



CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE MANDIOCA SILVESTRE PARA USO NO PRÉ-MELHORAMENTO DE *Manihot esculenta* Crantz.

Ariana Silva Santos¹, Carlos Alberto da Silva Ledo², Claudia Fortes Ferreira² Jucilene Silva Araújo³.

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Graduanda em Ciências Biológicas e bolsista CNPq - ana.silva0491@hotmail.com.

² Embrapa Mandioca e Fruticultura – Pesquisador(a) - ledocn@cpmf.embrapa.br, claudiaf@cpmf.embrapa.br.

³ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Pós – graduação em Ciências Agrárias e bolsista Capes – juccyaraujo@hotmail.com.

Resumo: As mandiocas silvestres exercem um papel inquestionável por serem considerados reservatórios de alelos competitivos e de interesse para uso dos melhoristas. O presente trabalho teve por objetivo dar início à caracterização molecular de 33 acessos de espécies silvestres de *Manihot* com o intuito de avaliar a variabilidade genética para ser explorada dentro do programa de melhoramento genético de mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O DNA foi extraído dos acessos e será utilizado na etapa seguinte de caracterização molecular. Os dados obtidos serão analisados e submetidos à análise multivariada de agrupamento a partir da matriz do índice de dissimilaridade de Jaccard. A susceptibilidade ou incapacidade genética da mandioca só pode ser evitada com a variabilidade, na qual a mesma depende dos recursos genéticos. As espécies silvestres de *Manihot* são pouco estudadas e este trabalho servirá de base para o delineamento das estratégias de cruzamentos pelos melhoristas com o intuito de transferir genes de interesse para as espécies cultivadas.

Palavras – chaves: variabilidade genética, mandioca, melhoramento genético.

Introdução

A cultura da mandioca constitui a base alimentar de cerca de 600 milhões de pessoas no Mundo (FAO 2012). É a única espécie do gênero *Manihot* cultivada comercialmente para produção de raízes comestíveis (Fukuda 2006).



O melhoramento genético de plantas está fundamentado na ampliação da variabilidade genética existente por meio de cruzamentos controlados (obtenção de populações segregantes), seleção artificial e avaliação dos genótipos selecionados em diferentes ambientes. A variabilidade genética é de fundamental importância para que a seleção seja efetiva e desta maneira, otimizar o ganho genético. Neste sentido, a criação e manutenção de um banco de germoplasma é uma excelente fonte de variabilidade genética para um programa de melhoramento. Entretanto, para que esta variabilidade seja utilizada com frequência e com eficiência, é necessário que o melhorista conheça profundamente o germoplasma disponível. Espécies silvestres do gênero *Manihot*, embora pouco estudadas, são importantes reservatórios de alelos de interesse a serem transferidos para espécies cultivadas, visando o desenvolvimento de variedades melhoradas que sejam mais resistentes a fatores bióticos e abióticos e que expressem maior produtividade (Nassar, 2006).

Bancos de germoplasma têm como finalidade principal preservar a variabilidade genética; seja de espécies silvestres ou cultivadas. A caracterização é um ponto de partida para o conhecimento da variabilidade sendo indispensável para o manejo de coleções de germoplasma, já que visa à obtenção de dados para descrever, identificar e diferenciar acessos dentro de espécies, classes ou categorias, utilizando para isso descritores adequados (Querol, 1988; Vicente *et al.*, 2005). Sendo assim, este trabalho tem como objetivo dar início à estimativa da variabilidade genética por meio de marcadores moleculares, visando sua utilização em programas de pré – melhoramento genético como produção de híbridos interespecíficos entre espécies silvestres e variedade elites de mandioca.

Material e Métodos

Foi extraído DNA de folhas jovens de 33 acessos de espécies silvestres de *Manihot*, a citar: *M. Dichotoma*, *M. Irwiin*, *M. Geniphoides*, *M. Pentafila*, *M. Pseudoglaziovii*, *M. Caerulensces*, *M. Cecropiafolia* e *M. Compositifolia*, utilizando a metodologia proposta por Doyle & Doyle (1990). Posteriormente, o DNA extraído foi quantificado e a sua qualidade avaliada em agarose 0.8%. O mesmo foi visualizado em



transiluminador e o gel de agarose fotografado com o sistema Vilber Lourmat de fotodocumentação. Serão realizadas reações de amplificação via marcadores RAPD e ISSR, que serão conduzidas de acordo com o protocolo descrito por Williams *et al.* (1990). As reações serão completadas em volume final de 15 μ L contendo os seguintes reagentes: Cl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), MgCl₂ 2,4 mM, 100 μ M de cada dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 0,2 μ M do primer (Operon Technologies, Alameda, CA, EUA), 25 ng do DNA e uma unidade de Taq polymerase (Biosystems). As amplificações serão realizadas em termociclador PCR System 9600 Thermocycler com o seguinte programa de amplificação: uma etapa inicial de desnaturação do DNA a 95° C por 1 min., seguido de 45 ciclos, cada um consistindo de: desnaturação a 94° C por 1 min.; pareamento do primer a 35° C por 1 min. (para os ISSR, a depender da T_a de cada primer) e extensão do fragmento de DNA pela Taq polimerase a 72° C por 2 min. Para análise dos dados será aplicado o índice de dissimilaridade de Jaccard que visa comparar a ausência (0) e/ou presença (1) de um determinado caráter.

Resultados e Discussão

Para caracterização molecular o DNA foi extraído de 33 acessos de espécies silvestres de *Manihot*. O DNA foi quantificado (Figura 1), e analisada sua concentração, para posterior diluição e início das amplificações utilizando marcadores moleculares.

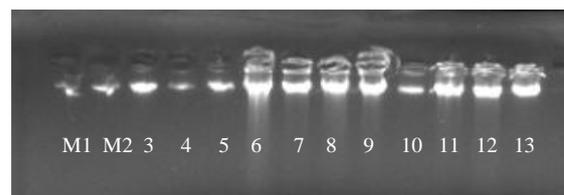


Figura 1. Gel de agarose 0.8% para verificação da qualidade e quantidade de DNA. M1 e M2 representam respectivamente marcadores de 50 e 100 pares de bases. As amostras 3 a 13 representam os acessos de espécies silvestres do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura.



Para um estudo relativo de variabilidade genética dos acessos de *Manihot* sp. da coleção da Embrapa via marcadores moleculares, os dados serão analisados após a amplificação, onde espera-se determinar a variabilidade genética presente nos acessos avaliados de forma que estes possam ser utilizados em programas de hibridação visando gerar híbridos melhorados entre espécies silvestres superiores e cultivares de mandioca de interesse; sendo estes tolerantes/resistentes a fatores abióticos e bióticos, para serem incorporados ao programa de melhoramento genético de mandioca.

Conclusões

O protocolo de Doyle e Dolye (1990) foi eficiente para extrair amostras de DNA de *Manihot* sp. e dar início aos estudos moleculares da variabilidade de mandiocas silvestres para uso no pre-melhoramento de mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Referências

- Doyle JJ, Doyle JL (1990) **Isolation of plant DNA from fresh tissue**. Focus 12: 13-15.
- FUKUDA, W.M.G.; IGLESIAS, C. Recursos Genéticos. In: SOUZA, L.S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P.; FUKUDA, W.M.G. (Ed.). **Aspectos Socioeconômicos e Agrônômicos da Mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. P. 301-318.
- NASSAR, N.M.A. **Mandioca: Uma opção contra a fome estudos e lições do Brasil e do mundo**. Ciência hoje, v. 39, n. 231, p. 31-34, 2006.
- Querol D (1988) **Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado: aproximación técnica y socioeconómica**. Lima, Perú, 218p.