

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ACESSOS DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz) COM RAÍZES AMARELO-LARANJA UTILIZANDO MARCADORES DO TIPO RAPD

Elaine Alves Santos¹; Onildo Nunes de Jesus²; Katia Nogueira Pestana³;
Vânia Jesus dos Santos³; Claudia Fortes Ferreira⁴; Wania Fukuda⁵

¹Estudante-Universidade Católica de Salvador-UCSal-Instituto Biológico-Avenida Pinto de Aguiar s/n, Salvador; ²Estudante-Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRP-Departamento de Agronomia; ³ Estudante-Escola de Agronomia e Ciências Ambientais-UFBA; ^{4,5}Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, s/n, Caixa Postal 007, Cruz das Almas, BA.
E-mail: claudiaf@cnpmf.embrapa.br.

INTRODUÇÃO

A *Manihot esculenta* Crantz é uma espécie originada do Brasil (Schaal et al., 1994), cultivada inicialmente pelos nativos da América Latina e depois introduzida nos continentes Africano e Asiático, servindo como alimento básico para populações carentes e considerada uma das fontes mais importantes de calorias, especialmente para os Latino Americanos (Montero, 2003). O Brasil é o segundo produtor mundial de mandioca com 1.780.870 ha plantados e uma produção anual de 24.230.332 toneladas (FAO, 2004), onde a Região Nordeste brasileira é uma das principais produtoras.

A mandioca apresenta uma grande diversidade, concentrada principalmente na América Latina e no Caribe. Aproximadamente 8500 acessos de mandioca estão mantidos em várias coleções mundiais, das quais 7500 estão na América do Sul (Costa & Morales, 1994). No Brasil, 4132 acessos tem sido coletados e são mantidos em bancos de germoplasma espalhados no país (Fukuda, 2000), onde aproximadamente 1800 acessos se encontram no Banco de Germoplasma de Mandioca da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, Bahia.

Os alimentos considerados básicos, em geral, não são boas fontes de micronutrientes. Entretanto, este cenário pode ser modificado por meio do melhoramento genético, assim como a exploração dos acessos amarelo-laranja (Welch, 2002; Gregório, 2002; Bedoya et al. 2003). Dentre os acessos presentes no banco de germoplasma da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, aqueles apresentando raízes amarelo-laranja, que até agora não foram estudados a fundo, merecem atenção especial. Tais acessos podem vir a apresentar raízes com teores interessantes de beta caroteno, capazes de suprir (se possível com outros alimentos), as 2500 UI de beta caroteno exigidas como dose diária segundo a legislação brasileira (dose diária de vitamina A equivale a 5000 UI; onde 2500 UI são de retinol e os outros 2500 UI de beta caroteno), e acredita-se que existe diversidade genética suficiente no banco de germoplasma de mandioca a ser explorada para esta característica (Iglesias et al., 1997; Carvalho, 2000).

Os carotenóides (ex: α -caroteno, β -caroteno, licopeno), representam o grupo mais amplo de pigmentos na natureza, com cores variando de amarelo ao vermelho, sendo

encontrados em tecidos fotossintéticos e não fotossintéticos, como raízes, sementes e frutos. Uma vez ingerido, o β -caroteno é transformado, no fígado, em vit A. A vitamina A está relacionada funções ligadas à visão, diferenciação celular, crescimento e desenvolvimento, reprodução e o sistema imunológico. O objetivo do presente trabalho é analisar molecularmente os acessos de mandioca de raízes de coloração amarelo-laranja presentes no Banco de Germoplasma de Mandioca da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*. Com isso, espera-se fornecer a primeira etapa para tornar estes acessos disponíveis aos melhoristas, visando a obtenção de novas variedades de mandioca ricas em β -caroteno, principalmente para os povos da Região Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Material genético

Trinta acessos de mandioca foram selecionados do Banco de Germoplasma de Mandioca da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical* quanto a coloração das raízes (amarelo-laranja) e folhas jovens foram coletadas em campo e armazenadas em ultra-freezer até o momento da extração de DNA.

Extração de DNA

Este passo foi desenvolvido no Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*. O DNA de folhas de mandioca foi extraído de acordo com a metodologia proposta por Doyle & Doyle (1990). A concentração das amostras de DNA foi estimada utilizando o sistema de fotodocumentação da Kodak Digital e as amostras diluídas para a concentração final de 10 ng/ μ L.

Amplificação de DNA (marcadores RAPD)

As reações de amplificação foram feitas seguindo o protocolo proposto por Williams et al. (1990) e o volume final ajustado para 25 μ L. As amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose 1,2%, contendo brometo de etídio e TBE 1x, a 90 V por aproximadamente 3 horas e meia. As bandas de DNA foram capturadas pelo sistema Kodak de fotodocumentação.

Análise da diversidade genética

Foi utilizado o software GENES (Cruz, 2001) para avaliar a diversidade genética entre os acessos de mandioca. Após a avaliação, os genótipos mais divergentes serão utilizados nos cruzamentos controlados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários trabalhos sobre a caracterização molecular em mandioca são encontrados na literatura (Colombo et al. 2000; Costa et al. 2003). Os 30 primers selecionados geraram produtos de amplificação bem definidos totalizando 126 bandas das quais 30 foram monomórficas e a média de bandas/primer foi de 4.9. Obteve-se um total de 96 bandas polimórficas que foram utilizadas para a construção do dendrograma (Fig. 1).

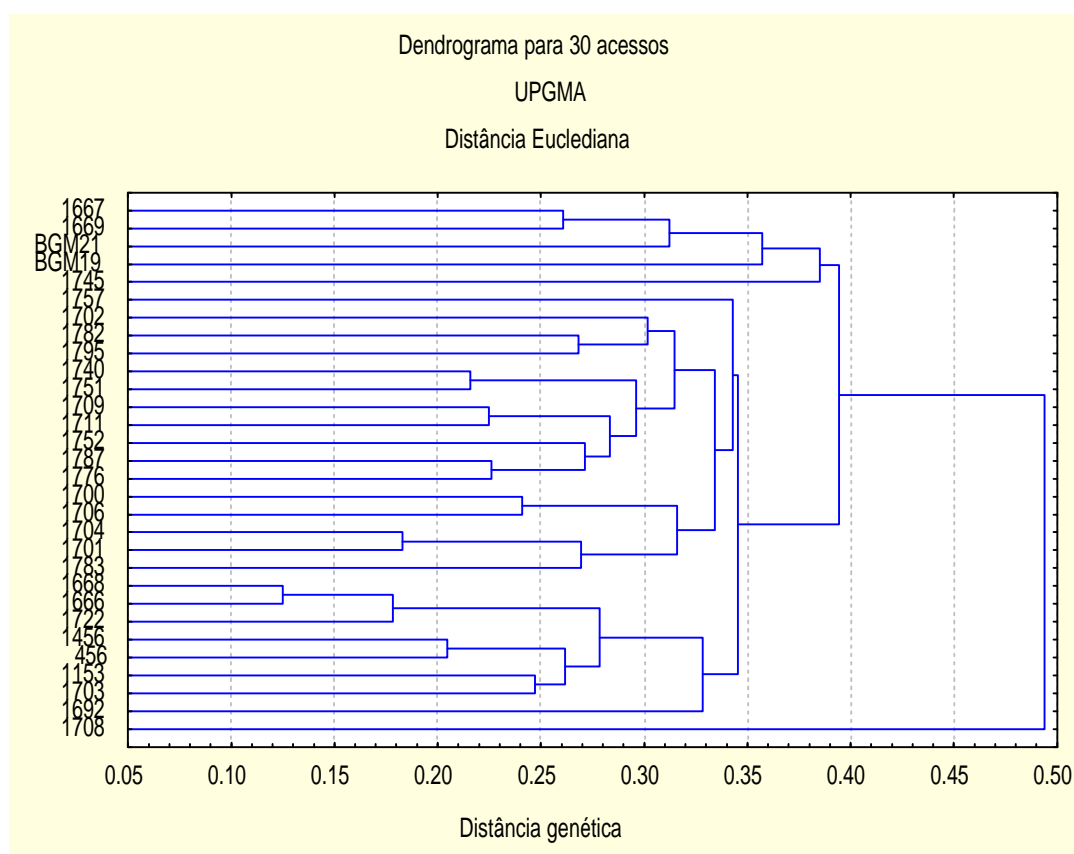


Fig. 1. Dendrograma apresentando a diversidade genética entre 30 acessos de mandioca de raízes de coloração amarelo-laranja.

Os resultados demonstram que existe grande variabilidade genética entre os acessos de mandioca de coloração amarelo-laranja presentes no Banco de Germoplasma da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*. Isto significa que estes acessos poderão ser explorados em cruzamentos visando o aumento do teor de beta-caroteno em mandioca, uma das metas do programa de melhoramento. O dendrograma apresentou dois grupos maiores, onde o acesso 1708 se destacou como o mais divergente em relação aos demais e ficou isolado em um único grupo. Os acessos menos divergentes podem ser considerados, por exemplo, o 1668 e 1666, apresentando aproximadamente 87% de similaridade e os mais divergentes, portanto os mais interessantes a serem utilizados no programa de melhoramento, seria o 1708 (que se encontra em um grupo separado) e os da série de acessos BGM21 e BGM19, por exemplo.

CONCLUSÃO

A caracterização molecular dos acessos de mandioca com raízes amarelo-laranja do Banco de Germoplasma de Mandioca da *Embrapa Mandioca e Fruticultura* foi possível mediante o uso de RAPD's, portanto, servindo de base para os primeiros passos em futuros cruzamentos a serem seguidos pelo programa de melhoramento da mandioca visando aumento de teor de beta caroteno.

AGRADECIMENTOS

À Nestlé Foundation pelo apoio financeiro e aos técnicos Zara Maria Fernandes da Costa e Maurício Mascarenhas por toda colaboração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bedoya, J.M.; Echivecci, J.; Chavez, A. L.; Ceballos, H.; Tohme, J.; Sanches, T. 2003. Genetic potential to improve carotene content of cassava. Centro de Agricultura Tropical CIAT, AA 6713, Cali, Colombia.
- Cruz, C.D. Programa Genes-versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa. Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa. 2001.
- Doyle, J.J.; Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. v.12, p. 13-15.
- FAO, <http://www.fao.org>
- Fukuda, W. M. G. 2000. Variedades. In: Mattos, P.L.P. De; Gomes, J. De. C. (ed.). O cultivo da Mandioca. Cruz das Almas, BA: *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, 122p. (Circular Técnica 37). p. 7-10.
- Gregório, G.B. 2002. Symposium: Plant Breeding: A new tool for fighting micronutrient malnutrition. Progress in Breeding for trace minerals in staple crops. *Journal of Nutrition*. v. 132, p. 500-502.
- Iglesias, C.; Mayer, J.; Chaves, L.; Calle, F. 1997. Genetic potential and stability of carotene content of cassava roots. *Euphytica*. v. 94, p. 367-373.
- Montero, W.R. 2003. Cassava: Biology, Production and Utilization. *Crop Science*, v. 43, p. 448.
- Santillo, H. 1994. Ministério da Saúde. www.portal.saude.gov.br
- Schaal, B.; Olson, P.; Prinze, T.; Carvalho, J. C. B.; Tonukari, N. J.; Hayworth, D. 1994. Phylogenetic analysis of the genus *Manihot* based on molecular markers. In: THE CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK. Borgon, Indonesia, p. 22-26, August, Proceedings of the Second International Scientific Meeting. (Working Document, n. 150).
- Welch, R. M. 2002. Breeding strategies for biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally. *Journal of Nutrition*. v. 132, n. 3, p. 495-499.