi: 10.1080/19476337.2018.1525433.

Pérez, S.; Bertoft, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch/Stärke*, v.62, p.389-420, 2010. <https://doi.org/10.1002/star.201000013>

Qi, X.; Tester, R. F. Effect of native starch granule size on susceptibility to amylase hydrolysis. *Starch – Stärke*, v. 68, n. 9-10, p. 807-810, 2016. doi: 10.1002/star.201500360.

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. <http://www.R-project.org>. Acesso em: 17 maio. 2023.

- Resende, M.D.V. Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Editora Embrapa-SCT, Brasília, p.95, 2002.
- Sampaio Filho, JS.; Olivoto, T.; Campos, M.S; Oliveira, E.J. Multi-trait selection in multi-environments for performance and stability in cassava genotypes. *Frontiers in Plant Science*, v.14, 1282221, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1282221>
- Santos, C. S. D.; Brito, A. C.; Oliveira, L. A. D.; Carvalho, C. W. P.; & Oliveira, E. J. D. Phenotypic diversity of starch pasting properties in cassava for food industry. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.45, 2022.
- Schieltzeth, H.; Dingemanse, N. J.; Nakagawa, S.; Westneat, D. F.; Allegue, H.; Teplitsky, C.; Réale, D.; Dochtermann, N. A.; Garamszegi, L. Z.; Araya-Ajoy, Y. G. Robustness of linear mixed-effects models to violations of distributional assumptions. *Methods in Ecology and Evolution*, v. 11, n. 9, p. 1141-1152, 2020.
- Schneider, C. A.; Rasband, W. S.; Eliceiri, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, v.9, p.671-675, 2012.
- Sikora, M.; Tomasik, P.; Krystyjan, M. Characterization of potato starch fractions and their interaction with hydrocolloids. *Starch – Stärke*, v.62, n.7, p.341-349, 2010. doi: 10.1002/star.200900256.
- Silva, T. G.; Silva, P. P. R.; Borges, B.; Brito, A. C.; Schmiele, M.; Costa, G, M, J. Oat starch extraction process: review study. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 5, e9812540361, 2023.
- Singh, S.; Singh, N.; Isono, N.; Noda, T. Relationship of granule size distribution and amylopectin structure with pasting, thermal, and retrogradation properties in wheat starch. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 58, p. 1180-1188, 2010.
- Sívoli, L.; Pérez, E.; Rodríguez, Y. P. Structural analysis of the cassava native starch (*Manihot esculenta* C.) using morphometric, chemical, thermal and rheological techniques. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v,29, n.2, p. 293-313, 2012.
- Soh, H.N.; Sissons, M.J.; Turner, M.A. Effect of starch granule size distribution and elevated amylase content on durum dough rheology and spaghetti cooking quality. *Cereal Chemistry*, v.83, p.513-519, 2006. doi:10.1094/CC-83-0513.
- Souza, L. D; Souza, L. S; Gomes, J. C. Exigências Edáficas Da Cultura Da Mandioca. In: Souza, L. S.; Farias, A. R. N.; Mattos, P. L. P.; Fukuda, W. M. G. (Eds.), *Aspectos Socioeconômicos e Agronômicos da Mandioca*. Cruz Das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 70-214, 2006
- Pellegrini, M.; Lucas-Gonzalez, R.; Sayas-Barberá, E.; Fernández-López, J.; Sriroth, K.; Santisopasri, V.; Petchalanuwat, C.; Kurotjanawong, K.; Piyachomkwani, K.; Oates, C. Cassava starch granule structure-function properties; Influence of time and conditions of harvest on four cultivars of cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 38, p. 161-170, 1999.

- Stoddard, F. L. Genetics of starch granule size in hexaploid wheats. *Crop & Pasture Science*, v. distribution in tetraploid and p. 6375-648, 2003.
- Tappiban, P.; Sraphet, S.; Srisawad, N.; Wu, P.; Han, H.; Smith, D. R.; Bao, J. Triwitayakorn, K. Effects of cassava variety and growth location on starch fine structure and physicochemical properties. *Food Hydrocolloids*, v. 108, p. 106074, 2020.
- Teixeira, P. R. G.; Viana, A. E. S.; Cardoso, A. D.; Moreira, G. L. P.; Matsumoto, S. N.; Ramos, P. A. S. Physical-chemical characteristics of sweet cassava varieties. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 12, n. 2, p. 158-165, 2017.
- Utrilla-Coello, R.G.; Agama-Acevedo, E.; Barba de la Rosa, A. P.; Rodríguez-Ambríz, S. L.; Bello-Pérez, L. A. Physicochemical and enzyme characterization of small and large starch granules isolated from two maize cultivars. *Cereal Chemistry Journal*, v.87, n.1, p.50-56, 2010. doi: 10.1094/CCHEM-87-1-0050.
- Vasconcelos, L. M.; Brito, A. C.; Carmo, C. D.; Oliveira, P. H.; Oliveira, E. J. Phenotypic diversity of starch granules in cassava germplasm. *Genetics and Molecular Research*, v.13, n. 16, 2017. doi: 10.4238/gmr16029276. PMID: 28407178.
- Vencovsky, R.; Barriga, P. *Genética biométrica no fitomelhoramento*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.
- Wei, T.; Simko, V. R package 'corrplot': Visualization of a Correlation Matrix. (Version 0.92), 2021. <https://github.com/taiyun/corrplot>.
- Yao, D.; Wu, J.; Luo, Q.; Li, J.; Zhuang, W.; Xiao, G.; Deng, Q.; Lei, D.; Bai, B. Influence of high natural field temperature during grain filling stage on the morphological structure and physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) starch. *Food Chemistry*, v. 310, p. 125817, 2020. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125817.
- Yoshida, H.; Nozaki, K.; Hanashiro, I.; Yagi, F.; Ito, H.; Honma, M.; Matsui, H.; Takeda, Y. Structure and physicochemical properties of starches from kidney bean seeds at immature, premature and mature stages of development. *Carbohydrate Research*, v.338, n.5, p.463-469, 2003. doi: 10.1016/S0008-6215(02)00489-5.
- Zhang, W.; Gu, J.; Wang, Z.; Wei, C.; Yang, J.; Zhang, J. Comparison of structural and functional properties of wheat starch under different soil drought conditions. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1-18, 2017. doi: 10.1038/s41598-017-10802-3.
- Zhang, B.; Li, X.; Liu, J.; Xie, F.; Chen, L. Supramolecular structure of A-and B-type granules of wheat starch. *Food Hydrocolloids*, v.31, n.1, p.68-73, 2013. doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.10.006.

Zhang, T.; Wang, Z.; Yin, Y.; Cai, R.; Yan, S. and Li, W. Starch content and granule size distribution in grains of wheat in relation to post-anthesis water deficits. *Journal of Agronomy and Crop Science*, v.196, p.1-8, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00388.x>

Zhu, F.; Xie, Q. Structure and physicochemical properties of starch. In: Sui, Z.; Kong, X. editors. *Physical Modifications of Starch*. Singapore: Spr