

BIOTECNOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA AUMENTO DE COMPETITIVIDADE DA MANDIOCA

**Antônio da Silva Souza, Fernanda Vidigal Duarte Souza,
Janay Almeida dos Santos-Serejo e Tatiana Góes Junghans**

Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical - Rua Embrapa, s/nº - Caixa Postal 007 -
44.380-000 - Cruz das Almas-BA. E-mail: assouza@cnpmf.embrapa.br,
fernanda@cnpmf.embrapa.br, janay@cnpmf.embrapa.br e tatiana@cnpmf.embrapa.br

1. Introdução

Embora esta espécie seja a quarta mais importante fonte de carboidratos nos trópicos, superada apenas pelo arroz, cana-de-açúcar e milho, no passado a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) não recebeu muita atenção por parte das instituições de pesquisa. Os investimentos em pesquisa para estudar a mandioca ficaram abaixo de outras culturas, como arroz, trigo, milho e batata, o que resultou em aumentos na sua produtividade considerados secundários. Contudo, mais recentemente esta situação vem mudando. Nos países industrializados e em desenvolvimento vários grupos de pesquisa estão integrando todo um conhecimento científico para gerar variedades de mandioca mais produtivas e melhorar as cultivares existentes em relação a aspectos como rendimento de raízes, qualidade de proteínas, teor e qualidade de amido, tolerância à condições ambientais adversas, resistência à doenças e pragas, deterioração pós-colheita das raízes, presença de compostos cianogênicos e biofortificação com zinco, ferro e vitaminas, assim como na redução dos custos de produção.

Diversas técnicas que compõem a biotecnologia estão sendo aplicadas no cultivo de células somáticas e reprodutivas, tecidos e órgãos, bem como em procedimentos moleculares avançados para a caracterização e modificação de genomas, e podem mudar esta situação, disponibilizando novos enfoques para enfrentar os desafios que envolvem a mandioca. Estas novas tecnologias, usadas em coordenação com o melhoramento genético convencional, podem tornar a mandioca muito mais competitiva.

2. Melhora Genética por Métodos Convencionais

Desde o começo do século passado que os melhoristas têm conseguido importantes aumentos na produtividade de muitas espécies importantes. O êxito de qualquer programa de melhoramento depende do grau de variação genética que está à disposição do melhorista. Os melhoristas de plantas têm conseguido resultados notáveis mediante o manuseio da variação intraespecífica, ou seja, a variação que existe no conjunto de linhagens, cultivares e variedades de uma espécie. Além disso, naqueles casos em que não existem barreiras de

incompatibilidade sexual entre genótipos de espécies diferentes, o melhorista tem sido capaz de explorar a variação interespecífica, ou seja, a variação que existe em um contexto genético diferente daquele da espécie que se pretende melhorar. Por meio do aproveitamento desta variação interespecífica, o melhorista tem sido capaz de transferir genes entre distintas espécies, o que tem levado à introdução de certas resistências a pragas e doenças, e ao aumento da tolerância a certos tipos de estresses abióticos (calor, frio, seca, salinidade, inundação e umidade) (Craig et al., 1994; Jones & Lindsey, 1997).

Em todo caso, a melhor solução atualmente é aproveitar o imenso potencial das novas biotecnologias. O alcance destas modernas tecnologias na manipulação genética é quase ilimitado, sobretudo quando se consegue associar as vantagens que as biotecnologias oferecem em duas vertentes - a biologia celular (cultura de tecidos) e a biologia molecular - com os métodos convencionais de melhoramento genético. O emprego conjunto destas ferramentas, biotecnológicas e convencionais, pode facilitar a obtenção dos resultados desejados pelo melhorista.

3. Melhoramento Genético Mediante Alternativas Biotecnológicas

Ante a complexidade, limitações e longa duração dos programas de melhoramento genético convencional, muitos esforços estão sendo feitos para encontrar enfoques alternativos que simplifiquem a obtenção de resultados, acelerem a consecução dos mesmos ou, como acontece em muitos casos, ajudem a superar as barreiras existentes (Blackhall et al., 1994). Desses enfoques, os mais promissores são os que a biotecnologia vegetal oferece, que não devem ser encaradas como ferramentas substitutivas das convencionais, porém como ferramentas complementares que ampliam as possibilidades do melhoramento genético entendido como um todo (Arce-Ochoa et al., 1995).

Entre as alternativas biotecnológicas, cabe ressaltar o rápido desenvolvimento no campo da cultura de células e tecidos vegetais, que pode ser considerado como uma das áreas de maior êxito. As células e tecidos vegetais crescendo *in vitro* proporcionam uma ferramenta ideal para o estudo de uma ampla gama de aspectos relacionados com a biologia vegetal, tanto em sua vertente básica como na aplicada. Por exemplo, a cultura *in vitro* tem permitido importantes avanços no conhecimento dos metabolismos primário e secundário, citodiferenciação, morfogênese, fisiologia vegetal etc. Porém, além disso, tem proporcionado ferramentas poderosas para a propagação em larga escala de espécies de interesse econômico, geração de variabilidade (variação somaclonal), obtenção rápida de linhagens puras mediante

o método haplo-diplóides, geração de híbridos somáticos por meio da fusão de protoplastos e, sobretudo, obtenção de plantas transgênicas.

4. A Biotecnologia e suas Aplicações em Mandioca

Procedimentos de biotecnologia podem desempenhar um papel importantíssimo no desenvolvimento da mandioca, minimizando ou até mesmo solucionando problemas num espaço de tempo bem mais curto, principalmente se associados aos métodos tradicionais de propagação e melhoramento (Souza et al., 2002). Apesar do pouco investimento em pesquisa e desenvolvimento que tem sido direcionado para a mandioca, áreas mais tradicionais da biotecnologia, como a cultura de tecidos, têm sido de grande impacto, especialmente na multiplicação de material de plantio livre de doenças e na aceleração do processo de melhoramento para geração de novas variedades.

Mesmo com os escassos recursos que têm sido disponibilizados para as pesquisas envolvendo a mandioca, grandes esforços vêm sendo efetuados e diversas técnicas estão sendo estudadas, de forma a superar problemas relacionados principalmente com o material de plantio e o melhoramento genético. Entre essas técnicas podem ser mencionadas aquelas que têm sido estudadas há mais tempo, como as de cultura de tecidos, e, mais recentemente, a transformação genética de plantas e aquelas tecnologias diretamente relacionadas com a área da biologia molecular avançada, envolvendo a utilização de marcadores moleculares.

No entanto, sem dúvida alguma, entre todos os procedimentos biotecnológicos, a micropropagação de plantas é aquele de maior impacto na cultura da mandioca. Trata-se de uma técnica relativamente simples, que não requer o uso de equipamentos muito caros e que pode ser facilmente aplicada em países em desenvolvimento, de forma a auxiliar na exploração de cultivares de mandioca. A micropropagação mediante ápices caulinares e segmentos nodais (Figura 1), já foi estabelecida para um grande número de genótipos de mandioca em vários países, visando, principalmente, as seguintes aplicações:

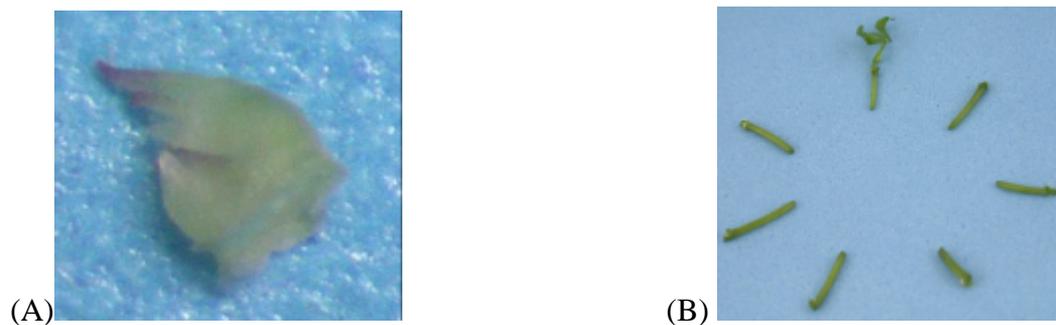


Figura 1. Ápice caulinar (A) e segmentos apical e nodais (B) utilizados na micropropagação da mandioca.

1) Multiplicação de variedades - as taxas de propagação alcançadas pela micropropagação são consideravelmente maiores que os possíveis métodos tradicionais baseados no emprego de manivas. A mandioca tem uma taxa de multiplicação de 1 : 8-12 por ano quando propagada convencionalmente. Mediante a cultura de tecidos, a taxa média de multiplicação da mandioca tem sido estimada em 1 : 5 a cada seis semanas, aproximadamente 1 : 43 por ano (Zok et al., 1993).

É interessante salientar que o desenvolvimento de um sistema de micropropagação a baixo custo pode produzir rapidamente grande quantidade de material de plantio de variedades melhoradas e novos genótipos, facilitando sua distribuição aos agricultores. Diante desta possibilidade, a Rede de Biotecnologia de Mandioca (Cassava Biotechnology Network-CBN) vem implementando projetos que têm como objetivo principal utilizar técnicas *in vitro* para beneficiar os pequenos produtores de mandioca em países da América Latina. Os resultados obtidos até agora mostram que ajustes efetuados para reduzir o custo do processo têm surtido bons resultados. Comprovou-se, por exemplo, que a maior parte dos componentes dos meios de cultura pode ser substituída por produtos comerciais mais baratos e que uma sala de crescimento rústica permite o bom desenvolvimento das plantas cultivadas sob luz natural e sem ar condicionado (Thro et al., 1999). Preferencialmente, o sistema de micropropagação a baixo custo deve ser associado à técnicas de propagação rápida (Otoo, 1996) e assim superar o problema da baixa taxa de multiplicação da mandioca. Dessa forma, se multiplicaria uma grande quantidade de material de plantio de variedades de mandioca, especialmente em regiões sujeitas à seca e/ou de ocorrência de surtos de pragas e doenças.

2) Eliminação de patógenos e pragas - devido a mandioca ser propagada assexuadamente, muitos patógenos e pragas persistem nas manivas (Figura 2) e são conduzidos de geração a geração, diminuindo a qualidade do material de plantio e, conseqüentemente, a produção de raízes. Além disso, causa sérias implicações na manutenção e intercâmbio de germoplasma

sadio. O isolamento e cultivo de ápices caulinares com 0,2-0,3 mm de tamanho fazem parte do processo de produção de sementes limpas de variedades de mandioca, que após a propagação *in vitro* mediante microestacas, aclimatização e propagação das variedades no campo, podem ser distribuídas aos agricultores.



Figura 2. Plantas de mandioca afetadas pelo vírus do mosaico das nervuras.

Vale a pena comentar que a ação de fatores bióticos e abióticos interfere na qualidade do material de plantio, ocasionando uma contínua diminuição no desempenho das cultivares de mandioca a cada ciclo que passa, refletindo em diminuição da produtividade. Entre os fatores bióticos, o acúmulo de patógenos no material de plantio resulta em um declínio gradual no vigor e na produtividade da mandioca. Estudos realizados na Colômbia, China e Venezuela comprovaram que cultivares tradicionais apresentaram um incremento significativo no rendimento após passarem pelo cultivo *in vitro*, mantendo produtividades elevadas e estáveis durante várias gerações.

3) Conservação de germoplasma - a preservação de germoplasma valioso de espécies cultivadas é uma parte integrante de qualquer programa de melhoramento genético vegetal. Como um método valioso e complementar à preservação do germoplasma de mandioca no campo, sua conservação *in vitro* sob condições de crescimento mínimo, torna-se um procedimento adequado para manter uma grande coleção em um pequeno espaço físico, livre de pragas e doenças, e sem risco de perdas por problemas edafoclimáticos. Este sistema de conservação assegura uma alta viabilidade do material e ainda traz como vantagem o fato de

ser um procedimento simples e de rápido estabelecimento, e que permite uma elevada taxa de propagação de plantas saudias em qualquer época do ano.

Trata-se de uma aplicação que já vem sendo adotada em diversos países, a exemplo da Colômbia, Brasil (Figura 3), Nigéria e Venezuela.



Figura 3. Conservação *in vitro* do banco de germoplasma de mandioca da ***Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical***.

4) Intercâmbio de germoplasma - o movimento de plantas e de partes de planta entre regiões ou países desempenha um papel importante no processo de transferência de tecnologia realizado por instituições nacionais e internacionais. No entanto, tal movimento está restringido por regulamentações que dificultam a introdução de germoplasma, especialmente de propagação vegetativa, como é o caso da mandioca, devido aos riscos de disseminação de pragas e enfermidades, que acabam sendo transmitidas através das manivas, o material basicamente empregado na multiplicação da mandioca. Por este motivo, a cultura *in vitro* é útil para prevenir ou minimizar a introdução de pragas e patógenos mais comuns a um país ou região e constitui o mecanismo válido internacionalmente para a transferência e intercâmbio de germoplasma (Albarrán et al., 2003).

5. Impactos dos Estudos

Apesar de não ter tido a devida atenção por parte das instituições de pesquisa e da própria política agrícola dos governantes dos países em desenvolvimento, a mandioca, há

mais 10 de anos atrás, já tinha sido agraciada com 4,6% das aplicações de métodos de biotecnologia entre as mais importantes espécies vegetais (Figura 4). A mandioca superava culturas consideradas, pelo menos teoricamente, mais nobres, como é o caso das espécies cítricas, e teve cerca do dobro das aplicações biotecnológicas destinadas ao trigo, café e uva. Entretanto, a aplicação de biotecnologias em mandioca ficou muito aquém da batata, outra fonte de carboidratos, que alcançou 20,5%.

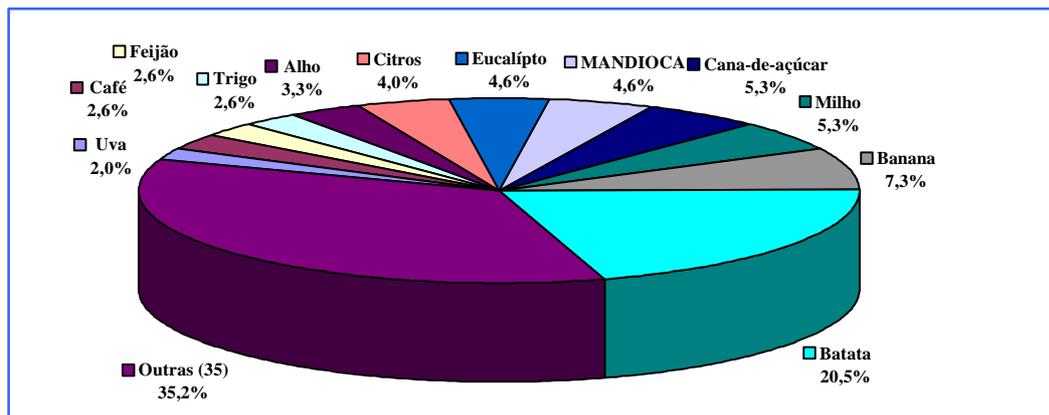


Figura 4. Distribuição da aplicação da biotecnologia entre espécies vegetais de máxima prioridade para os laboratórios.

Fonte: Red de Cooperación Técnica en Biotecnología Vegetal, 1991.

Ao longo dos anos tem sido verificado um incremento significativo na quantidade de trabalhos desenvolvidos com a mandioca envolvendo diversas técnicas que compõem a biotecnologia (Figura 5). Este aumento dos estudos ocorreu principalmente na última década, quando foram desenvolvidos mais de 44% dos trabalhos.

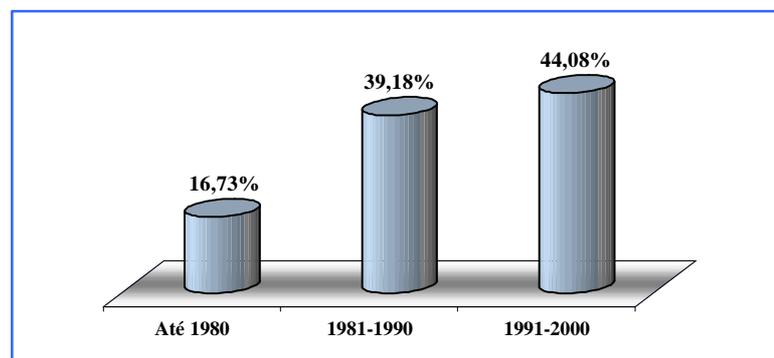


Figura 5. Evolução dos trabalhos de biotecnologia em mandioca.

Em relação às técnicas de cultura de tecidos empregadas na mandioca, pode-se observar que a micropropagação tem sido o procedimento mais explorado (33,88%) pelas

instituições (Figura 6), e, juntamente com a indução de calos, se constituem nas duas técnicas estudadas há mais tempo na cultura da mandioca. Entre todas as técnicas, o cultivo de ápices caulinares de mandioca é aquela com resultados mais práticos, seja por permitir a limpeza clonal dos materiais, por ser a mais utilizada no estabelecimento dos cultivos sob condições *in vitro* ou ainda por se constituir na primeira etapa da micropropagação. A preocupação com a conservação do germoplasma de mandioca, que de várias formas tem sido devastado, propiciou o desenvolvimento de estudos visando sua conservação *in vitro* (16,33%), quer seja mediante crescimento mínimo ou via a preservação sob temperaturas ultra-baixas. Vale destacar o grande avanço que teve os procedimentos de produção de plantas transgênicas em mandioca nos últimos anos (11,43%), os quais estão sendo direcionados agora para a transferência de genes de interesse agrônômico. Paralelamente aos estudos de transformação, houve uma forte dedicação às pesquisas envolvendo a embriogênese somática (10,61%), buscando-se um sistema eficiente para a transferência de genes e recuperação de plantas geneticamente modificadas. Na Figura 6 também pode ser observado um percentual relativamente alto de trabalhos executados na área molecular (12,65%), a maioria deles envolvendo marcadores moleculares.

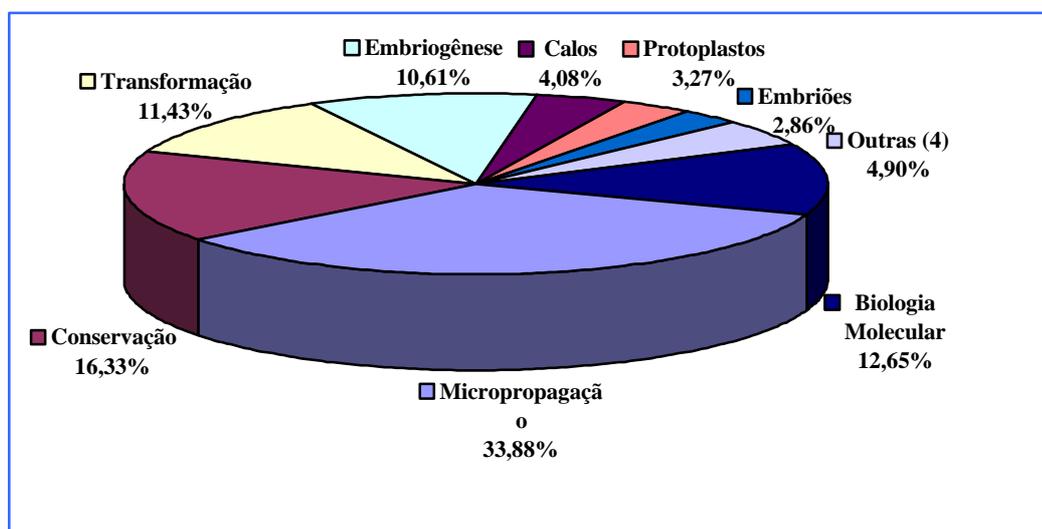


Figura 6. Biotécnicas e suas aplicações na cultura da mandioca.

Dentre os países que têm trabalhado com biotecnologia em mandioca, a Colômbia detém quase 40% das pesquisas, basicamente desenvolvidas pelo CIAT (Figura 7). O Brasil aparece em segundo lugar com mais de 12% dos trabalhos, grande parte deles efetuada em Unidades da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). É interessante salientar que, embora seja uma espécie tropical, os procedimentos de biotecnologia em

mandioca vêm sendo conduzidos e aplicados em vários laboratórios localizados em países de clima temperado, como Estados Unidos (9,39%), Canadá (3,31%) e diversos países da Europa, a exemplo da Inglaterra (5,52%) e Holanda (4,42%). Os demais 19% dos estudos foram executados em 20 outros países situados nos continentes africano, americano e asiático.

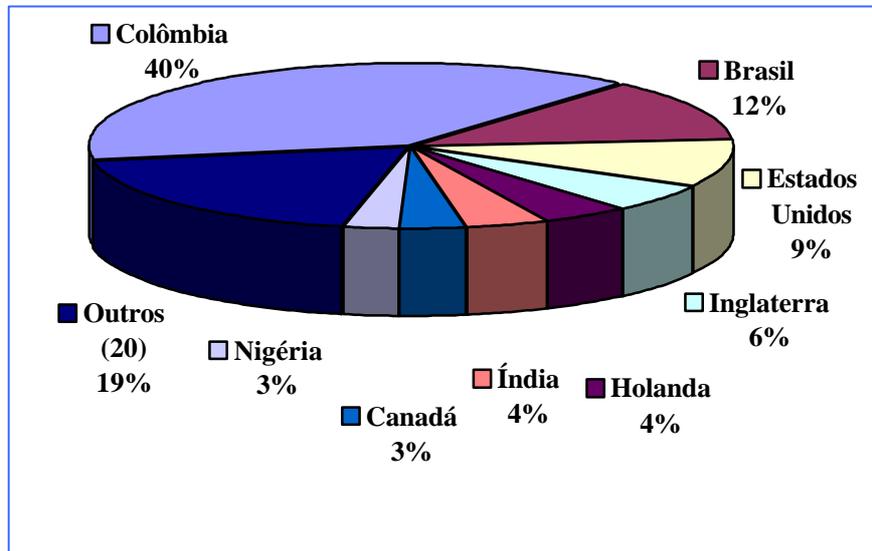


Figura 7. Países que desenvolvem estudos biotecnológicos em mandioca.

6. Conclusões e Perspectivas

As pesquisas nas diversas técnicas que juntas compõem a biotecnologia são e serão de grande utilidade para o desenvolvimento da cultura da mandioca, permitindo avanços significativos num espaço de tempo bem mais curto. Porém, é importante que os procedimentos biotecnológicos sejam desenvolvidos em integração com os objetivos específicos dos programas de melhoramento genético convencional, visando complementá-los. Na área de cultura de tecidos, por exemplo, pode-se destacar aspectos como a cultura de embriões, obtenção de plantas haplóides, estabelecimento de métodos de seleção *in vitro*, associados ou não ao uso de produtos mutagênicos, regeneração de híbridos interespecíficos mediante fusão de protoplastos, criopreservação de germoplasma e embriogênese somática.

No contexto da biologia molecular destaca-se a utilização de marcadores moleculares em estudos de seleção assistida, caracterização e identificação de germoplasma, desenvolvimento de mapas genéticos e identificação de genes de interesse tanto em *M. esculenta* Crantz como em espécies silvestres.

Numa posição intermediária, já que envolve técnicas da biologia celular e da biologia molecular, encontra-se a transformação genética de variedades com genes que codifiquem para características agrônomicas economicamente importantes, tais como: tolerância a

condições adversas (seca, salinidade etc.), resistência a pragas e doenças (víruses, principalmente), redução do teor de glicosídeos cianogênicos, retenção foliar, ampliação do período de armazenamento das raízes, elevação do teor e qualidade do amido e aumento dos níveis de proteínas nas raízes.

As mesmas barreiras que anteriormente dificultaram a adoção de outras tecnologias também podem dificultar a aplicação de procedimentos biotecnológicos, interferindo na exploração total do seu potencial. Entretanto, considerando a importância socioeconômica da mandioca, além do enfoque biotecnológico, torna-se necessário que outras áreas sejam também priorizadas e que medidas concretas sejam tomadas visando a execução das pesquisas. Neste sentido, é fundamental o apoio contínuo de instituições públicas e privadas, com recursos e programas voltados para a execução dos estudos, capacitação de pessoal técnico-científico, organização e ampliação de laboratórios, garantia dos direitos de propriedade intelectual e disseminação e adoção dos resultados científicos alcançados. Igualmente importante é o desenvolvimento de estratégias de biotecnologia participativa e de baixo custo, de forma a levar resultados, produtos e procedimentos, até então restritos a laboratórios relativamente sofisticados das instituições de pesquisa e ensino, para comunidades agrícolas que têm a mandioca como o principal produto de uso e exploração, visando suas adoções pelos agricultores e, com isso, resultar em um salto qualitativo e quantitativo no agronegócio da cultura.

7. Referências Bibliográficas

ALBARRÁN, J.; FUENMAYOR, F.; FUCHS, M. Propagación clonal rápida de variedades comerciales de yuca mediante técnicas biotecnológicas. **Ceniap Hoy**, Maracay, n.3, 2003. Disponível em: <<http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n3/texto/albaran.htm>>. Acesso em: 19 set. 2005.

ARCE-OCHOA, J.P.; DAINELLO, F.; PIKE, L.M.; DREWS, D. Field performance comparison of two transgenic summer squash hybrids to their parental hybrid line. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.3, p.492-493, 1995.

BLACKHALL, N.W.; DAVEY, M.R.; POWER, J.B. Isolation, culture, and regeneration of protoplasts. In: DIXON, R.A.; GONZALES, R.A. (Ed.). **Plant cell culture**. A practical approach. New York: Oxford University Press, 1994. p.28-39.

CRAIG, A.L.; MORRISON, I.; BAIRD, E.; WAUGH, R.; COLEMAN, M.; DAVIE, P.; POWELL, W. Expression of reducing sugar accumulation in interespecific somatic hybrids of potato. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.13, n.7, p.401-405, 1994.

JONES, M.G.K.; LINDSEY, K. Biotecnología en plantas. In: WALKER, J.M.; GINGOLD, E.B. (Ed.). **Biología molecular y biotecnología**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1997. p.137-172.

OTOO, J. A. **Rapid multiplication of cassava**. Ibadan: IITA, 1996. 61 p. (IITA Research Guide, 51).

RED DE COOPERACIÓN TÉCNICA EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL. **Informe de la mesa redonda para el establecimiento de una red de cooperación técnica en biotecnología vegetal para América Latina y el Caribe**. Santiago: FAO-REDBIO, 1991. 47p.

SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T.G.; FUKUDA, W.M.G. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos em mandioca. In: CEREDA, M.P. (Coord.). **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. p.118-178. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v. 2).

THRO, A.M.; ROCA, W.M.; RESTREPO, J.; CABALLERO, H.; POATS, S.; ESCOBAR, R.; MAFLA, G.; HERNANDEZ, C. Can *in vitro* biology have farm-level impact for small-scale cassava farmers in latin america? **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Columbia, v.35, n.5, p.382-387, 1999.

ZOK, S.; NYOCHEMBENG, L.M.; TAMBONG, J.; WUTOH, J.G. Rapid seedstock multiplication of improved clones of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) through shoot tip culture in Cameroon. In: ROCA, W.M.; THRO, A.M. (Ed.). **INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING OF THE CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 1., 1992, Cartagena. Proceedings...** Cali: CIAT, 1993. p.96-104. (CIAT. Working Document, 123).