

## CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA MANDIOCA (*Manihot Esculenta Crantz*) ATRAVÉS DE MARCADORES RAPD

YOSHINO, Viviane Castro de Oliveira<sup>1</sup>; COSTA, Maria Rosa<sup>2</sup>; CARDOSO, Eloisa Maria Ramos<sup>3</sup>

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma importante fonte de calorias armazenada na raiz sob a forma de fécula, constituindo a base alimentar de grande parte da população (cerca de 500 milhões de pessoas), da África, Ásia e América Latina. Com uma produção de 3.500.000 t de raízes, o Pará destaca-se como o maior produtor nacional de mandioca e responde por 70% da produção na região Norte. Nesse Estado, há grande diversificação do uso da mandioca, que vai da alimentação animal à humana, sob as formas "in natura" e de produtos processados, quando a matéria-prima sofre transformação, agregando maior valor ao produto final. Além da reconhecida importância social e econômica como cultura alimentar e de aplicação industrial, o Brasil é considerado o principal centro de diversidade (Rogers e Appan, 1973) e a Amazônia o provável centro de origem da espécie (Allem, 1994). A caracterização e avaliação do germoplasma, quanto ao seu potencial de uso, segundo Perry & McIntosh (1991), citados por Morales (1994), representa um componente estratégico para as atividades de pesquisa e desenvolvimento, agregando valor ainda maior, se estiver adicionado o conhecimento etnobiológico e definidas seqüências moleculares de interesse social e industrial. Determinações bioquímicas de RFLP e RAPD podem ser utilizadas para determinar, a baixo custo, padrões de diversidade nas coleções de germoplasma (Dodds & Watanabe 1989). A biodiversidade representa um importante bem sócio-econômico e, dentro desse contexto, a Amazônia se configura como um grande depositário de recursos genéticos de mandioca. Os acessos coletados na Amazônia possuem alto valor, pela qualidade e adaptação às condições ecológicas locais. Com o avanço alcançado em recentes estudos desenvolvidos por Carvalho et al. (2000), na área de biologia molecular e bioquímica, aumentam as perspectivas de que, num futuro próximo, essa planta venha atender às demandas por alimentos alternativos e fármacos produzidos pela bioindústria, integrando a mandioca aos demais setores da economia. Os acessos de mandioca do Brasil estão distribuídos em sete bancos ativos de germoplasma regionais, localizados na Amazônia (Oriental e Ocidental), Tabuleiros Costeiros, Semi-árido, Cerrados, Subtrópico e em Campinas-SP. Apesar da reconhecida variabilidade genética existente nesses bancos o germoplasma de mandioca tem sido pouco estudado, sob o ponto de vista genético. Os marcadores de DNA representam ferramentas importantes em estudos de evolução, domesticação, ecologia, filogenia, mapeamento genético e clonagem de genes. Estes marcadores permitem a avaliação, em curto prazo, de um número elevado de genótipos, além de não sofrerem influência ambiental, como ocorre com marcadores morfológicos. O uso combinado de marcadores morfológicos e moleculares subsidiará os trabalhos de melhoramento na busca de cultivares mais produtivos e com características de qualidade que atendam demandas do setor produtivo, contribuindo, ainda, para o intercâmbio de material e de informações entre instituições de pesquisa. O objetivo do trabalho é examinar o polimorfismo gerado por marcadores RAPD e analisar a diversidade genética entre acessos de mandioca, de diferentes procedências, pertencentes ao Banco de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental. O projeto será desenvolvido no Laboratório de genética- LABGEN da Embrapa Amazônia Oriental. O DNA será extraído de acordo com o protocolo de Nelson (1993) e o protocolo RAPD será o descrito por de Williams et al. (1990). Inicialmente, será realizado um screening de primers, selecionando-se os que apresentarem melhor amplificação de fragmentos, buscando-se um total de fragmentos polimórficos que seja suficiente para discriminar todos os indivíduos. Serão testados cerca de sessenta primers. O DNA genômico (3 $\mu$ l) será pipetado no fundo do microtubo, no qual será adicionado 10 $\mu$ l do mix preparado com água estéril, tampão da enzima, dNTPs, primers e por último a enzima Taq DNA polimerase, perfazendo um total de 13 $\mu$ l por reação. Será acrescentado 50 $\mu$ l de óleo mineral comercial, para evitar evaporação. A amplificação será realizada em termociclador de DNA, programado como segue: Desnaturação-1minuto a 92<sup>o</sup> C; Anelamento do primer-1minuto a 35<sup>o</sup> C; Extensão pela Taq polimerase-dois minutos a 72<sup>o</sup> C; no final sete minutos a 72<sup>o</sup> C. Este ciclo será repetido 40 vezes. Os produtos de amplificação serão visualizados em gel de agarose 1,5% num tampão TBE, com um gradiente de 6V cm<sup>-1</sup>, por cerca de três horas. Após a corrida eletroforética os géis serão visualizados em transiluminação com ultravioleta, sendo fotografados para documentação e análise. Serão analisados os dados gerados a partir da detecção de fragmentos polimórficos. As bandas que possuírem a mesma mobilidade, no geral serão consideradas idênticas, independentes de sua identidade. Como os marcadores RAPD se comportam como marcadores genéticos dominantes, os genótipos homozigoto dominante e o heterozigoto serão colocados juntos na mesma classe fenotípica, isto é presença da banda no gel, enquanto o genótipo homozigoto recessivo será identificado pela ausência da banda no gel (fenótipo nulo). Bandas muito fracas ou que ocorrerem em um só indivíduo também não serão consideradas. Os fragmentos polimórficos amplificados serão computados na forma de uma matriz retangular binária onde o "0" representará a ausência da banda e o "1" a presença. Para as análises será utilizado o programa NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), 2.0. A similaridade entre as amostras será estimada mediante a utilização do coeficiente de Jaccard (Sneath & Sokal, 1973).

<sup>1</sup>Bolsista / PIBIC/FCAP / Bacharelado em Biologia - UFPA / 6<sup>o</sup> Semestre

<sup>2</sup>Eng.-Agr., M.Sc., Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental

<sup>3</sup>Eng.-Agr., M.Sc., Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental