

Mandioca, biotecnologia, tolerância a herbicidas e otras características de alto valor

*Hernán Ceballos, Paul Chavarriaga,
Luisa Fory e Juan Carlos Pérez*



Introdução

Biotecnologia

Transformação genética

Técnicas

Genes e laboratórios

Regulação

Outras alternativas



Centro Internacional de Agricultura Tropical
International Center for Tropical Agriculture

Cultivos associados

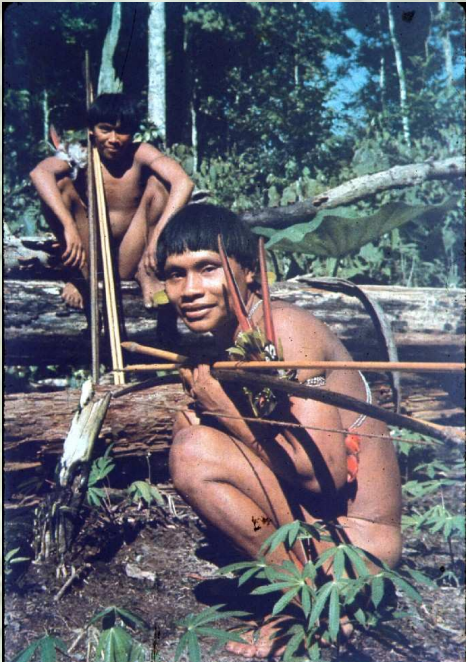


Baixa fertilidade do solo

Delta do Orinoco - Venezuela

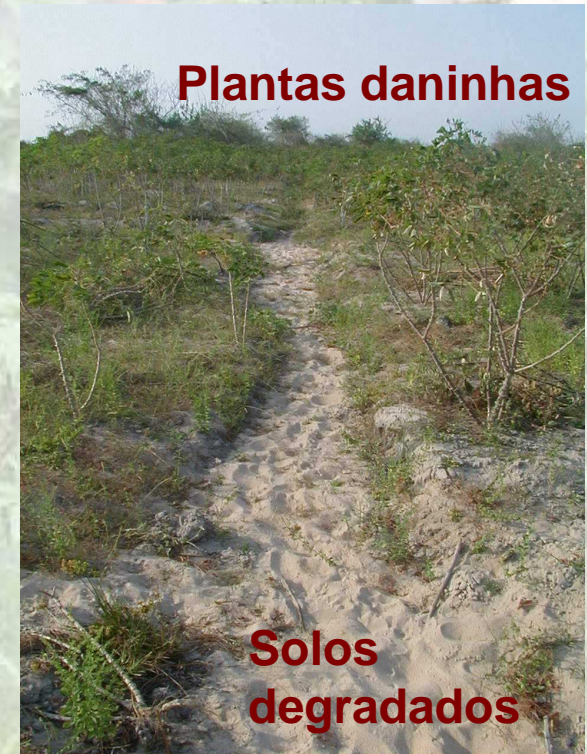


Introdução: mandioca tradicional



Ladeiras no Vietnã

Plantas daninhas



Solos degradados



**Plantio comercial
ambiente sub-úmido**



**Introdução:
mandioca tecnificada**



**Plantio comercial na
Ásia**



**Plantio comercial em
solos ácidos**

Variedades com rendimentos altos e estáveis foram desenvolvidos usando técnicas convencionais



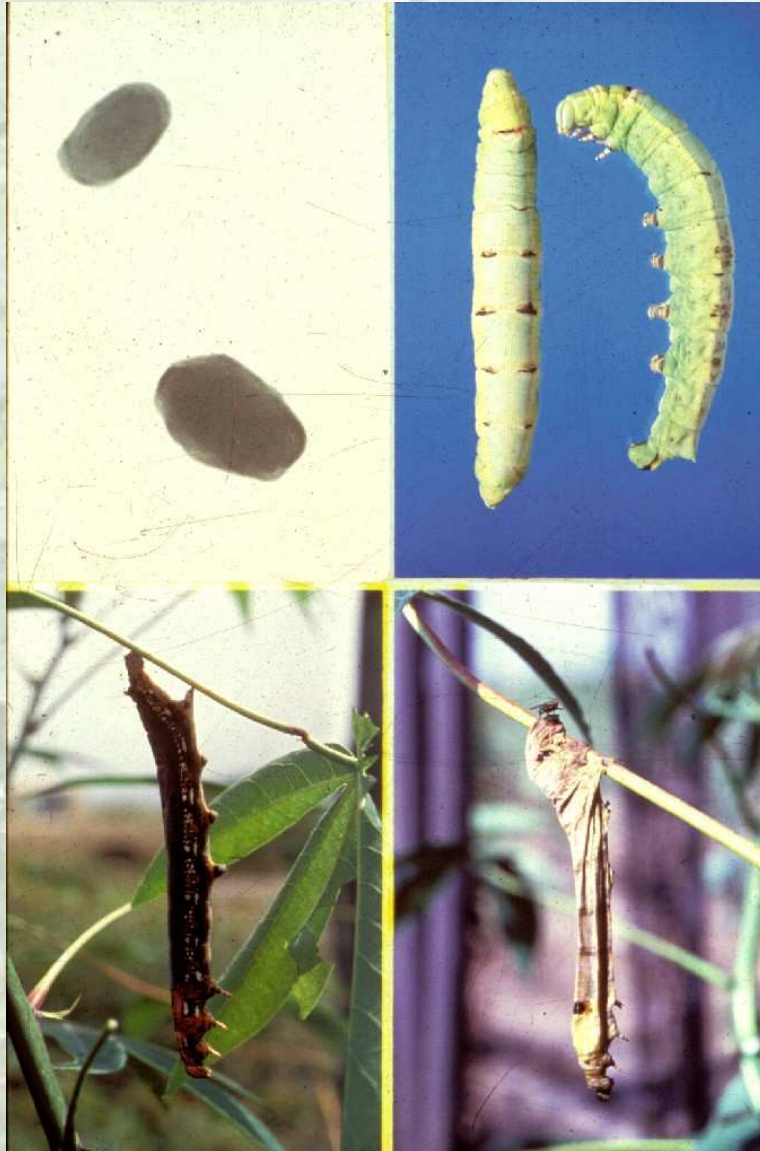
SM 1433-4:
84 t/ha de raízes frescas em
um plantio comercial de 9.5 ha



A produtividade pode aumentar melhorando as condições em que se cultiva a mandioca



A produtividade se pode melhorar com manejo adequado das pragas: **controle biológico**



A produtividade se pode melhorar com manejo adequado das pragas: **controle biológico**

Parasitoids of Cassava Mealybugs



A produtividade pode melhorar com manejo adequado de pragas e doenças:
resistência genética





Mecanização:
outra estratégia
importante para
produzir mandioca a
preços competitivos



Principais usos da mandioca

Muitos usos étnicos:

AFRICA:
Gari, Fufu

ASIA:
Sago, Gathot
Thiwul, Krupuk

LAC:
Farinha
Cassabe

Raízes cozidas



Aplicações industriais

Alimentos para animais



Amidos



Bio-etanol



Principais usos da mandioca

Raízes rosadas vs brancas



Raízes amarelas vs brancas

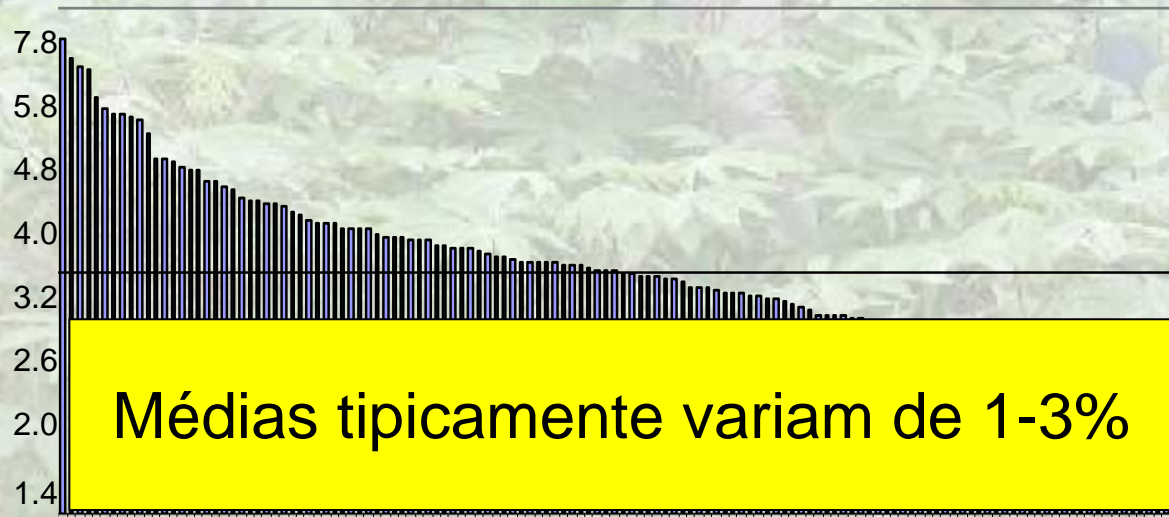


Aplicações industriais

Alimentos para animais



Conteúdo proteína bruta (%) PS



Médias tipicamente variam de 1-3%

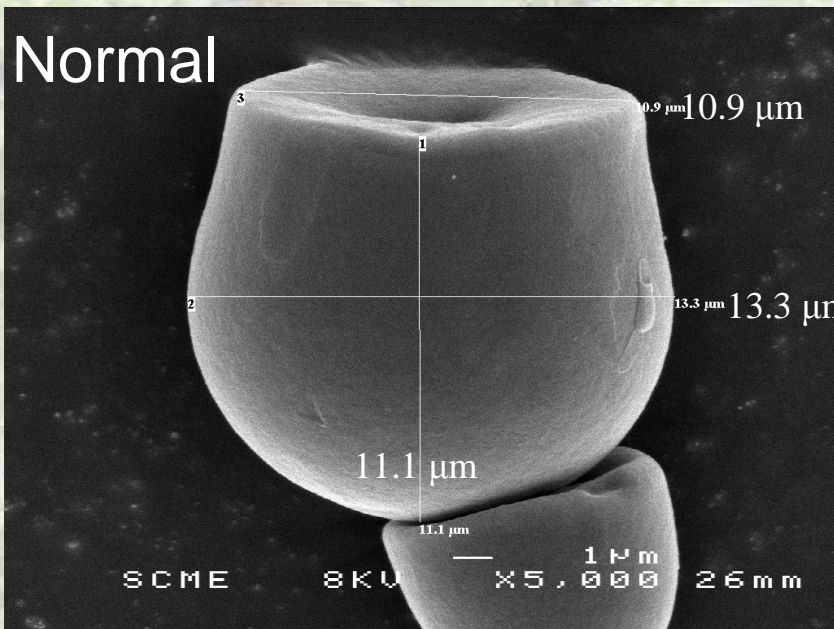
Número de acesso

Principais usos da mandioca

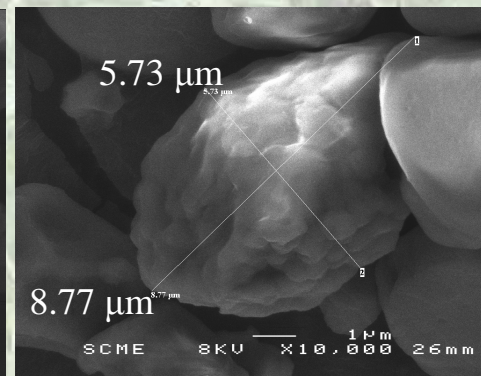
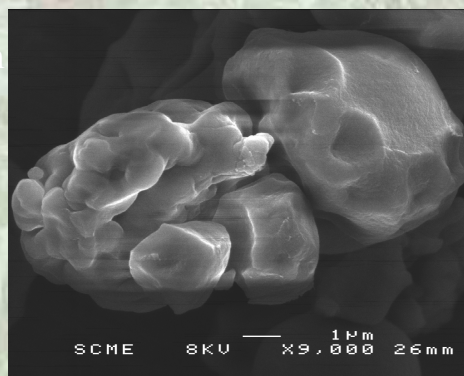
Aplicações industriais



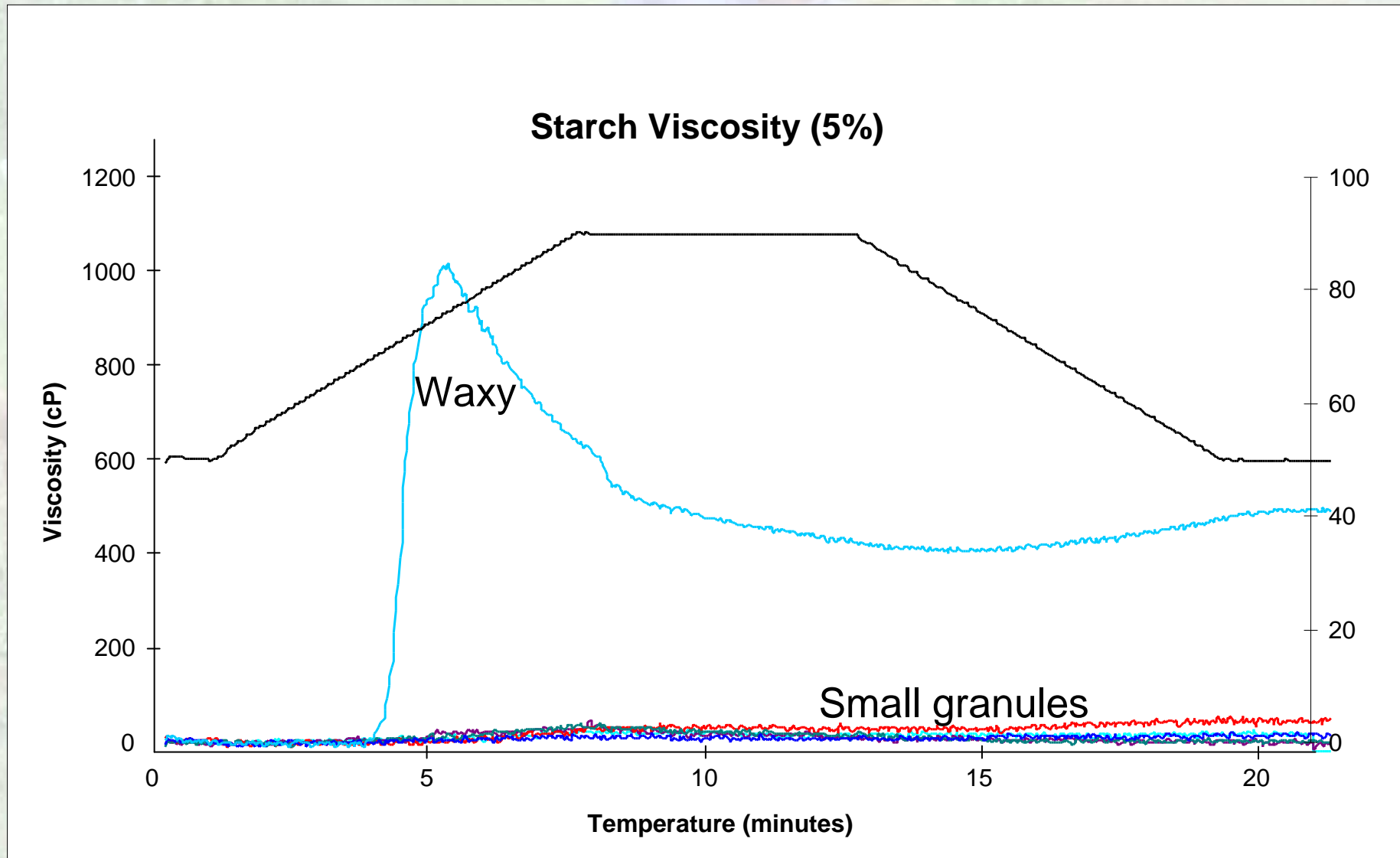
Amido sem amilose (amido waxy)



Amido de grânulo pequeno e alto conteúdo de amilose



Variação das propriedades funcionais de mutações em amido de mandioca (amilograma RVA)



Variação das propriedades funcionais de amido de mandioca em mutações

AMIDO DE:

Mandioca normal

Mandioca cerosa

Mandioca alta amilose

Milho normal

Milho ceroso

Batata normal

Batata cerosa

Propriedades avaliadas:

Transparência de géis

Sinerése (congelado) 1 a 5 semanas

Sinerése (refrigerado) 1 a 5 semanas

Índice de solubilidade (60/75/90 °C)

Capacidade de absorção (60/75/90 °C)

Resistência a cisalhamento

Efeito do pH nas propriedades dos géis

Perfil viscoamilográfico (RVA)

Teor de amilose

Principais usos da mandioca

Aplicações industriais

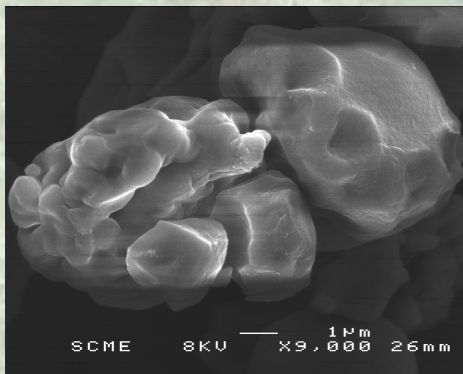


Fonte: L.Carvalho
EMBRAPA

Esta raiz acumula grande quantidade de açúcares simples



Amido sem amilose
é mais fácil de digerir



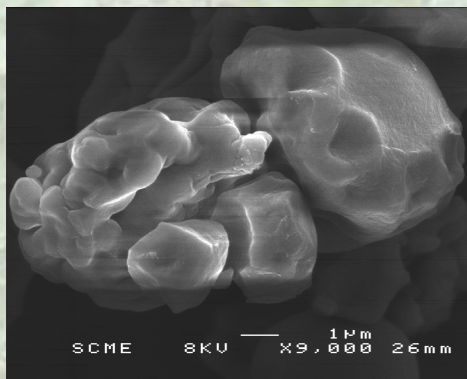
Grânulo pequeno
usa menos enzimas

Mas esta mutação tem
muita amilose



Bio-etanol

Principais usos da mandioca



CLAYUCA

Consortio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo
a la Investigación y Desarrollo de la Yuca



Diferentes
“receitas da cozinha”



Combinação ótima do
processo x matéria prima

Mandioca “normal”

Plantas daninhas: um problema a resolver

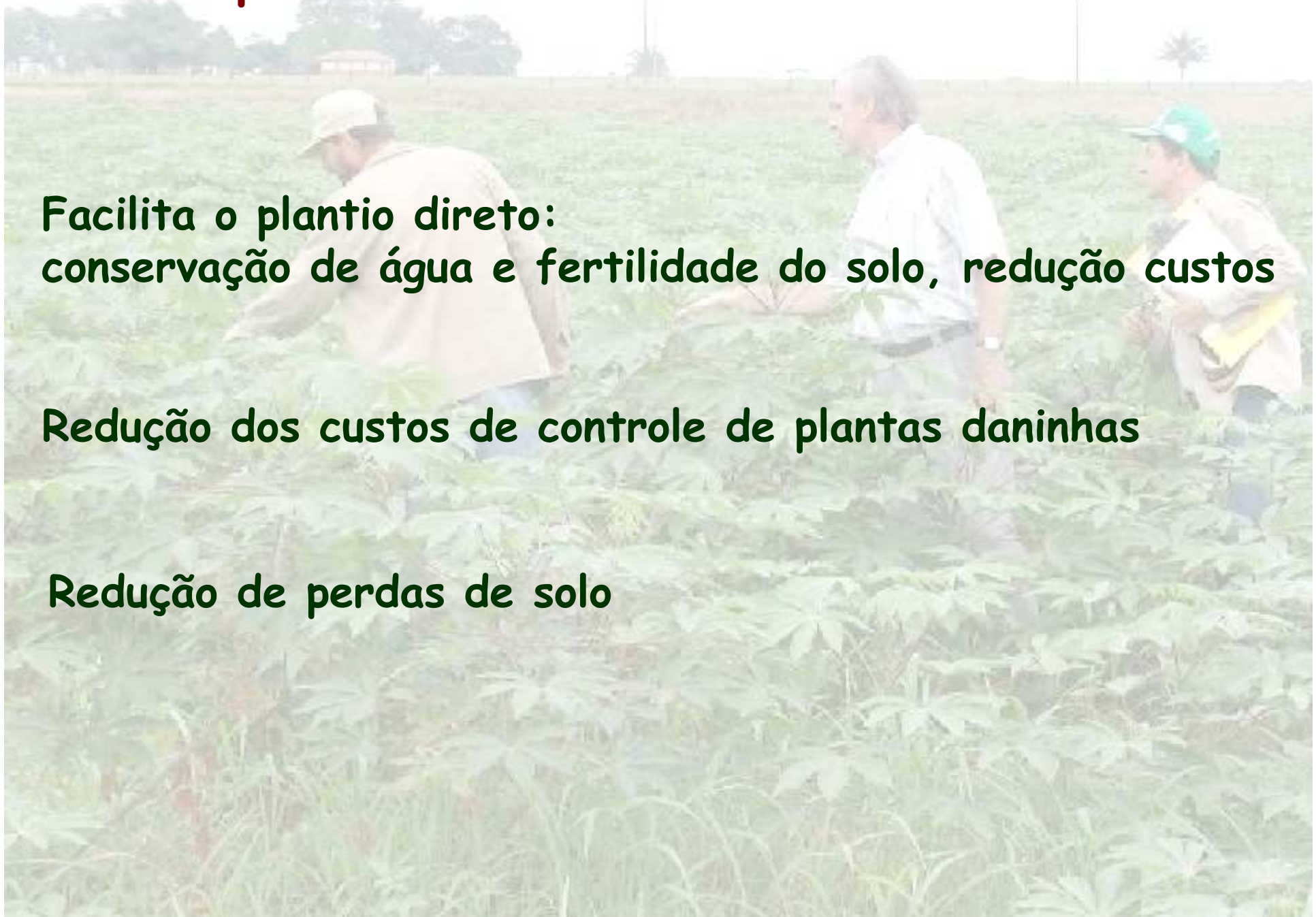


Importância da tolerância a herbicidas

Facilita o plantio direto:
conservação de água e fertilidade do solo, redução custos

Redução dos custos de controle de plantas daninhas

Redução de perdas de solo



Mandioca, biotecnologia, tolerância a herbicidas e otras características de alto valor

*Hernán Ceballos, Paul Chavarriaga,
Luisa Fory e Juan Carlos Pérez*

Introdução



Biotecnologia

Transformação genética

Técnicas

Genes e laboratórios

Regulação

Outras alternativas



Centro Internacional de Agricultura Tropical
International Center for Tropical Agriculture



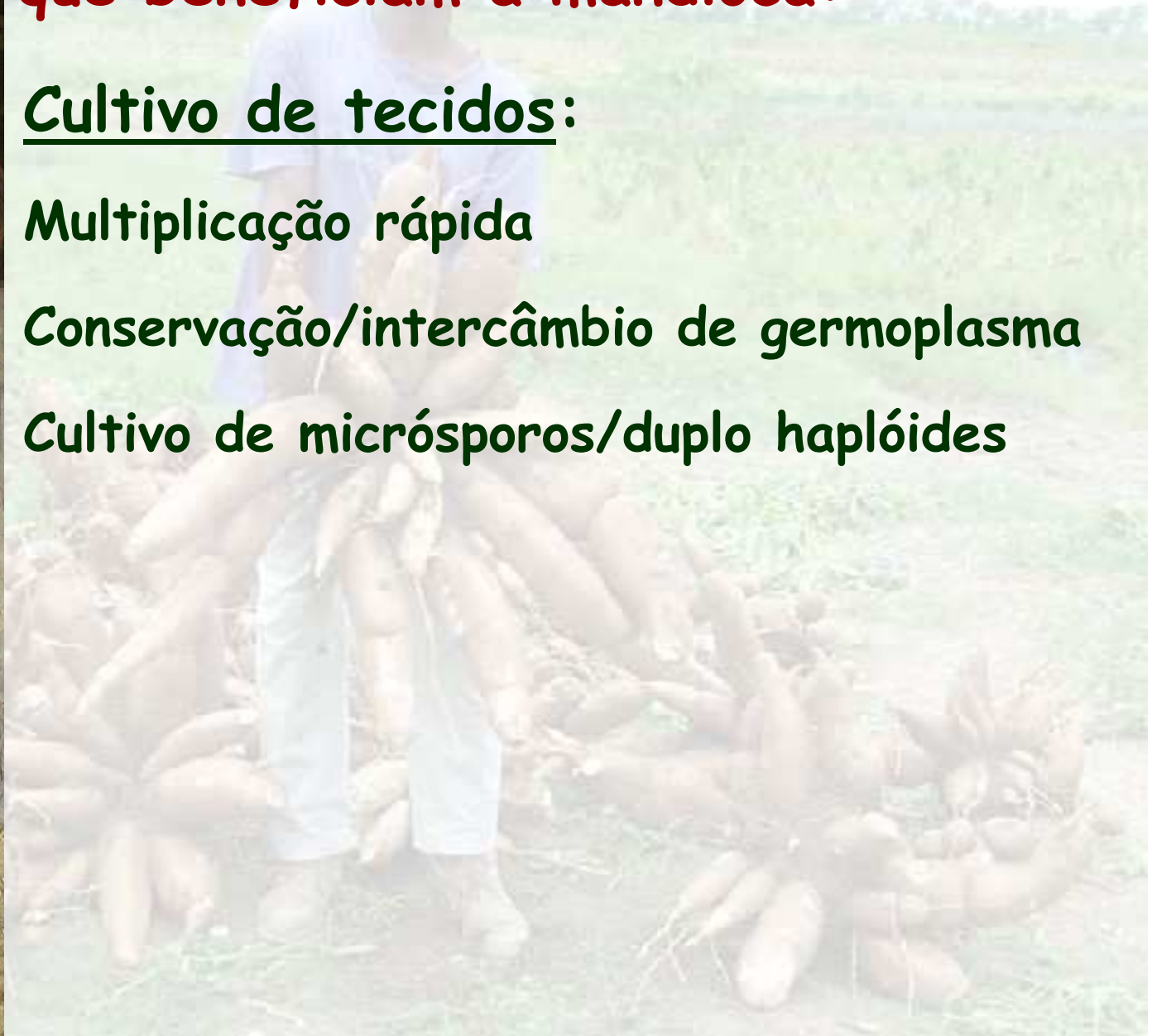
Ferramentas da biotecnologia que beneficiam a mandioca:

Cultivo de tecidos:

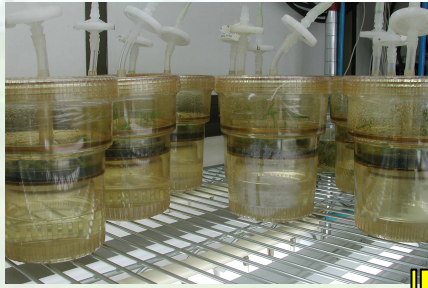
Multiplicação rápida

Conservação/intercâmbio de germoplasma

Cultivo de micrósporos/duplo haplóides



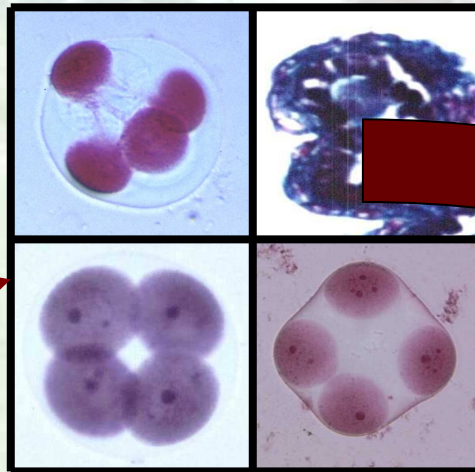
Multiplicação rápida



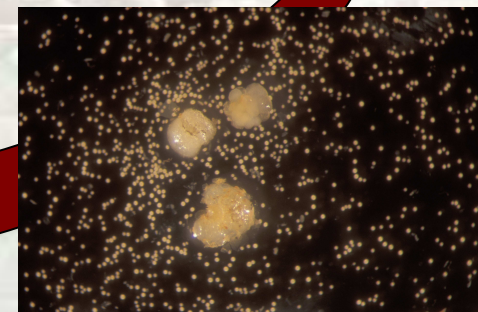
Conservação/intercâmbio de germoplasma



Cultivo de microsporas/duplo haplóides



Calo duplo haplóide





Ferramentas da biotecnologia que beneficiam a mandioca:

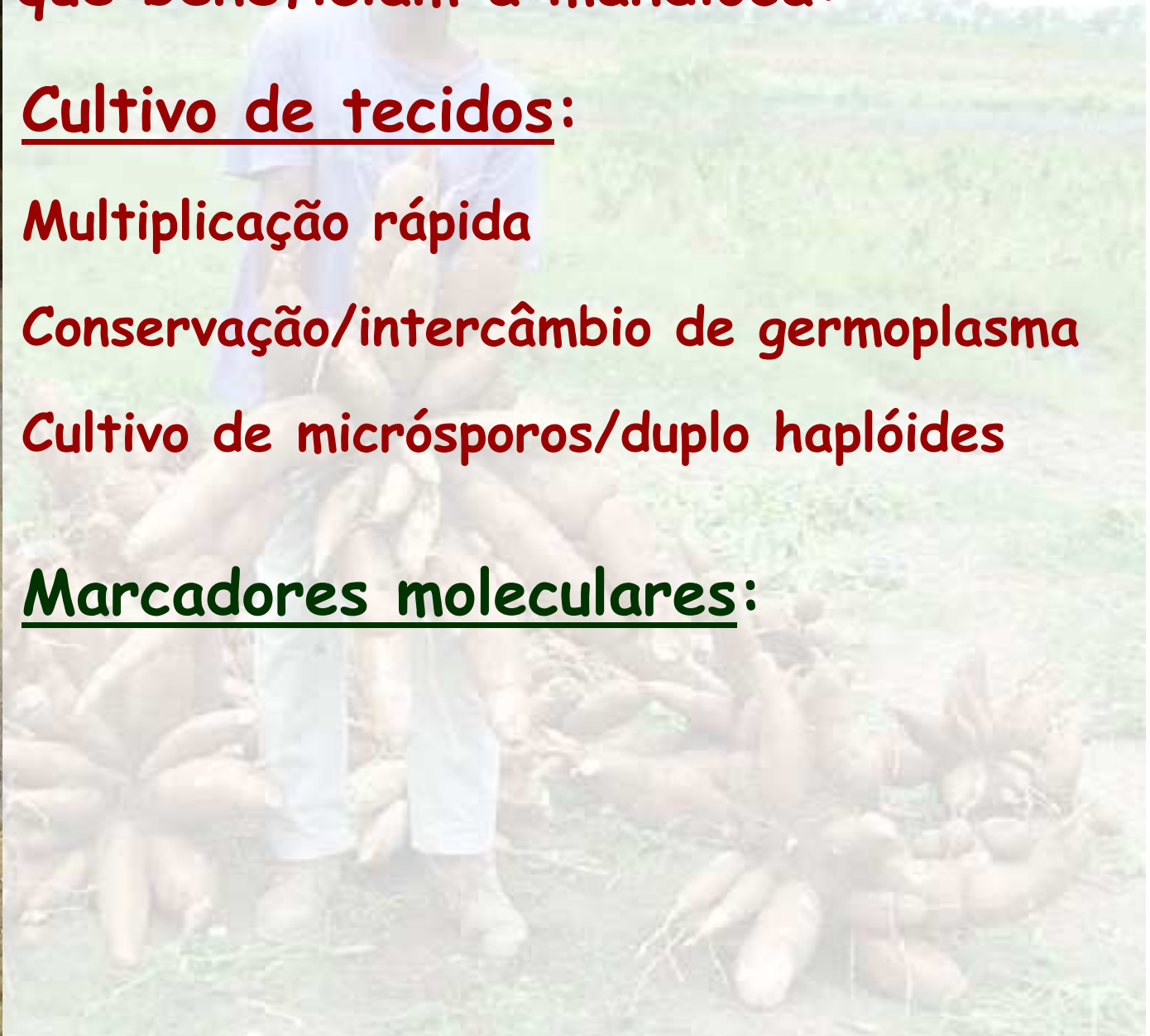
Cultivo de tecidos:

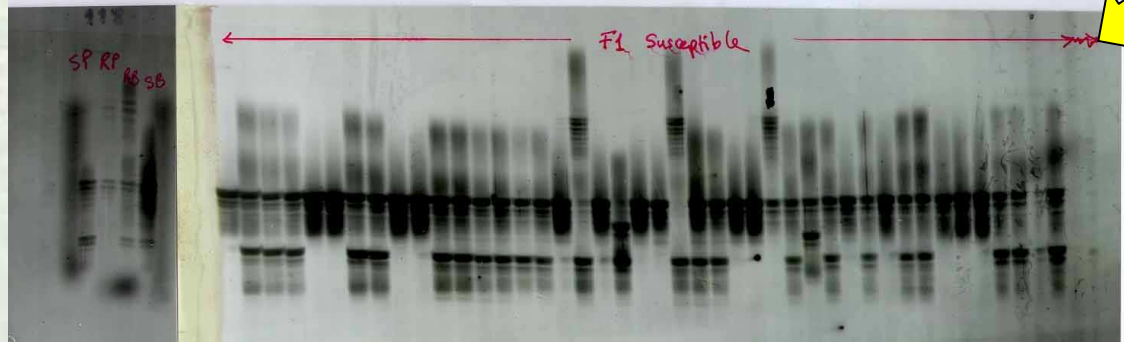
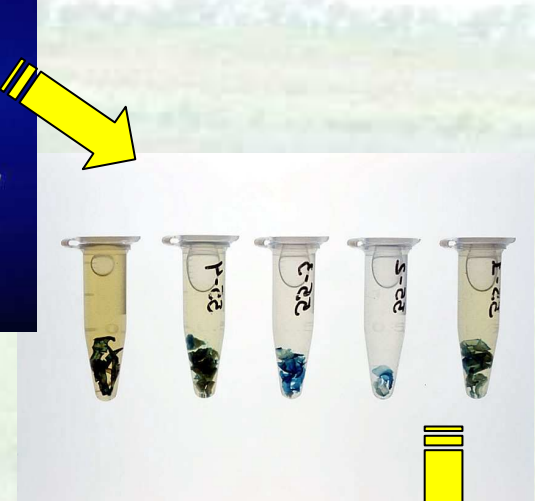
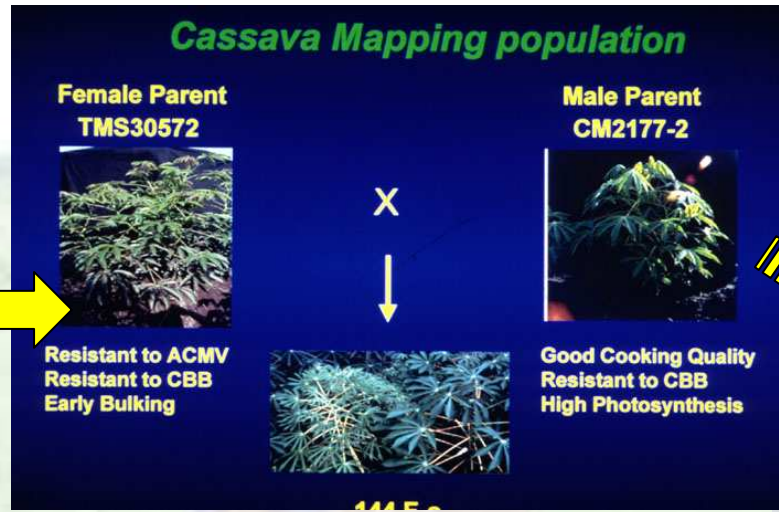
Multiplicação rápida

Conservação/intercâmbio de germoplasma

Cultivo de micrósporos/duplo haplóides

Marcadores moleculares:







Ferramentas da biotecnologia que beneficiam a mandioca:

Cultivo de tecidos:

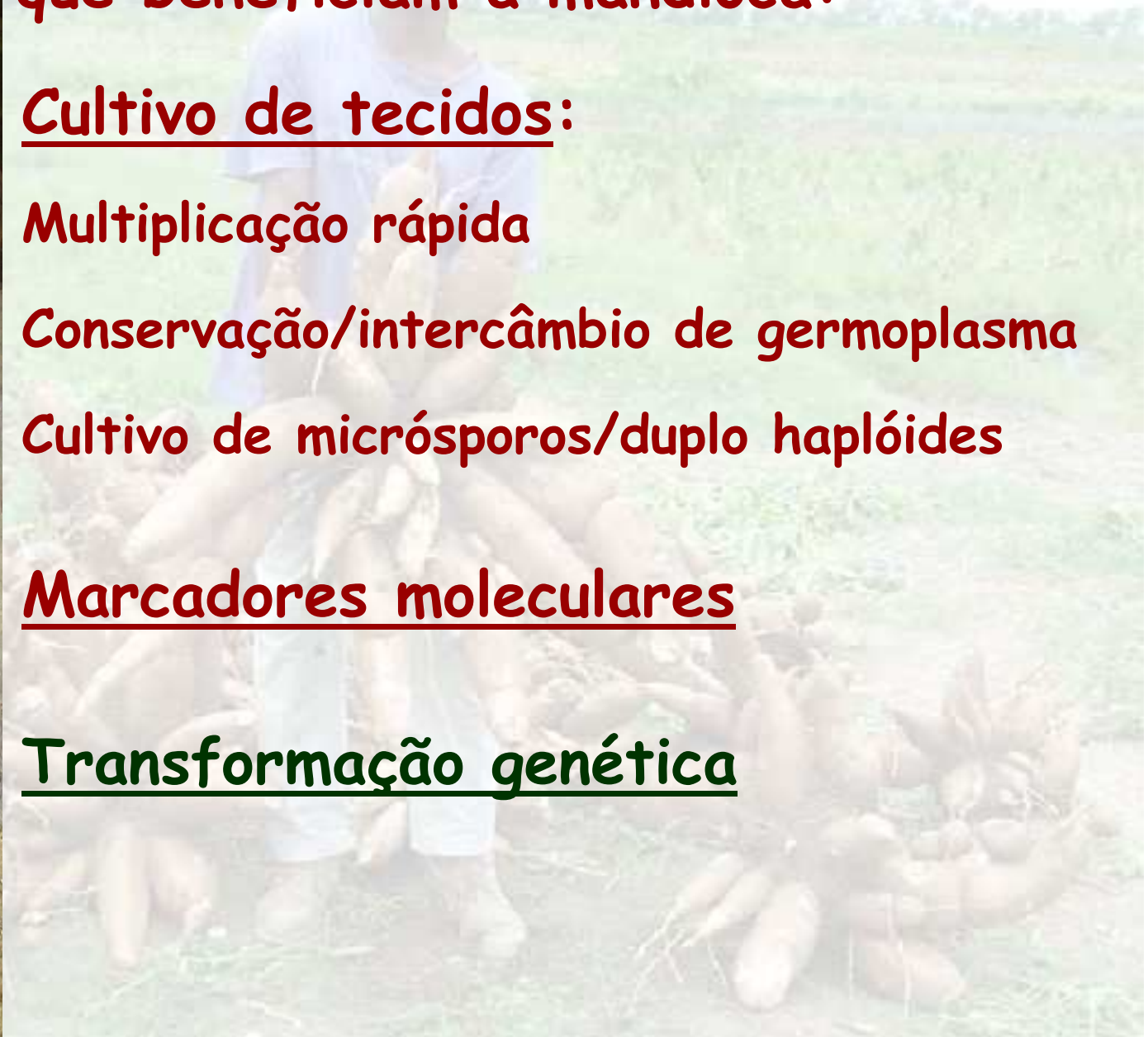
Multiplicação rápida

Conservação/intercâmbio de germoplasma

Cultivo de micrósporos/duplo haplóides

Marcadores moleculares

Transformação genética



Mandioca, biotecnologia, tolerância a herbicidas e otras características de alto valor

*Hernán Ceballos, Paul Chavarriaga,
Luisa Fory e Juan Carlos Pérez*

Introdução

Biotecnologia



Transformação genética

Técnicas

Genes e laboratórios

Regulação

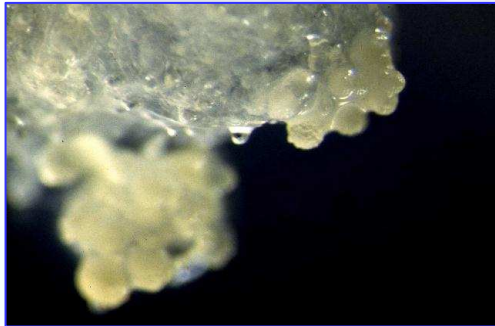
Outras alternativas



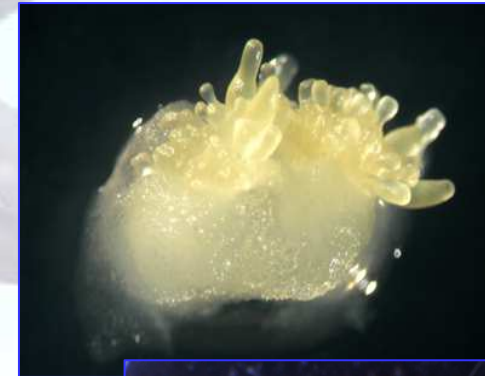
Centro Internacional de Agricultura Tropical
International Center for Tropical Agriculture

Técnicas atuais de transformação genética

1. Calo embriogênico friável



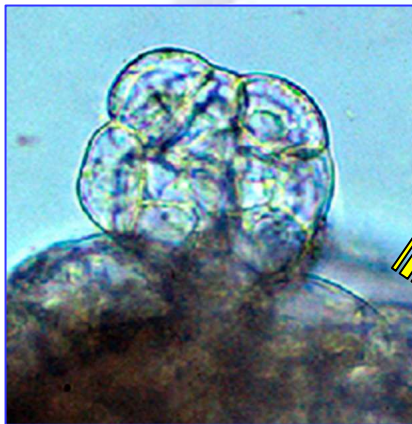
2. Embriões somáticos



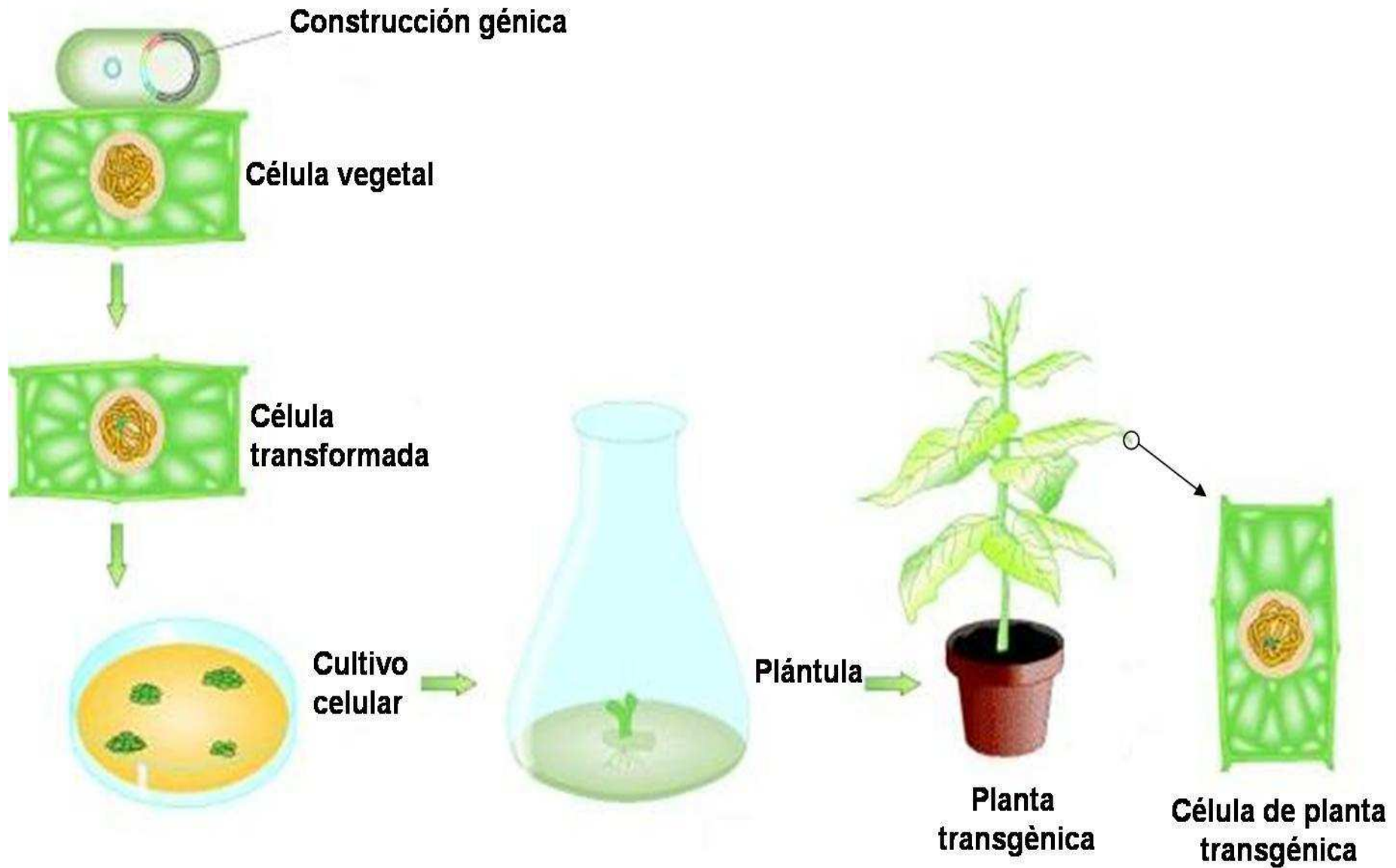
Agrobacterium
ou Biobalística

Embriogênese

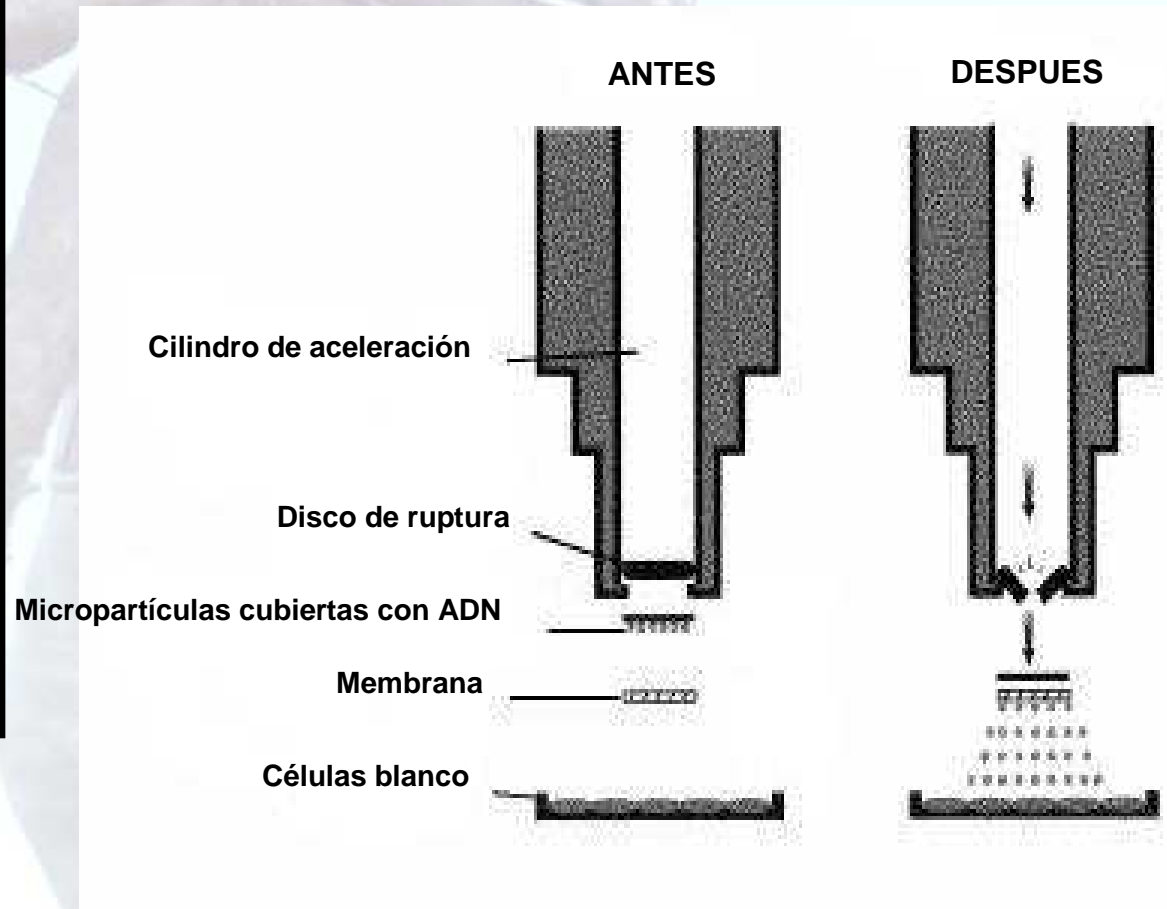
Organogênese



Técnicas atuais de transformação: *Agrobacterium*



Técnicas atuais de transformação: biolística



Técnicas atuais: genes e laboratórios

1983: Primeras plantas transgênicas no mundo (em tabaco e petunia)
(Annual Miami Winter Symposium of Mol. Biol. of Plants and Animals, Miami, enero de 1983)

1992: *S. guianensis* (resistência a herbicida)

1993: **Mandioca** (resistência a herbicida)

1994: Arroz (genes marcadores)

1997: Arroz (resistência a vírus)

1997: *Brachiaria* (genes marcadores)

2000: *P. acutifolios* (genes marcadores)

2000: Tomate (resistência a insetos), Arroz em campo

2001: Arroz (resistência a fungos e bactérias)

Mandioca (genes Bt)

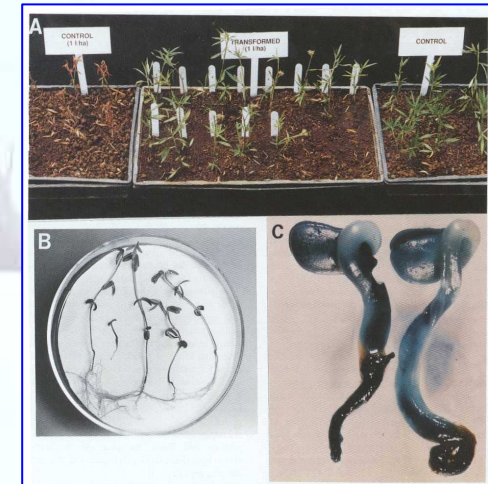
Cana de açúcar (resistência a virus)

2002: Híbridos *P. acutifolius* x *P. vulgaris*

2003: **Mandioca** modificação de amido

2004-2005: **Mandioca** transgênica em campo

2005-2009: **Mandioca** con mais beta caroteno



Por mais de 15 anos tivemos mandioca transgênica tolerante a herbicidas

Porém, apenas com fins de pesquisa
(não para a produção/exploração comercial)

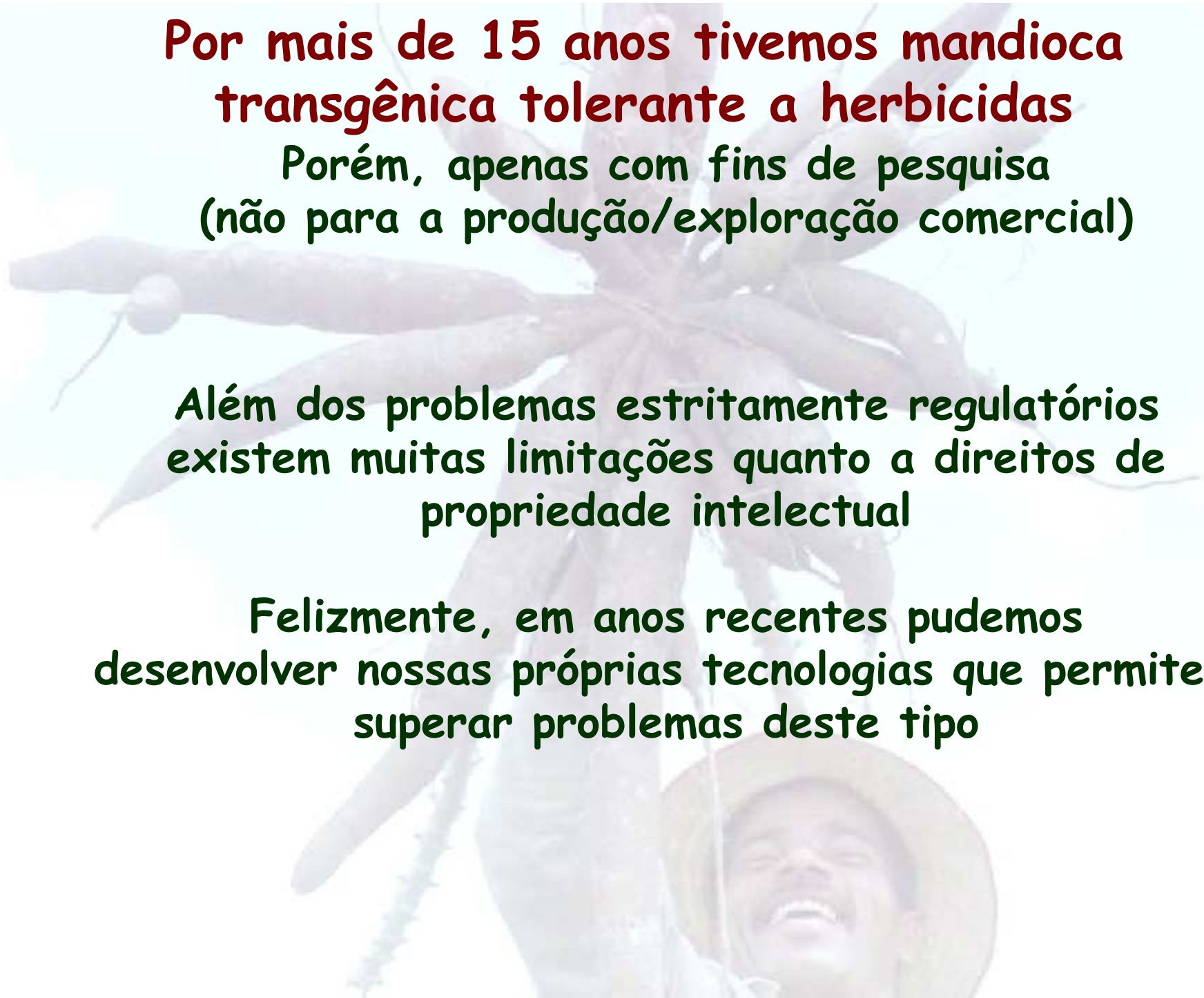


Por mais de 15 anos tivemos mandioca transgênica tolerante a herbicidas

Porém, apenas com fins de pesquisa (não para a produção/exploração comercial)

Além dos problemas estritamente regulatórios existem muitas limitações quanto a direitos de propriedade intelectual

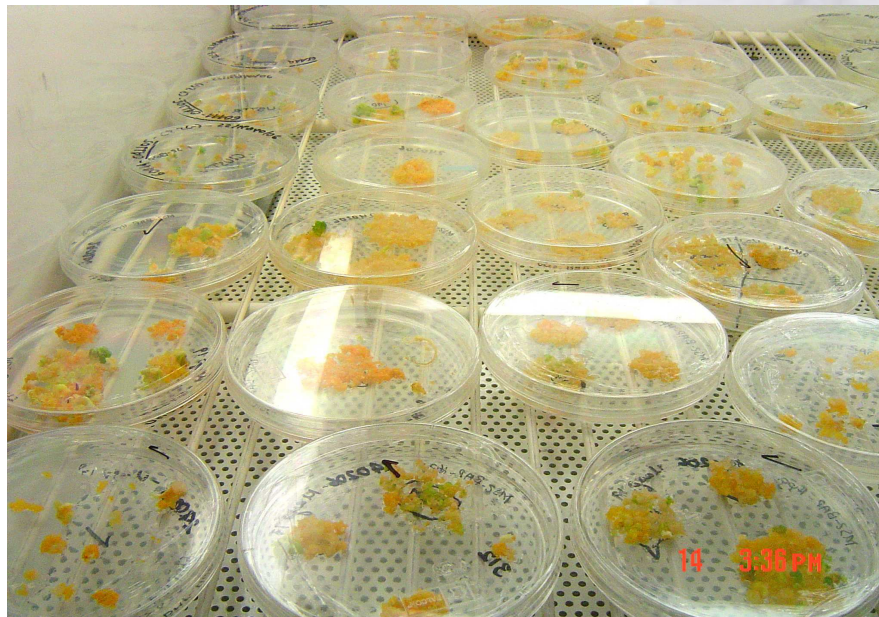
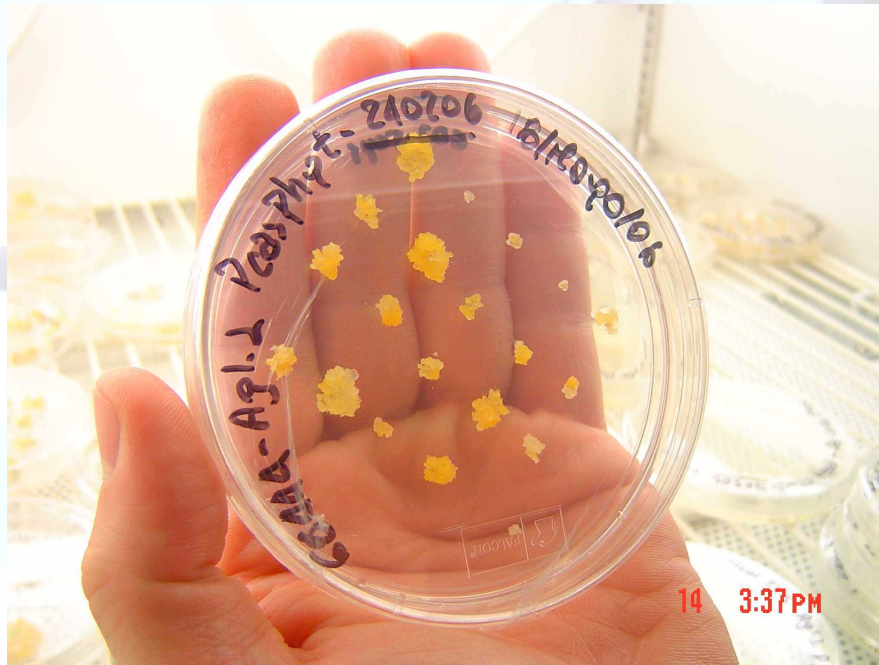
Felizmente, em anos recentes pudemos desenvolver nossas próprias tecnologias que permitem superar problemas deste tipo



Técnicas atuais: genes e laboratórios

Instituição	Característica
Danforth Center (USA)	Micronutrientes, CMD, (CBSD?)
ETH & SIBS (Suíça / China)	Retenção das folhas, Proteína sintética, CMD, amido waxy, PPD
Wageningen University (Holanda)	Amido waxy
Ohio State University (USA)	Cianogénese, Alta produção de amido
KVL University (Dinamarca) & ETH (Suíça)	Cianogénese
CIAT CIAT & Univ. Freiburg (Alemanha) CIAT & ETH-SIBS (Suíça/China) CIAT & Ohio Univ. (USA)	Herbicida, Floração, Amido, Bt Micronutrientes Retenção foliar (avaliação em campo) Cianogénese (avaliação em campo)

Técnicas atuais: genes e laboratórios



Problemas regulatorios

Existem três preocupações principais para a liberação legal de organismos transgênicos:

- 1) Fluxo indesejáveis de genes a espécies silvestres e outras variedades não transgênicas (isto é particularmente importante para América do Sul, centro de origen da mandioca → muitas espécies silvestres)
- 2) Efeitos indesejáveis na saúde humana
- 3) Efeitos indesejáveis para o ambiente

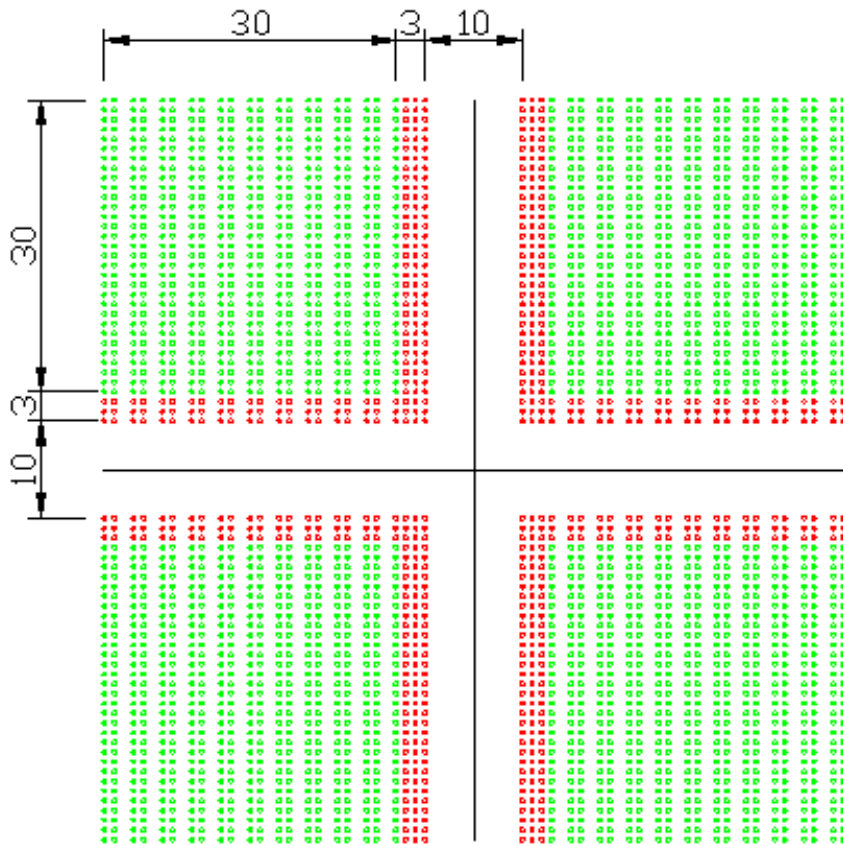
Problemas regulatorios

Para que ocorra fluxo de genes indesejáveis devem-se cumprir as seguintes condições:

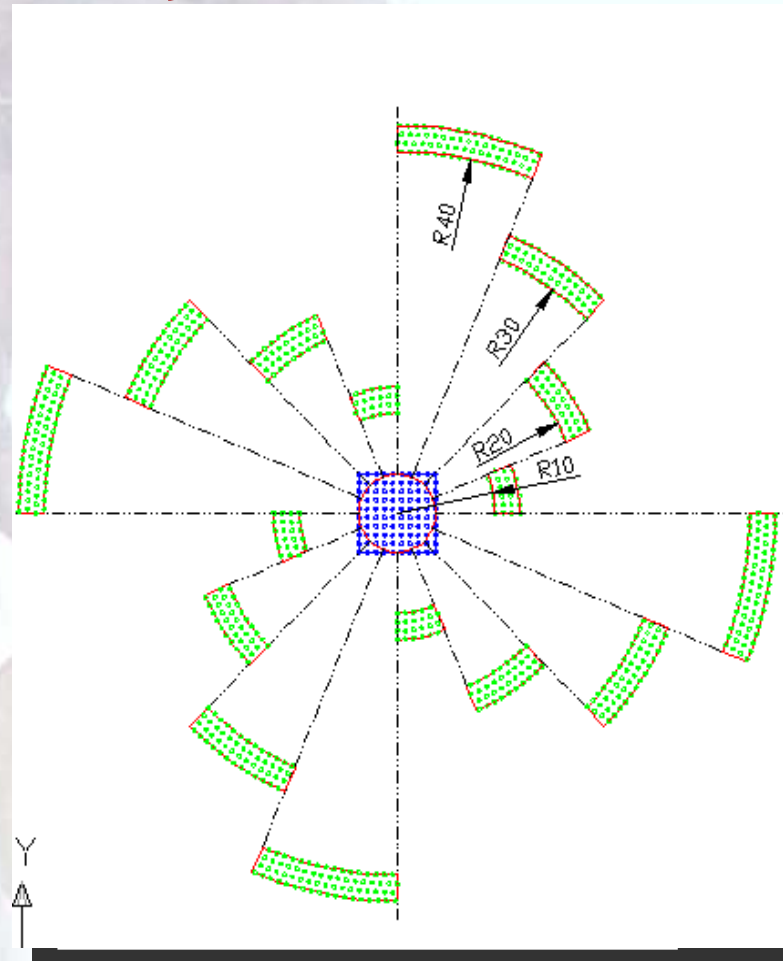
- 1) Polinização cruzada entre a variedade transgênica e a espécie receptora não transgênica (mandioca floresce pouco)
- 2) Produção de sementes viáveis
- 3) Germinação e competência exitosa das plantulas derivadas de semente botânica dos cruzamentos indesejáveis. Estes "tigueras" são muito frágeis
- 4) Incorporação ao material de semeadura da variedade não-transgênica, com tallos das tigueras transgênicos
- 5) Cruzamento sexual entre tigueras e o cultivo não transgênico

Problemas regulatorios

1) Polinização cruzada entre a variedade transgênica e a espécie receptora não transgênica



Polinização cruzada em função da:
Distância
Direção do vento



Andro-esterilidade
Amido waxy
Marcadores moleculares

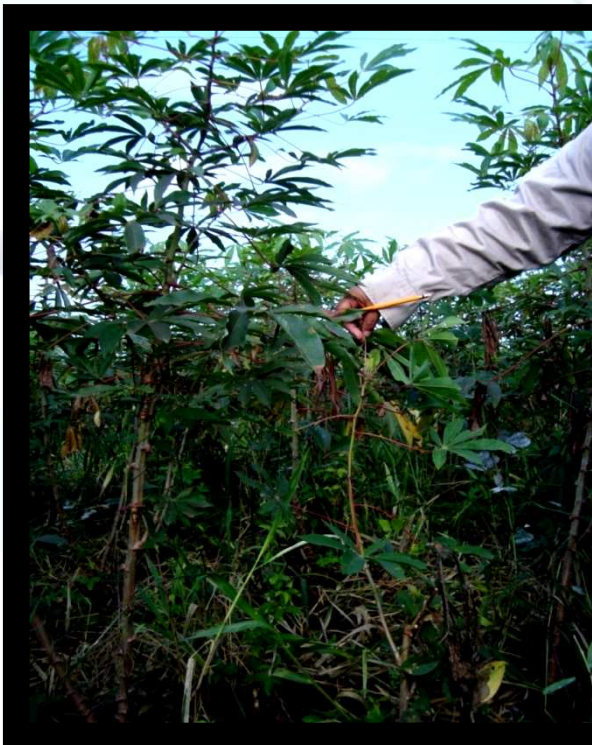
Problemas regulatorios

2) Produção de sementes viáveis

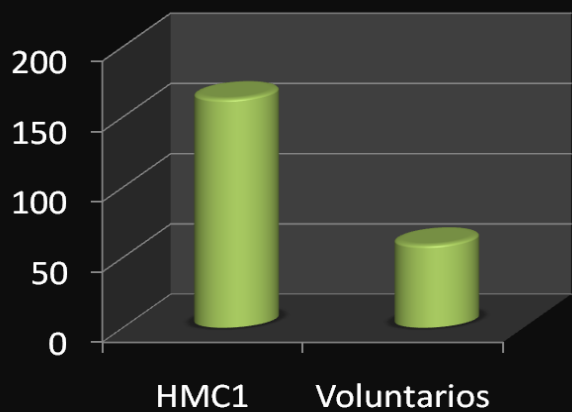
3) Germinação e competição exitosa das plantulas tigueras derivadas da semente botânica dos cruzamientos indesejáveis



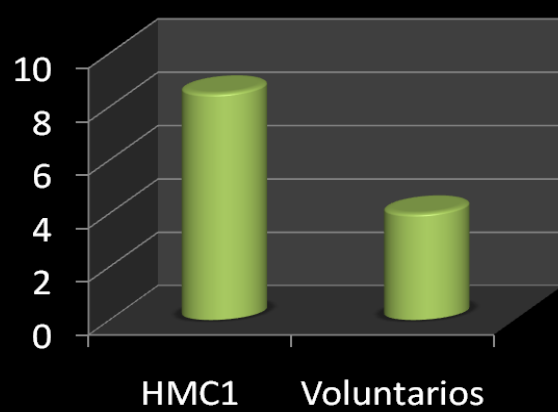
Problemas regulatorios



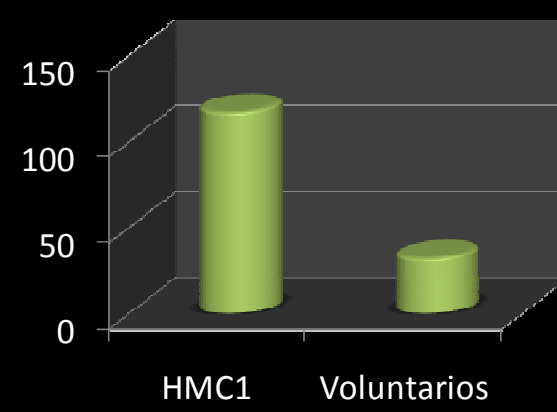
Altura (cm)



Diámetro Tallo



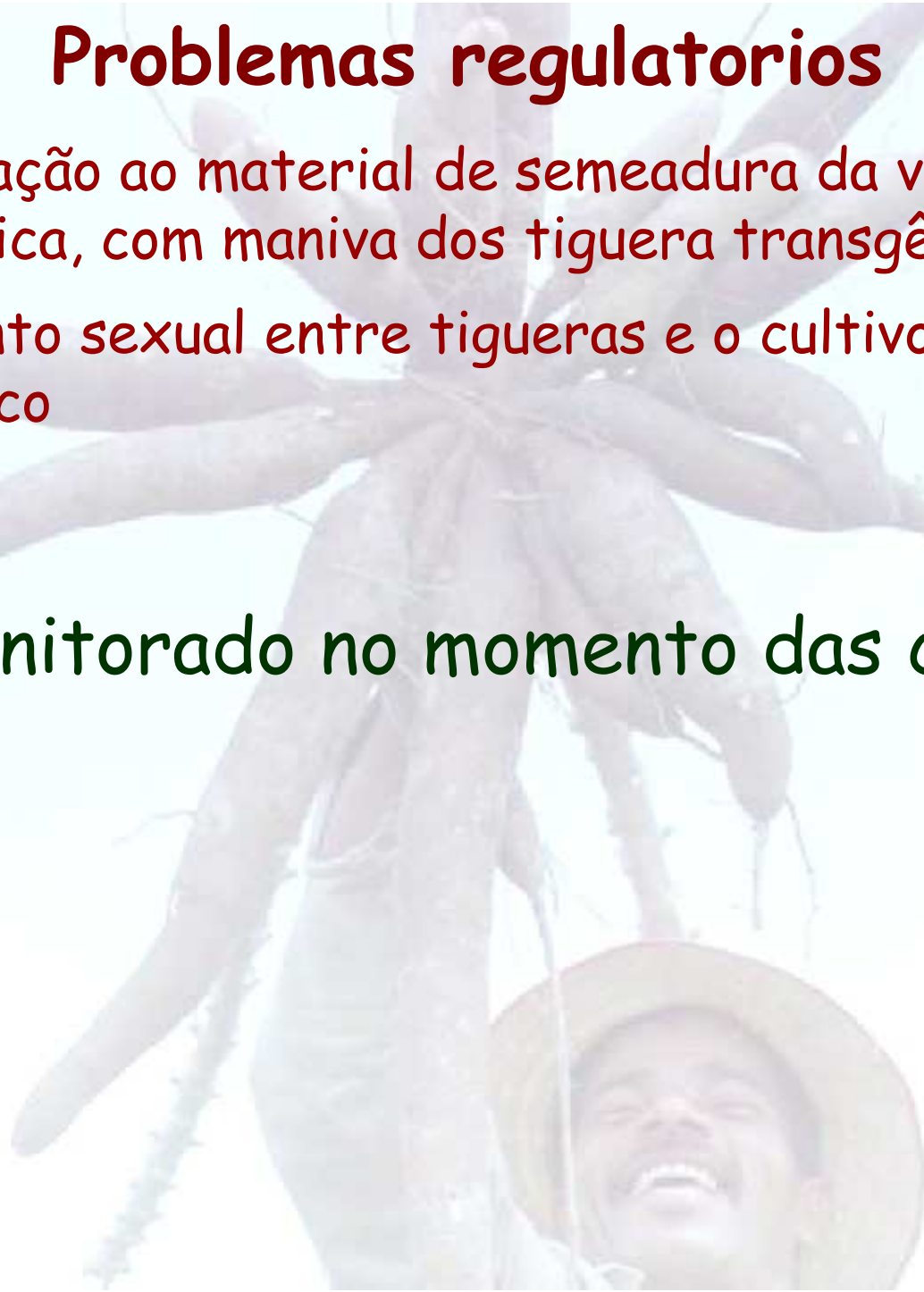
Diámetro Dosel



Problemas regulatorios

- 4) Incorporação ao material de semeadura da variedade não transgênica, com maniva dos tiguera transgênicos
- 5) Cruzamento sexual entre tiguera e o cultivo não transgênico

A ser monitorado no momento das colheitas



Problemas regulatorios

Existem três preocupações principais para a liberação legal de organismos transgênicos:

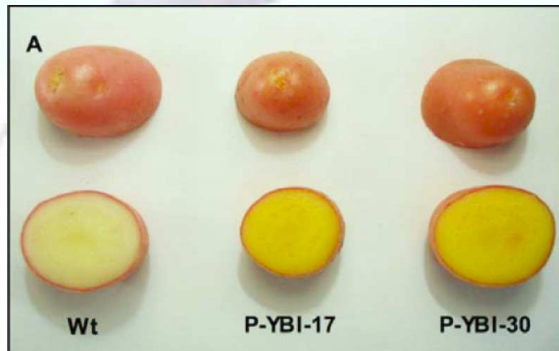
- 1) Fluxo indesejáveis de genes a espécies silvestres e outras variedades não transgênicas (isto é particularmente importante para América do Sul, centro de origen da mandioca → muitas espécies silvestres)
- 2) Efeitos indesejáveis na saúde humana
- 3) Efeitos indesejáveis para o ambiente

Evitando efectos indeseables en la salud

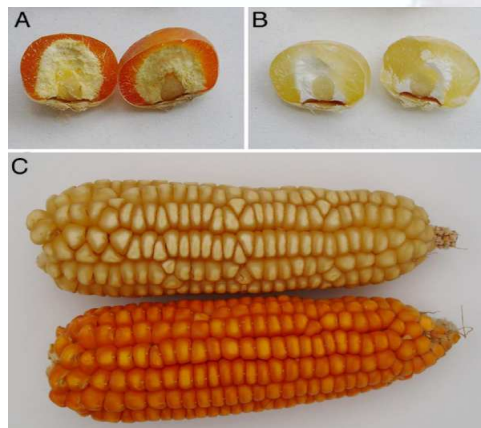
Expresão do transgene em tecidos específicos



“Golden Rice 2”:
Promotor da Glutelina em arroz



“Golden Potato”:
Promotor da Patatina em batata



Milho multivitamínico :
- Promotor da LMW Glutelina (trigo)
- Promotor da d-Hordeína (cevada)

Problemas regulatorios

Existem três preocupações principais para a liberação legal de organismos transgênicos:

- 1) Fluxo indesejáveis de genes a espécies silvestres e outras variedades não transgênicas (isto é particularmente importante para América do Sul, centro de origen da mandioca → muitas espécies silvestres)
- 2) Efeitos indesejáveis na saúde humana
- 3) Efeitos indesejáveis para o ambiente

Só pode ser estimado quando se vai liberar um transgênico
Tolerância a herbicidas oferece benefícios para o ambiente

Mandioca, biotecnologia, tolerância a herbicidas e otras características de alto valor

*Hernán Ceballos, Paul Chavarriaga,
Luisa Fory e Juan Carlos Pérez*

Introdução

Biotecnologia

Transformação genética

Técnicas

Genes e laboratórios

Regulação



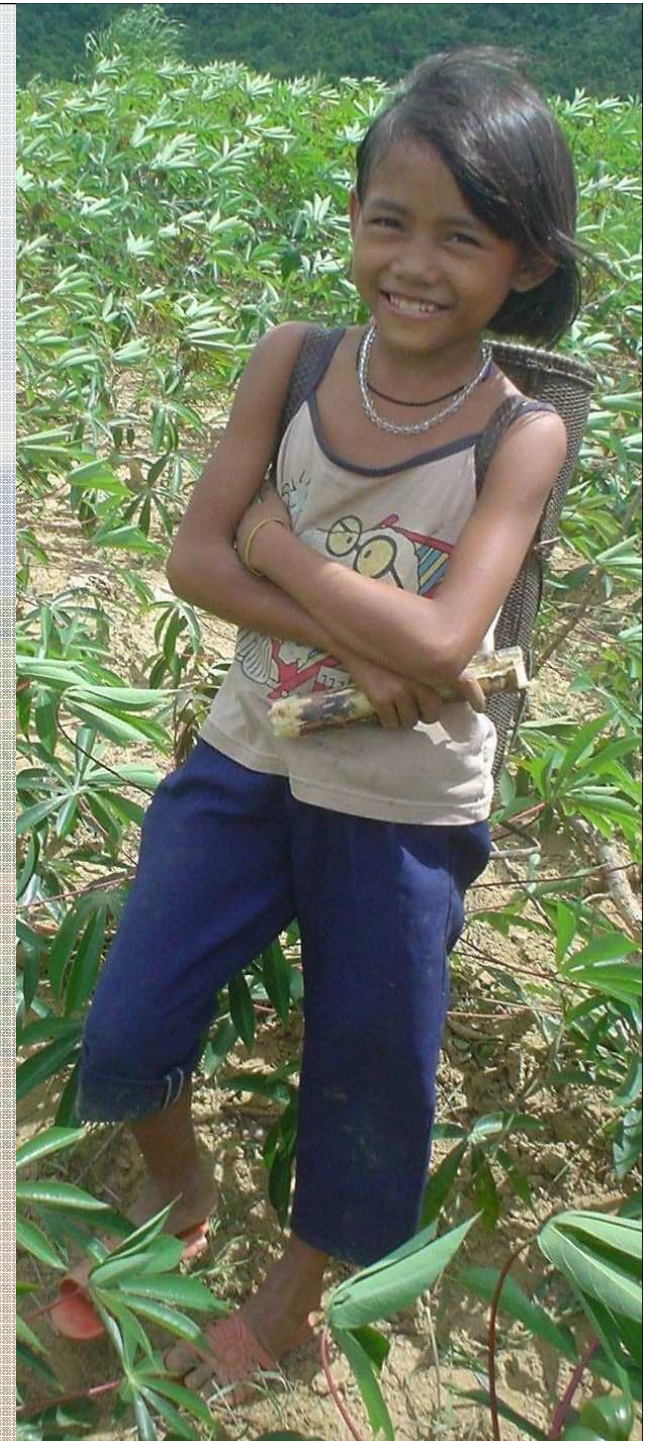
Outras alternativas



Centro Internacional de Agricultura Tropical
International Center for Tropical Agriculture

Outras alternativas

Avaliar germoplasma de
mandioca em busca da
tolerância “natural” a
herbicidas



É MUITO POCO o que se tem feito para conhecer a variabilidade genética da mandioca

Só recentemente se tem reportado características importantes como:

- ☺ Raízes açucaradas
- ☺ Amido waxy
- ☺ Amido com alta amilose
- ☺ Variação em conteúdo de proteína
- ☺ Tolerância ao PPD
- ☺ Mudança em arquitetura da planta
- ☹ **Tolerância a herbicidas???**





**Um maravilhoso “*acidente*”: raízes de GM 905-66
DOIS MESES após a colheita**

Testemunha
susceptíveis

5 Dias

10 Dias

20 Dias

40 Dias



2G 15-1



GM 905-66



AM 206-5
(ceroso)



Mudança na arquitetura da planta



Podia esta mudança na arquitetura da planta levarnos a uma *“revolução verde”* em mandioca?

Permitiria esta arquitetura densidades de até 30,000 ou 40,000 pl/ha ?

Quanto facilitaria a produção e qualidade de folhas de mandioca?

Buscando tolerância a herbicidas na mandioca



Parte do banco de germoplasma tratado com round-up (ano 2000)

Indução de mutações

Transformação genética (patentes expiram em pouco tempo)



Buscando tolerância a herbicidas na mandioca

Avaliação do banco de germoplasma

Tem mais de 6,000 acessos

Oferece muitos “tesouros” escondidos (vários exemplos mencionados nesta apresentação)

Muitas características são recesivas ou parcialmente dominantes → é melhor avaliar plantas autofecundadas

Em 4 semanas aproximadamente se trataram SEIS blocos com uns 1,000 genótipos S_1 , em cada bloco.

Cada genótipo representado por duas plantas em cada bloco

Cada bloco será tratado com um herbicida diferente

Buscando tolerância a herbicidas em mandioca

Avaliação do banco do germoplasma

- 1) Glifosato (Round-Up)**
- 2) Glufosinato (Basta)**
- 3) Imidazolinás**
- 4) Sulfonil-urea**
- 5) Ciclohexanediona**
- 6) Triazina / atrazina**

Buscando tolerância a herbicidas em mandioca

Indução de mutações

Muitos exemplos na literatura sobre a indução de mutações para tolerância a herbicidas

Métodos de marcadores moleculares (TILLING ou Eco-TILLING) facilitariam o trabalho

**O futuro é muito promissor, mas
devemos fazer esforços bem dirigidos
e fomentar a colaboração**



Agradecimientos:

Rockefeller Foundation

NIPPON Foundation

Gates Foundation

Thai Tapioca Dev. Institute

National Starch

IAEA

COLCIENCIAS

Colombia's Min. Agric.

CIRAD



Asenti sana ! Shie Shie

Thank you !

Danke !

Obrigado ! どうもありがとう

Gracias !

Merci !

Sawasdi

ขอบคุณครับ