

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA

POLLYANNA TERESA CIRILO GOMES

Avaliação de características nutricionais da mandioca e de seus híbridos  
interespecíficos

BRASÍLIA  
Distrito Federal - Brasil  
Julho - 2010

POLLYANNA TERESA CIRILO GOMES

AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS DA MANDIOCA E DE SEUS  
HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS

Dissertação apresentada à Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana. Área de Concentração: Bioquímica Nutricional.

Orientador: Profº. Dr. Nagib M. A. Nassar.

Brasília, 12 de Julho de 2010.

A Deus.

Aos meus pais,

Deval e Eralda.

**DEDICO**

## Agradecimentos

Ao misericordioso Deus, por todas as bênçãos derramadas em minha vida.

Aos meus pais, aos quais tenho profunda e imensa admiração! Ao meu amado pai, meu maior exemplo de retidão, persistência e disciplina. A minha amada mãe, grande mulher, meu modelo de força e criatividade. Aos dois, por todo o cuidado, carinho e amor. Por terem segurado minha mão quando temi e por a terem soltado para que eu pudesse prosseguir.

Aos meus amados irmãos, Andrei e Iuri. Pelas brincadeiras, pelas palavras de apoio, tão fundamentais, e por tudo o que sempre me ensinam.

Ao amado Wandem. Pela compreensão, carinho, dedicação e paciência, pelo estímulo constante e todas as contribuições, essenciais para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador e amigo, professor Nagib Nassar. Por me confiar este trabalho. Pela atenção e conselhos. Por todos os valiosos ensinamentos, dentre eles o de “sempre ficar do lado mais seguro”.

Aos professores Ilka Vasconcelos, Dalva Ribeiro, Egle Siqueira, Luís Antônio Borgo, Marcelo Sousa, Marney Cereda e Mundayatan Haridasan. Pelo apoio e orientação prestados.

Ao Daniel Teixeira e Vitor Brito pelo treinamento para quantificação de proteína e potencial cianogênico.

Aos técnicos de laboratório Nuno Domingues e Mara Chaves.

Aos colegas do Laboratório de Análises de Alimentos.

Às amigas Ayla, Janete, Marília e Viviane. Por entenderem minha ausência e se fazerem sempre presentes na minha vida.

Um obrigada especial à amiga Letícia, por toda a ajuda prestada nas análises de “sorrisos e lágrimas”.

Às amigas de mestrado tão queridas, Graziela e Nathalie.

À Adalgiza, Danielle, Nayra e todos os outros membros da equipe de Melhoramento Genético da Mandioca. Pelas produtivas conversas e momentos de descontração.

E a todos que não foram mencionados, mas que contribuíram para a conclusão de mais esta etapa... MUITO OBRIGADA!

## Resumo

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma das mais importantes culturas de reserva contra a fome nos trópicos e subtropicais, sendo alimento para mais de 800 milhões de pessoas em todo o mundo. As raízes de mandioca são extremamente ricas em amido, mas são pobres em outros nutrientes, tais como proteínas, aminoácidos e micronutrientes. Tem sido relatado que o conteúdo destes nutrientes variam entre as espécies silvestres do gênero *Manihot*. Foram estudados 19 híbridos de *M. esculenta* com a espécie silvestre *M. oligantha*, quanto ao seu teor de proteína bruta, perfil de aminoácidos, níveis dos micronutrientes cálcio, ferro, magnésio e zinco, além de seu conteúdo de cianeto total. Alguns híbridos mostraram alto teor de proteína, chegando a 5,7% com relação à massa seca, enquanto que o cultivar da mandioca comum estudado contou com apenas 2,3%. Notamos a presença de quantidades consideráveis dos aminoácidos essenciais alanina, fenilalanina e valina em alguns deles, quando comparados ao cultivar comum de mandioca. Os aminoácidos sulfurados cisteína e metionina foram detectados em altas proporções nas raízes de 4 plantas estudadas. A cisteína e a metionina são fundamentais no processo de detoxificação endógena do composto tóxico cianeto, o qual pode ser liberado de alimentos derivados de mandioca. A proporção de lisina mostrada pelos tubérculos de um dos híbridos foi 20 vezes superior àquela do cultivar comum. A lisina é um dos aminoácidos limitantes do valor biológico da proteína da mandioca. A maior parte dos híbridos mostrou teor de cianeto total moderado. Certos híbridos exibiram ganhos expressivos nos teores de micronutrientes, com relação ao cultivar comum. Estes resultados podem representar um importante avanço no melhoramento da qualidade nutricional da mandioca.

Palavras-chave: Mandioca; híbridos interespecíficos; proteína; aminoácidos; micronutrientes.

## Abstract

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the most important staple crops of the tropics and subtropics, feeding more than 800 million of people around the world. The roots of the common cultivars are extremely rich in starch, but are poor in other nutrients, such as protein, amino acids and micronutrients. It is reported that the contents of these nutrients are variable across *Manihot* wild species. It were studied 19 hybrids of *M. esculenta* and its wild relative *M. oligantha* about their root contents of crude protein, amino acid profile, levels of the micronutrients calcium, iron, zinc and magnesium besides its cyanogenic content. Some hybrids shown high contents of protein, reaching to 5,7% of dry mass, while the common cultivar studied had just 2,3% of crude protein. We have noted the presence of considerable amounts of the essential amino acids alanine, fenilalanine and valine in some of them, comparatively to the common cultivar of cassava. The sulphur-containing amino acids cysteine and methionine were detected in high proportions in the roots of 4 plants studied. Cystein and methionine are fundamental for endogenous detoxification of the toxic compound cyanide, which can be released from foods derivated of cassava. The proportion of lysine showed for the tubercles of one of the hybrids was twentyfold higher them the common cultivar. Lysine is one of the limiting amino acids of the biological value of the cassava protein. The most of the interspecific hybrids showed moderated cyanogenic content. Certain hybrids exhibited expressive gains of micronutrients contents relatively to the common cassava. These founds may represent an important advance in the nutritional improvement of cassava.

Keywords: Cassava; interspecific hybrids; protein; amino acids; micronutrients.

**Lista de figuras**

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Cultivar de <i>M. esculenta</i> .....                                                                                       | 15 |
| Figura 2 – Raízes de reserva e fibrosas de <i>M. esculenta</i> . ....                                                                  | 16 |
| Figura 3 – Espécie silvestre de mandioca, <i>M. oligantha</i> . ....                                                                   | 17 |
| Figura 4 – Estrutura química da linamarina.....                                                                                        | 23 |
| Figura 5 – Estrutura química da lotaustralina.....                                                                                     | 23 |
| Figura 6 – Biossíntese dos glicosídeos cianogênicos linamarina e lotaustralina na mandioca, a partir de L-valina e L-isoileucina. .... | 24 |
| Figura 7 – Translocação de linamarina produzida nas folhas para a raiz de mandioca.....                                                | 25 |
| Figura 8 – Processo cianogênico a partir da linamarina.....                                                                            | 26 |
| Figura 9 – Número de pessoas que sofrem das principais carências de micronutrientes no mundo.....                                      | 34 |
| Figura 10 – Prevalência da anemia em diferentes grupos da população, por nível de desenvolvimento. ....                                | 36 |

**Lista de tabelas**

|                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Plantas estudadas e suas denominações correspondentes.....                                                                                      | 43 |
| Tabela 2 – Conteúdos de proteína nos tubérculos das plantas estudadas.....                                                                                 | 49 |
| Tabela 3 – Perfil de aminoácidos das raízes do exemplar de mandioca comum (cultivar 530), do híbrido interespecífico ICB 300 e de 4 de suas progenias..... | 50 |
| Tabela 4 – Perfil de aminoácidos das raízes de 7 progenias de ICB 300.....                                                                                 | 51 |
| Tabela 5 – Perfil de aminoácidos das raízes das plantas tetraplóides estudadas.....                                                                        | 52 |
| Tabela 6 – Teor de cianeto total das plantas estudadas.....                                                                                                | 53 |
| Tabela 7 – Porcentagens de cálcio dos tubérculos das plantas analisadas.....                                                                               | 54 |
| Tabela 8 – Teores de ferro das raízes das plantas estudadas.....                                                                                           | 55 |
| Tabela 9 – Porcentagens de magnésio nas raízes das plantas estudadas.....                                                                                  | 56 |
| Tabela 10 – Teores de zinco determinados para as raízes das plantas estudadas..                                                                            | 56 |

## Sumário

|                                                                                |      |
|--------------------------------------------------------------------------------|------|
| Resumo.....                                                                    | v    |
| Abstract.....                                                                  | vi   |
| Lista de figuras.....                                                          | vii  |
| Lista de tabelas.....                                                          | viii |
| 1. Introdução.....                                                             | 11   |
| 2. Revisão de Literatura.....                                                  | 14   |
| 2.1. Mandioca.....                                                             | 14   |
| 2.1.1. Origem e domesticação.....                                              | 14   |
| 2.1.2. Suas raízes e usos como alimento.....                                   | 17   |
| 2.1.3. Características nutricionais.....                                       | 19   |
| 2.1.4. Proteína e aminoácidos.....                                             | 20   |
| 2.1.5. Micronutrientes.....                                                    | 21   |
| 2.1.6. Glicosídeos Cianogênicos.....                                           | 22   |
| 2.1.6.1. Toxicidade.....                                                       | 26   |
| 3. Desnutrição protéico-calórica relacionada ao consumo da mandioca.....       | 29   |
| 4. Deficiências de Micronutrientes.....                                        | 31   |
| 4.1. Implicações das deficiências de micronutrientes na saúde humana.....      | 33   |
| 4.1.1. Deficiência de cálcio.....                                              | 34   |
| 4.1.2. Deficiência de ferro.....                                               | 35   |
| 4.1.3. Deficiência de magnésio.....                                            | 37   |
| 4.1.4. Deficiência de zinco.....                                               | 38   |
| 5. Biofortificação de culturas.....                                            | 39   |
| 6. Objetivo.....                                                               | 41   |
| 6.1. Objetivo Geral.....                                                       | 41   |
| 6.2. Objetivo Específico.....                                                  | 41   |
| 7. Materiais e Métodos.....                                                    | 42   |
| 7.1. Caracterização do cultivar e dos híbridos interespecíficos estudados..... | 42   |
| 7.2. Coleta das amostras.....                                                  | 43   |
| 7.3. Quantificação de proteína.....                                            | 44   |
| 7.4. Perfil de aminoácidos.....                                                | 45   |
| 7.5. Cianeto Total.....                                                        | 46   |
| 7.6. Micronutrientes.....                                                      | 47   |

|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| 7.7. Análise Estatística.....                  | 48 |
| 8. Resultados.....                             | 49 |
| 8.1. Proteína.....                             | 49 |
| 8.2. Perfil de aminoácidos.....                | 50 |
| 8.3. Cianeto Total.....                        | 52 |
| 8.4. Micronutrientes.....                      | 53 |
| 8.4.1. Cálcio.....                             | 53 |
| 8.4.2. Ferro.....                              | 54 |
| 8.4.3. Magnésio.....                           | 55 |
| 8.4.4. Zinco.....                              | 56 |
| 9. Discussão.....                              | 58 |
| 9.1. Conteúdo de proteína.....                 | 58 |
| 9.2. Perfil de aminoácidos.....                | 60 |
| 9.3. Cianeto Total.....                        | 61 |
| 9.4. Micronutrientes.....                      | 62 |
| 9.4.1. Cálcio.....                             | 62 |
| 9.4.2. Ferro.....                              | 63 |
| 9.4.3. Magnésio.....                           | 63 |
| 9.4.4. Zinco.....                              | 64 |
| 9.5. Híbridos interespecíficos destacados..... | 64 |
| 10. Considerações finais.....                  | 66 |
| 11. Referências Bibliográficas.....            | 67 |

## 1. Introdução

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, é uma das culturas mais importantes nos trópicos úmidos e subtropicais. É chamada de “cassava” em países de língua inglesa, “manioc” em francês e “yuca” na língua espanhola.

Estima-se que em 2007 mais de 800 milhões de pessoas consumiram mandioca de alguma forma (FAO, 2007). No Brasil, a mandioca ocupa lugar de destaque na alimentação, com um consumo *per capita* estimado de 70 kg/ano, equivalente raiz, e produção anual de cerca de 26 milhões de toneladas (IBGE, 2009).

A mandioca adquiriu grande importância a partir da fome que devastou a África na década de 60 do século vinte. Isto despertou o presidente dos EUA para formar uma equipe de especialistas, que procurou a melhor maneira para resolver o problema. Estes especialistas indicaram que a mandioca deveria ser a primeira cultura a ser plantada em áreas não aproveitadas, pobres e marginais devido às características de alta produtividade e resistência contra severas condições de solo e clima (HENDERSHOTT et al., 1973). A partir daquele momento, os EUA, Canadá e vários países europeus, através de suas agências de desenvolvimento internacional, adotaram planos para promover o cultivo e o desenvolvimento da mandioca.

A raiz da mandioca apresenta alto conteúdo de amido, cerca de 80% de sua massa seca, e por isso é vastamente usada na alimentação humana, sendo cozida, frita ou processada de outras numerosas formas (LANCASTER, INGRAM, COURSEY, 1982), tais como sua transformação em tapioca e farinha (OBOH & ELUSIYAN, 2007). Ela também é empregada na alimentação animal e na obtenção de amido e outros carboidratos, como a glicose, a maltodextrina e o manitol (BALAGOPALAN, 2002).

A mandioca figura como a quinta maior fornecedora de energia nas dietas humanas em todo o mundo (NASSAR & ORTIZ, 2010) sendo que dentre as plantas cultivadas, é a segunda maior sintetizadora de carboidratos, ficando atrás apenas da cana-de-açúcar, com uma produção de  $250 \cdot 10^3$  cal/ha/dia, valor consideravelmente superior ao do arroz,  $176 \cdot 10^3$ , e ao do trigo,  $110 \cdot 10^3$  cal/ha/dia (OKIGBO, 1980).

Facilidades de plantio, colheita e baixíssimos custos de manutenção; tolerância a condições críticas de solo e longos períodos de seca; resistência a ataques de insetos e doenças (NASSAR, 1978a; HERSHEY, 1992; ANDERSEN et al., 2000; MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009a) e o fato de as raízes poderem permanecer no solo até o momento do consumo (SAUTTER et al., 2006), fazem desta cultura uma importante reserva contra a fome para as populações pobres dos países em desenvolvimento.

Porém, apesar da mandioca comum ser uma valiosa fonte de energia para comunidades vulneráveis, a maioria das variedades consumidas é pobre em relação a certos nutrientes, possuindo baixos teores de proteína, gorduras, minerais e vitaminas (CHARLES, SRIROTH, HUANG, 2005; MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009a). Este problema torna-se marcadamente sério nas comunidades onde a mandioca constitui o principal alimento.

As raízes de mandioca comum possuem apenas de 0,7 a 2% de proteína, além de baixos níveis de aminoácidos sulfurados e de certos aminoácidos essenciais (YEOH & CHEW, 1977; YEOH & TRUONG; CHARLES, SRIROTH, HUANG, 2005; STUPAK, 2006; NASSAR & SOUZA, 2007). Os aminoácidos estão envolvidos na síntese de neurotransmissores e proteínas, no metabolismo do colesterol, na produção de colágeno e elastina, dentre outros processos vitais (YOUNG & PELLETT, 1994).

A mandioca possui valores consideráveis de cálcio e vitamina C, mas apresenta baixos níveis de alguns micronutrientes, como ferro e zinco (CHARLES, SRIROTH, HUANG, 2005; MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009a), os quais são de extrema importância na nutrição humana, particularmente na nutrição infantil. Os micronutrientes participam de inúmeros processos fisiológicos e seu fornecimento inapropriado pode desencadear anemia, imunossupressão, enfraquecimento dos ossos, diminuição do desempenho cognitivo, problemas de fertilidade, entre outras patologias (KHUSH, 2001).

Outro aspecto que deve ser considerado quando se trata do consumo da mandioca é seu potencial cianogênico. Este diz respeito à propriedade que a mandioca tem de liberar cianeto (CN<sup>-</sup>) em seus tecidos vegetais, devido à hidrólise de glicosídeos cianogênicos – linamarina e lotautralina – quando suas células sofrem ação mecânica (BUTLER & KENEDY, 1965; NARTEY, 1978; MKPONG et al., 1990; CAGNON, CEREDA, PANTAROTTO, 2009).

Tradicionalmente, variedades com baixos teores de glicosídeos cianogênicos são denominadas “mansas”, aipim ou macaxeira, enquanto que aquelas com teores elevados deste componente são chamadas de “bravas”. As variedades mansas de mandioca podem ser consumidas cruas, enquanto que as bravas necessitam passar por processos de detoxificação, através dos quais o cianeto é eliminado das raízes. Relatos na literatura têm associado neuropatia, bócio e cretinismo ao consumo da mandioca insuficientemente detoxificada (DUFOUR, 1988; TELES, 2002; DUFOUR, 2007; PERONI, KAGEYAMA, BEGOSSI, 2007).

Entretanto, os conteúdos de nutrientes e de glicosídeos cianogênicos na mandioca variam consideravelmente entre suas espécies silvestres e a espécie domesticada (NASSAR, 2006). As características desejáveis presentes em espécies silvestres e ausentes na mandioca comum podem ser transferidas à planta cultivada através de técnicas de melhoramento genético, que é normalmente a hibridização interespecífica (NASSAR, 1986; HASHIMOTO, 2009).

Outra técnica usada no melhoramento genético de plantas de propagação vegetativa, como a mandioca, é a poliploidização. Plantas poliplóides possuem mais de duas cópias de cada um de seus cromossomos (RONZELLI, 1996).

A poliploidia pode acarretar aumento do tamanho de partes vegetativas e da biomassa da plantas, promover acréscimo na produção de nutrientes e favorecer a síntese de metabólitos secundários (STEBBINS, 1985; DHAWAN & LAVANIA, 1996).

Assim, a produção de cultivares de mandioca com teores mais elevados de nutrientes e menores índices de glicosídeos cianogênicos através de técnicas de melhoramento genético pode melhorar o perfil nutricional e a saúde global das pessoas, particularmente países pobres que sofrem da desnutrição.

Dessa forma, a mandioca poderia desempenhar um papel ainda maior na segurança alimentar mundial, provendo energia e outros nutrientes, sobremaneira às populações que têm acesso limitado a alimentos derivados de animais (MAZIYA-DIXON, 2000).

As tentativas de utilizar espécies silvestres de mandioca para melhorar as características da mandioca começaram na década de 1930 com os trabalhos de Lanjow (1939) e Jennings (1959), mas o avanço mais significativo vem de NASSAR, que na década de 70 cruzou um exemplar da espécie silvestre de mandioca, *Manihot oligantha* com o cultivar Catelo da mandioca comum, *Manihot esculenta*

Crantz. Deste cruzamento obteve-se o híbrido denominado ICB 300 (NASSAR, 1978c; NASSAR & DOREA, 1982).

Estudos efetuados nas últimas décadas demonstraram que este híbrido é nutricionalmente superior à mandioca comum. As raízes de ICB 300 possuem teor de proteína de 4%, valor duas vezes maior que o relatado para *Manihot esculenta* (NASSAR & DOREA, 1982). Também foi demonstrado que os aminoácidos essenciais histidina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina e valina estão presentes em níveis consideráveis no híbrido ICB 300 (NASSAR & SOUSA, 2007). Outro achado importante foi o alto teor do antioxidante luteína nas folhas deste híbrido, que chegou a 9108 µg/g (NASSAR et al., 2007; NASSAR et al., 2009).

Considerando o potencial nutritivo do híbrido interespecífico ICB 300, o presente trabalho teve o propósito de avaliar a qualidade nutricional de progenias deste híbrido e de um cultivar da mandioca comum, a fim de selecionar plantas que possam se tornar cultivares de mandioca com melhores características nutricionais.

## **2. Revisão de Literatura**

### **2.1. Mandioca**

#### **2.1.1. Origem e domesticação**

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, pertence ao gênero *Manihot* e à família Euphorbiaceae. O gênero *Manihot* possui 98 espécies, de hábito subarbustivo, arbustivo ou arbóreo, das quais somente *M. esculenta* (Figura 1) forma raízes armazenadoras de amido, sendo por isso a única cultivada para fins alimentícios (ROGERS & APPAN, 1973).



Figura 1 – Cultivar de *M. esculenta*.

A origem exata da mandioca permanece incerta. Mas diversos autores sugerem que a espécie teria se originado no continente americano, mais precisamente no Brasil (ROGERS & APPAN, 1973; NASSAR, 1978a; ROA et al., 1997).

Nassar (1978a) apontou quatro centros de diversidade de espécies do gênero *Manihot*, correspondendo à Região central do Brasil (Sul de Goiás e Oeste de Minas Gerais) – no qual ocorrem 38 das 98 espécies identificadas – Região Sudeste do México, Nordeste do Brasil, Sudeste do Mato Grosso e da Bolívia. Estes centros compreendem os locais onde ocorre a maior variabilidade de espécies de *Manihot*.

O processo de domesticação da mandioca também é incerto, mas especula-se que a mandioca tenha sido domesticada pela primeira vez numa única localidade e depois fora levada por povos indígenas para diferentes regiões, durante períodos de imigração. Isto pode ter levado à ocorrência de cruzamentos entre a espécie cultivada e as espécies silvestres locais, originando numerosas espécies através de introgressão genética (NASSAR, 1978a; NASSAR, 2000).

Geralmente a domesticação resulta em eliminação de variabilidade genética, por isso, a transferência de genes de espécies silvestres para aquelas domesticadas são úteis (JARVIS & HODGKIN, 1999), podendo favorecer aspectos agrônômicos (produtividade e resistência a seca, e.g.) e aspectos nutricionais. Assim, espécies silvestres da mandioca representam importantes recursos genéticos, constituindo uma reserva de diversidade para programas de melhoramento da planta.

No caso da mandioca, o processo de domesticação resultou em diversas mudanças, dentre as quais se destaca o desenvolvimento de protuberantes raízes de reserva (Figura 2) ricas em amido (SCHAAL, OLSEN, CARVALHO, 2005). Ao contrário da espécie cultivada, as espécies silvestres do gênero *Manihot* apresentam raízes fibrosas e delgadas, porém algumas espécies desenvolvem raízes tuberosas (NASSAR, 2000).



Figura 2 – Raízes de reserva e fibrosas de *M. esculenta*.

Outra mudança notável diz respeito ao padrão de acúmulo de proteína nas raízes, tendo em vista que durante o processo de domesticação da mandioca selecionaram-se plantas com alta produtividade e raízes pouco fibrosas, dando-se pouca ou nenhuma atenção ao conteúdo de proteína. Isto pode ter levado à “marginalização” ou “descarte” de genes responsáveis pelo acúmulo de proteína nas raízes, resultando nas variedades domesticadas com baixo teor de proteína (NASSAR, 2000). Este mesmo fenômeno também pode ter ocorrido para outros nutrientes.

A espécie silvestre *Manihot oligantha* (Figura 3), coletada no município de Cristalina (GO) e descrita por Nassar (1978a) caracteriza-se por ser um subarbusto muito pequeno (30 cm de altura) e por formar raízes tuberosas. Além disto, *M. oligantha* possui alto teor de proteína, chegando a 7,1%, e baixo conteúdo de cianeto, com 62,3 mg.kg<sup>-1</sup> (NASSAR, 1978d).



Figura 3 – Espécie silvestre de mandioca, *M. oligantha*.

Todas estas características peculiares de *M. oligantha* despertaram o interesse do pesquisador Nagib Nassar, que a cruzou com um cultivar de *M. esculenta*, resultando no híbrido interespecífico ICB 300 (NASSAR & DOREA, 1982).

### 2.1.2. Suas raízes e usos como alimento

As raízes da mandioca são estruturas vegetativas e não possuem função reprodutiva como outros órgãos de reserva, como é o caso dos tubérculos da batata. As raízes de reserva da mandioca desenvolvem-se a partir de raízes fibrosas através de intensa divisão e diferenciação celular das células do parênquima do xilema secundário. Isto acontece a partir da oitava semana até 24 semanas do plantio das estacas. Nem todas as raízes fibrosas tornam-se raízes tuberosas e o mecanismo através do qual esta transição ocorre ainda não foi desvendado (RAMANUJAM & INDIRA, 1984; SHEFFIELD et al., 2006).

Antes de serem consumidas, as raízes de mandioca são tipicamente processadas em diversos produtos. Estes processamentos atendem a interesses culinários e também podem reduzir o teor de cianeto de seus derivados (DUFOR, 2007).

Comunidades tradicionais da região Amazônica e da América do Sul, por exemplo, transformam a mandioca numa massa achatada, chamada de casabe (BALAGOPALAN, 2002; DUFOUR, 2007).

No Norte e Nordeste do Brasil, a mandioca é transformada na farinha d'água, que consiste numa farinha tostada e de grânulos graúdos. Também há a farinha seca ao sol, denominada simplesmente como farinha (DUFOUR, 2007). Além da popular farinha, é muito comum o consumo da mandioca cozida, também chamada de “o pão do Brasil” (PEREIRA, LORENZI, VALLE, 1985).

Outro produto típico do Brasil derivado da mandioca é o polvilho azedo, que é obtido através da fermentação do amido da mandioca por um período de cerca de 30 dias. O polvilho azedo tem um sabor intenso e característico, e é usado na preparação de diversos alimentos, como biscoitos e pão de queijo. Na Colômbia, o polvilho azedo é usado na fabricação do “*pandebono*” e do “*pan de yuca*” (BALAGOPALAN, 2002).

Na África, os alimentos derivados da mandioca mais difundidos são o “*gar*”, produto muito semelhante à farinha d'água; o “*baton de manioc*”, que consiste numa pasta fermentada; e o mingau conhecido como “*foo foo*” (fufu) ou “*ungali*”, preparado com uma massa fermentada de mandioca (DUFOUR, 2007).

Em certas regiões da África e algumas localidades da América do Sul, consome-se a polpa crua de “mandioca mansa” (BALAGOPALAN, 2002).

Na Indonésia, pedaços de mandioca seca são cozidos no vapor e espalhados numa esteira de bambu, onde permanecem por 2 a 3 dias, sob constante aspersão de água. Após este tempo, os pedaços de mandioca tornam-se escurecidos e adquirem um sabor marcante. Este alimento é chamado de “*gato*”, que pode ser servido após cozimento (BALAGOPALAN, 2002).

As raízes de mandioca também são utilizadas na fabricação de bebidas fermentadas, como a cerveja, “*beiju*”, “*banu*”, “*ula*” e “*kasili*”, preparadas e consumidas tipicamente por tribos indígenas da América do Sul e comunidades da Ásia e da África (LANCASTER, INGRAM, COURSEY, 1982; BALAGOPALAN, 1982).

É importante destacar que os diferentes tipos de processamento podem afetar a qualidade nutricional da mandioca, resultando em perda de grande parte da matéria seca, carboidratos e proteína (FAVIER, 1977).

O teor de proteína na mandioca cozida, por exemplo, é cerca de 60% inferior ao da mandioca crua, assim como o teor de cálcio pode se reduzir a menos

da metade. No “*gari*”, o teor de niacina é cerca de 80% menor do que o encontrado na mandioca cozida. (FAVIER, 1977).

Olusola, Oyewole e Odunfa (1989) relataram que o processo de fermentação da mandioca na produção de fufu aumentou a concentração de cálcio em 12% com relação à mandioca crua, mas acarretou numa perda de 20% do teor de proteína e de cerca de 50% nos níveis de ferro e magnésio nas amostras estudadas.

A transformação da mandioca em seus derivados pode reduzir significativamente a quantidade de compostos cianogênicos nestes produtos (NAMBISAN & SUNDARESAN, 1985; DUFOUR, 2007; MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009b), fato muito vantajoso, dado que tais compostos têm o potencial de liberar ácido cianídrico no organismo dos consumidores.

A redução do nível de compostos cianogênicos varia de acordo com o tipo e o tempo de preparo até a obtenção do produto final. O processamento da mandioca em farinha, por exemplo, reduz 66% do total de compostos cianogênicos com relação à raiz fresca (DUFOUR, 2007), enquanto que o ato de fritá-la diminui apenas 10,7% deste montante (NAMBISAN & SUNDARESAN, 1985). A redução no *gari* é de cerca de 93%, e chega a 99% na farinha d’água (DUFOUR, 2007).

### **2.1.3. Características nutricionais**

As raízes de mandioca são extremamente ricas em carboidratos, sendo que cerca de 80 a 90% de sua massa seca correspondem a este nutriente (MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009a). Do total de carboidratos, aproximadamente 80% é amido (GIL & BUITRAGO, 2002), principalmente na forma de amilose e amilopectina. Cerca de 17% corresponde a sacarose, enquanto que pequenas quantidades de frutose e dextrose também podem ser encontradas (CHARLES, SRIROTH, HUANG, 2005).

O conteúdo lipídico é baixo, apenas 0,5% (OKIGBO, 1980), sendo que os ácidos graxos mais abundantes são o palmitato e o oleato (HUDSON & OGUNSUA 1974).

Também estão presentes nas raízes de mandioca certos compostos que podem interferir na disponibilidade de nutrientes ou ter ação deletéria na saúde das pessoas, sendo por isso, chamados de antinutrientes. Os principais antinutrientes da mandioca são os glicosídeos cianogênicos e os fitatos. (MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009b).

Os fitatos são uma forma de estoque de fósforo e podem ligar-se fortemente a cátions divalentes, tais como cálcio, ferro e zinco, diminuindo a absorção destes importantes micronutrientes no trato digestivo, limitando sua disponibilidade (GHANDILYANA, VREUGDENHILB, AARTS, 2006).

Por outro lado, os fitatos também podem desempenhar um importante papel na redução da formação de radicais livres mediada pelo ferro quando este se encontra em concentrações muito elevadas nos alimentos ingeridos (LEI & PORRES, 2003).

#### **2.1.4. Proteína e aminoácidos**

Cultivares da mandioca comum possuem baixos teores de proteína, que variam de 1 a 3%, com relação à massa seca (BUITRAGO, 1990; BALAGOPALAN et al., 1992; BABU & CHATTERJEE, 1999), valores consideravelmente inferiores aos demonstrados por outras culturas, como é o caso da batata-doce e do milho, com teores de cerca de 9 (PURCELL, 1972) e 10% (SAUBERLICH, CHANG, SALMON, 1953) de proteína, respectivamente.

O conteúdo de proteína na mandioca parece ser estável e constante com a maturidade da planta, além de apresentar valor biológico de 48% e digestibilidade comparável a do arroz (NASSAR & SOUSA, 2007).

A digestibilidade diz respeito à quantidade da proteína que é absorvida pelo organismo na forma de aminoácidos ou outras formas nitrogenadas, dado que parte da proteína é excretada nas fezes ou transformada em produtos do metabolismo pelos microorganismos do intestino grosso. Por sua vez, o valor biológico da proteína leva em consideração a digestibilidade e o balanço entre os aminoácidos que a compõem, referindo-se à capacidade da proteína em satisfazer

as necessidades nutricionais humanas por aminoácidos essenciais e não essenciais (YOUNG & PELLETT, 1994).

Do total de nitrogênio nas raízes, cerca de 50% corresponde à proteína enquanto que aminoácidos livres e compostos nitrogenados não-protéicos – ácido cianídrico, nitratos e nitritos, e.g. – perfazem os outros 50% (MONTAGNAC, DAVIS, TANUMIHARDJO, 2009a).

Quanto à composição de aminoácidos, a mandioca apresenta baixos teores dos aminoácidos essenciais cisteína, leucina, lisina, metionina, treonina e triptofano (YEOH & TRUONG, 1996; GIL & BUITRAGO 2002). Por outro lado, arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico são os aminoácidos que aparecem em maiores quantidades nas raízes da mandioca (YEOH & TRUONG, 1996; GIL & BUITRAGO 2002).

Os baixíssimos níveis de lisina e leucina nas raízes de mandioca limitam o valor biológico da proteína deste alimento, sendo denominados aminoácidos limitantes (YOUNG & PELLET, 1994; MILLWARD, 1999).

Merece destaque a baixa concentração dos aminoácidos sulfurados metionina e cisteína, pois estes aminoácidos são fundamentais no processo de detoxificação endógena do ácido cianídrico liberado pelos glicosídeos cianogênicos remanescentes nos produtos alimentares derivados da mandioca (OSUNTOKUN et al., 1968).

### **2.1.5. Micronutrientes**

Os teores de ferro e zinco nas raízes de *M. esculenta* assemelham-se aos verificados em outras raízes de reserva, como a batata-doce e a batata inglesa (Tabela 1), enquanto que seu conteúdo de cálcio é relativamente alto, variando de 10 (BUITRAGO, 1990) a 369 mg/100g (CHARLES, SRIROTH, HUANG, 2005).

Com relação às vitaminas, a mandioca possui baixos teores de tiamina, riboflavina e niacina assim como vitaminas do complexo B, mas seu teor de vitamina C é expressivo, variando de 15 a 45 mg/100g de raiz (OKIGBO 1980; CHARLES SRIROTH, HUANG, 2005).

Tabela 1 – Teores de cálcio, ferro, zinco e magnésio em vários alimentos por 100g de parte comestível, para comparação com raízes de mandioca.

| <b>Alimento</b>               | <b>Cálcio (mg)</b> | <b>Magnésio (mg)</b> | <b>Ferro (mg)</b> | <b>Zinco (mg)</b> |
|-------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Alface lisa, crua</b>      | 28                 | 9                    | 0,6               | 0,3               |
| <b>Arroz tipo 2, cru</b>      | 5                  | 29                   | 0,6               | 1,3               |
| <b>Batata-doce crua</b>       | 21                 | 17                   | 0,4               | 0,2               |
| <b>Batata inglesa crua</b>    | 4                  | 15                   | 0,4               | 0,2               |
| <b>Milho verde cru</b>        | 2                  | 33                   | 0,4               | 0,5               |
| <b>Leite de vaca integral</b> | 890                | 10                   | Traços            | 0,4               |
| <b>Ovo cru</b>                | 42                 | 13                   | 1,6               | 1,1               |
| <b>Mandioca crua</b>          | 15                 | 44                   | 0,3               | 0,2               |

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO, 2006.

### 2.1.6. Glicosídeos Cianogênicos

Os glicosídeos cianogênicos, ou cianoglicosídeos, constituem um grupo de metabólitos secundários que ocorrem extensamente no reino vegetal (WANDA et al., 1998) e que em decorrência de clivagem enzimática liberam o íon tóxico cianeto (CN<sup>-</sup>).

Estima-se que mais de 2000 espécies de plantas (CONN, 1981; DU et al., 1995; HAQUE & BRADBURY, 2004) produzam este tipo de biomolécula, muitas das quais são plantas cultivadas: trigo (PITSCH, KELLER, ZINSMEISTER, 1984), aveia (MICHELY et al., 1983), maçã (DZIEWANOWSKA et al., 1979), entre outras.

Entretanto, as maiores fontes alimentares de cianoglicosídeos são as amêndoas amargas, o sorgo, certas espécies de feijão e a mandioca (SHIBAMOTO & BJELDANES, 1993; WANDA et al., 1998).

Ainda é desconhecida a exata função biológica dos glicosídeos cianogênicos, mas é aceito que esta função, ou funções, dependem da espécie da planta e também de fatores de estresse bióticos e abióticos (DU et al., 1995).

Na mandioca, a presença de cianoglicosídeos tem sido relacionada à proteção contra herbivoria (BELLOTI & RISS, 1994) e à reserva de nitrogênio (SELMAR, LIEBEREI, BIEHL, 1988).

Em todos os tecidos da mandioca, com exceção das sementes, ocorrem os glicosídeos cianogênicos linamarina (Figura 4) e lotaustralina (Figura 5),

na proporção de 93:7 (BUTLER & KENEDY, 1965; MONTGOMERY, 1980; DU et al., 1995; MCMAHON, WHITE, SAYRE, 1995; CAGNON, CEREDA, PANTAROTTO, 2009).

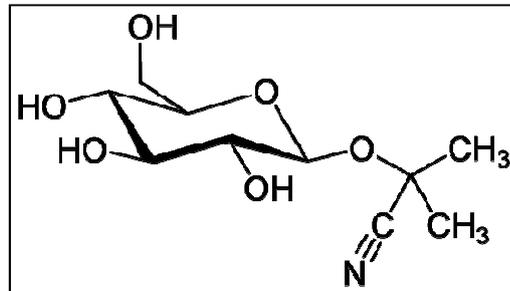


Figura 4 – Estrutura química da linamarina.

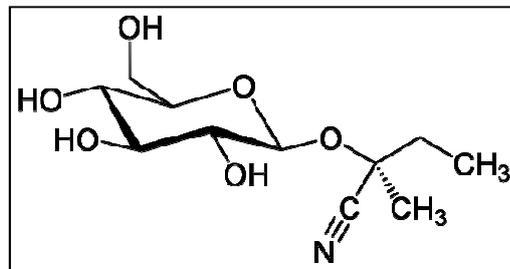


Figura 5 – Estrutura química da lotaustralina.

As folhas da mandioca possuem os teores mais elevados de cianoglicosídeos da planta, enquanto que as raízes apresentam níveis cerca de 20 vezes menores que as folhas (WHITE, 1998).

Além das diferenças tecido-específicas, existem também diferenças relacionadas ao tipo de cultivar (MPKONG, 1990; WHITE, 1998) e às condições edafoclimáticas (COURSEY, 1973; SINHA & NAIR, 1968; BOKANGA, 1994), sendo que os potenciais cianogênicos dos cultivares de mandioca variam de menos de 10 mg.kg<sup>-1</sup> a mais de 500 mg.kg<sup>-1</sup>, com relação à polpa fresca da raiz (O'BRIEN et al., 1994)

A biossíntese da linamarina e da lotaustralina na mandioca (Figura 6) inicia-se com a conversão dos aminoácidos L-valina e L-isoleucina, respectivamente, pelos sistemas enzimáticos microsossomais citocromos P450 CYP79D1 e CYP79D2 (ANDERSEN et al., 2000). Nesta fase, ocorrem duas N-hidroxilações no grupamento amino do aminoácido, e em seguida, sucedem-se uma descarboxilação e uma desidratação (SIBBESEN et al., 1994). A aldoxina formada é convertida então, a

uma  $\alpha$ -hidroxinitrila pelos citocromos P450 CYP71E1 (BAK et al., 1998; KAHN et al., 1997). Esta reação inicia-se com uma reação de desidratação que gera uma nitrila, seguida de uma hidroxilação no carbono  $\alpha$ , formando uma cianoidrina. Finalmente, as cianoidrinas correspondentes são glicosiladas em linamarina e lotaustralina pela enzima solúvel uridina 5'-difosfoglicose-glicosiltransferase (NARTEY, 1978; ANDERSEN et al., 2000).

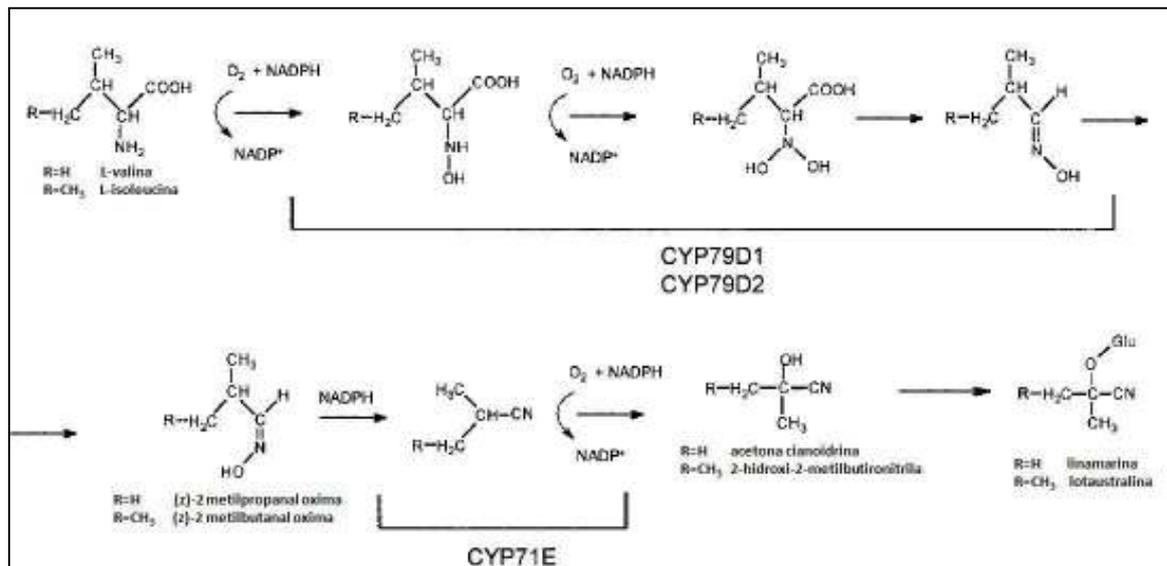


Figura 6 – Biossíntese dos glicosídeos cianogênicos linamarina e lotaustralina na mandioca, a partir de L-valina e L-isoleucina.

Fonte: MCMAHON, WHITE, SAYRE, 1995 (com adaptações).

Tem sido demonstrado que pelo menos parte dos glicosídeos cianogênicos presentes nas raízes é aí sintetizada, e não apenas translocados de outras regiões da planta, como o caule e as folhas (DU et al., 1995; MCMAHON & SAYRE, 1995; MCMAHON et al., 1995; WHITE & SAYRE, 1995). Mas, a translocação de linamarina e lotaustralina para as raízes de mandioca ocorre e parece seguir a “rota da linustatina” (SELMAR, LIEBEREI, BIEHL, 1988), conforme apontado por Lykkesfeldt e Moller (1994) (Figura 7).

Este transporte se daria por via apoplástica, através da glicosilação da linamarina e da lotaustralina nos seus diglicosídeos correspondentes linustatina e neolinustatina. Estes diglicosídeos são resistentes à hidrólise pelas  $\beta$ -glicosidases presentes nos espaços apoplásticos (SELMAR; LIEBEREI; BIEHL, 1988).

Na raiz, a linustatina seria então deglicosilada por diglicosidases, produzindo acetocianidrina. Esta poderia sofrer reglicosilação, produzindo linamarina

ou ser clivada e gerar cianeto, que seria refixado pela  $\beta$ -cianoalanina sintase, produzindo compostos aciogênicos (FOKUNANG et al., 2001).

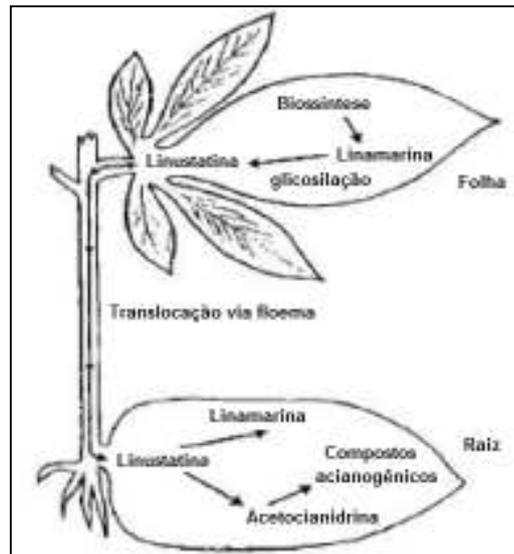


Figura 7 – Translocação de linamarina produzida nas folhas para a raiz de mandioca.  
Fonte: Selmar et al., 1987 (com adaptações).

O processo a partir do qual a linamarina e a lotaustralina liberam cianeto é denominado cianogênese (Figura 8). Este processo depende da ruptura dos tecidos vegetais intactos para que ocorra a exposição dos substratos – linamarina e lotaustralina – à enzima linamarase, já que estão compartimentabilizados em locais distintos na célula vegetal: os cianoglicosídeos localizam-se em vacúolos celulares, enquanto que a  $\beta$ -glicosidase linamarase encontra-se associada à parede celular (MKPONG et al., 1990; MCMAHON et al., 1995):

Traumas mecânicos podem ocasionar a ruptura de vacúolos celulares e a liberação dos cianoglicosídeos. Sob a ação da linamarase, a linamarina e a lotaustralina são hidrolisadas à glicose e a  $\alpha$ -hidroxinitrilas instáveis, denominadas acetocianidrinhas. Espontaneamente em  $\text{pH} > 4,0$  ou temperaturas  $> 30^\circ\text{C}$ , ou ainda através da atividade de uma hidroxinitrila liase (HNL), as acetocianidrinhas são decompostas a suas cetonas correspondentes e ácido cianídrico (HCN) (BUTLER & KENEDY, 1965; NARTEY, 1978; MKPONG et al., 1990; WHITE, MCMAHON, SAYRE, 1994; WHITE & SAYRE, 1995; WAJANT & PFIZENMAIER, 1996).

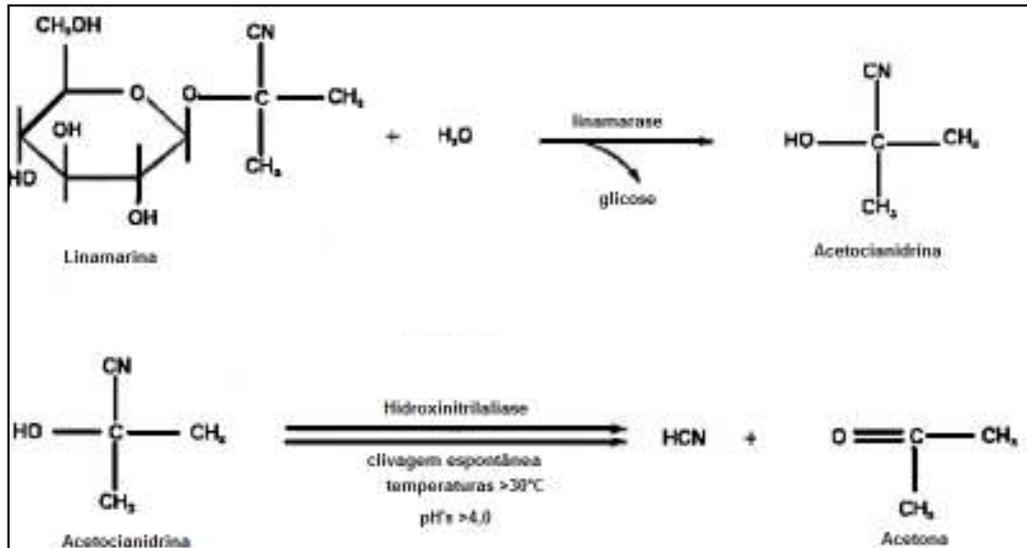


Figura 8 – Processo cianogênico a partir da linamarina.

Ações mecânicas como a trituração e a maceração, por exemplo, expõem a linamarina à enzima linamarase, levando à formação de acetocianidrina. A acetocianidrina é degradada à acetona e ácido cianídrico. Fonte: MCMAHON, WHITE, SAYRE, 1995 (com adaptações).

Foi demonstrado por White e colaboradores (1998) que a hidroxinitrila liase não participa da decomposição das acetocianidrinhas nas raízes, dado que a HNL estaria ausente neste tecido vegetal.

### 2.1.6.1. Toxicidade

A utilização e o consumo da mandioca são extremamente influenciados pela presença destes glicosídeos potencialmente tóxicos (ROSLING, 1987), o que reflete na tradicional classificação das variedades de mandioca em “mansas” e “bravas”. As mandiocas mansas, também denominadas macaxeira ou aipim, são aquelas cujas raízes apresentam baixo potencial cianogênico, enquanto que as mandiocas bravas apresentam alto potencial cianogênico (DUFOUR, 1988; TELES, 2002; DUFOUR, 2007; PERONI, KAGEYAMA, BEGOSSI, 2007).

Coursey (1973) sugeriu a classificação dos cultivares de mandioca em três categorias, de acordo com o teor de ácido cianídrico das raízes. Assim, cultivares com menos de 50 mg.kg<sup>-1</sup> podem ser classificados como “não tóxicos”. Aqueles com 50 a 100 mg.kg<sup>-1</sup> são “moderadamente tóxicos”, enquanto que os cultivares com mais de 100 mg.kg<sup>-1</sup> classificam-se como “perigosamente tóxicos”.

Habitualmente, costuma-se correlacionar o sabor amargo de certos cultivares de mandioca com seu potencial cianogênico. Em muitas comunidades este é o critério usado para diferenciar “mandiocas bravas” de “mandiocas mansas”. King e Bradbury (1995) demonstraram que além da linamarina e da loutaustralina, outros compostos presentes nas raízes de mandioca podem conferir o sabor amargo. Assim, nem sempre o amargor se correlaciona diretamente o potencial cianogênico das raízes.

Juntamente com a FAO, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o limite de ingestão diária de cianeto deve ser de até  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$  de peso corpóreo (WHO/FAO, 1991), mas este limite é questionável pois foi estabelecido com base na dose letal por via inalatória. Cereda, Ramalho e Lopes (2007), demonstraram que a dose letal ( $DL_{50}$ ) de linamarina extraída de mandioca por via oral em ratos foi de  $324,86 \text{ mg.Kg}^{-1}$ . Mlingi, Poulter e Rosling (1992) reportam que a dose letal para seres humanos adultos ficaria entre 30 e  $210 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de cianeto. Assim, pode ser que consumos maiores do que aqueles estabelecidos pela OMS/FAO não causem distúrbios ao organismo.

A mandioca e seus derivados insuficientemente detoxificados contêm quantidades variáveis de cianoglicosídeos e cianoidrinas, que são capazes de liberar níveis tóxicos de ácido cianídrico no corpo.

Porém, parte da linamarina ingerida é excretada intacta na urina em 24 horas após a ingestão (BRIMER & ROSLING, 1993), mas o organismo humano é capaz de metabolizar o cianeto liberado a compostos menos tóxicos, que também são excretados na urina (TYLLESKAR et al., 1992).

O principal mecanismo endógeno de detoxificação do cianeto envolve a participação da enzima rodanase, que converte o cianeto ( $\text{CN}^-$ ) a tiocianato ( $\text{SCN}^-$ ), num processo que depende de doadores de enxofre. Geralmente, os aminoácidos sulfurados cisteína e metionina provenientes da dieta constituem-se nestes doadores (OSUNTOKUN, 1981; SCHULZ, 1984; WESTLEY, 1988). Até mesmo em situações de deficiência protéica a cisteína e a metionina disponíveis são desviadas para a detoxificação do  $\text{CN}^-$  (SWENEE et al., 1996; TOR-AGBIDYE et al., 1998).

Quando a exposição alimentar ao cianeto supera a capacidade de metabolização do organismo, podem ocorrer episódios de intoxicação aguda (MLINGI et al., 1992) e morte (AKINTONWA, 1992). O cianeto inibe a citocromo

oxidase, o que impede a ocorrência da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, interferindo na produção de energia celular.

Náuseas, vômito, dores no estômago, tontura, dor de cabeça e diarreia são os sintomas mais comuns de intoxicações agudas (MLINGI, POULTER, ROSLING, 1992). Casos agudos e fatais de intoxicação por mandioca e seus derivados são muito raros, pois geralmente, os níveis de cianeto nos derivados de mandioca geralmente consumidos são muito baixos (TELES, 2002; OLUWOLE & ONABOLU, 2003).

Entretanto, a ingestão prolongada de pequenas quantidades de cianeto tem sido relacionada à ocorrência de diversas doenças, tais como neuropatia tropical atáxica (NTA), konzo, bócio e cretinismo (DUFOUR, 1988; TELES, 2002; DUFOUR, 2007; PERONI, KAGEYAMA, BEGOSSI, 2007).

A neuropatia tropical atáxica (NTA) é uma doença crônica caracterizada pela perda gradual da coordenação motora e comprometimento da capacidade auditiva, visual e sensorial. Esta condição foi observada principalmente nos anos 50 e 60, em regiões extremamente pobres da África, onde a mandioca era intensamente ingerida (OSUNTOKUN, 1981).

O *konzo*, que significa “pernas amarradas”, consiste na paralisia súbita e irreversível das pernas, que acomete prevalentemente mulheres em idade fértil e crianças de populações pobres rurais da África (BANEAMAYAMBU et al., 1997; OLUWOLE & ONABOLU, 2003). As epidemias de *konzo* se dão geralmente em épocas de seca e fome, nas quais a base da alimentação é a “mandioca brava” (BANEAMAYAMBU et al., 1997; NGUDI, 2005), e o consumo protéico é reduzido (CLIFF et al., 2003; NGUDI, 2005).

As patogêneses da NPT e do *konzo* ainda não foram elucidadas, mas há indícios de que as lesões dos nervos típicas dessas síndromes sejam causadas por espécies reativas de oxigênio geradas nos ciclos de hipóxia/normóxia celular devidas ao cianeto (KAMALU, 1995). A linamarina intacta agravaria este processo, através do desbalanço eletrolítico celular que este cianoglicosídeo causaria (KAMALU, 1995). Mas é provável que o desenvolvimento destas manifestações neurológicas dependa da duração da exposição ao cianeto alimentar e da habilidade do organismo em metabolizá-lo, que por sua vez depende do estado nutricional do indivíduo (TOR-AGBIDYE et al., 1998).

A ocorrência de bócio e cretinismo entre consumidores freqüentes de mandioca relaciona-se à ingestão insuficiente de iodo. Isto porque o SCN<sup>-</sup> resultante da metabolização do cianeto inibe a captação do iodo pela glândula tireóide, acarretando na diminuição da produção dos hormônios tireoidianos (DELANGE et al., 1994).

### **3. Desnutrição protéico-calórica relacionada ao consumo da mandioca**

Dentre todas as culturas de reserva, a mandioca é a que possui a menor relação Proteína:Energia (P:E) (STEPHENSON et al., 2010). O trigo, por exemplo, apresenta uma relação P:E de 16,6%, enquanto que para a mandioca esta relação é de 3,4% (MILLWARD, 1999).

A relação P:E pode ser entendida como a habilidade de um certo alimento prover os requerimentos de proteína se consumido em quantidade suficiente para atender as necessidades energéticas do organismo. Além da quantidade de proteína, a relação P:E leva em consideração sua qualidade, ou seja, o balanço dos aminoácidos que a compõem (BEATON, 1975).

Adicionado ao fato de as raízes de mandioca possuírem baixos níveis de proteína, os processamentos pelos quais elas passam antes de serem consumidas podem torná-las praticamente isentas de proteína. Assim, indivíduos que consomem exclusiva ou predominantemente raízes de mandioca podem apresentar sintomas de desnutrição protéico-calórica (SAUTTER et al., 2006).

A desnutrição protéico-calórica é uma das duas categorias da desnutrição, que é conceituada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como “o desbalanço celular entre o suprimento de nutrientes e energia e a demanda do corpo por estes, para assegurar seu crescimento, manutenção e funções específicas” (WHO, 1993). A outra categoria da desnutrição é a deficiência de micronutrientes, que será tratada na próxima seção.

Os requerimentos de proteína na dieta humana consistem em dois componentes: (i) Aminoácidos essenciais – histidina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina – e aminoácidos essenciais circunstanciais

– cisteína, tirosina, glicina, arginina, glutamina e prolina, que são essenciais em condições fisiológicas e patológicas específicas. (ii) Nitrogênio não-específico, para a síntese de aminoácidos não-essenciais – ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico, alanina e serina – e outros compostos nitrogenados importantes, como os ácidos nucleicos, creatina e porfirinas (YOUNG & PELLETT, 1994).

Quando estes requerimentos não são atendidos, pode-se configurar o que se denomina desnutrição protéico-calórica (DPC). Juntamente à insuficiente ingestão de proteína, as infecções crônicas e severas – principalmente aquelas que desencadeiam diarreia – e as infestações parasitárias são as grandes responsáveis pela DPC (PINSTRUP-ANDERSEN, 1993).

Vários trabalhos sugerem que dietas baseadas em mandioca e seus derivados relacionam-se com a ocorrência de DPC (OKIGBO, 1980; KAMALU, 1993; LENHARTZ et al., 1998).

Stephenson e colaboradores (2010) encontraram correlação entre o consumo de mandioca e ingestão protéica inadequada entre crianças de 2 a 5 anos de idade residentes do Quênia e Nigéria. A ingestão protéica inadequada estava correlacionada também à baixa estatura das crianças pesquisadas.

As manifestações clínicas mais graves da DPC compreendem o *kwashiorkor*, a desnutrição marasmática e o *kwashiorkor* marasmático, que são pouco prevalentes nos países desenvolvidos, mas ainda assolam milhares de pessoas, principalmente crianças, na África subsaariana, sudeste da Ásia e da América Central (NEWMAN, 1995; MÜLLER & KRAWINKEL, 2005; GROVER & EE, 2009).

A palavra *Kwashiorkor*, que significa “doença do desmame”. Esta síndrome afeta principalmente lactantes e crianças, e resulta de dieta pobre em proteína, mas normal em carboidratos (MÜLLER & KRAWINKEL, 2005; GROVER & EE, 2009). Normalmente, crianças com Kwashiorkor apresentam peso normal para a idade, mas têm edema generalizado, dermatoses, hipopigmentação capilar, distensão do abdome e hepatomegalia. O edema, típico desta doença, é ocasionado pela diminuição exarcebada de albumina no sangue, aumento do hormônio cortisol e ineficiência dos mecanismos antidiuréticos do corpo (GROVER & EE, 2009).

A desnutrição marasmática é uma síndrome, caracterizada clinicamente pela depleção dos estoques de gordura subcutâneos, perda muscular e ausência de edema, que decorrem da tentativa do organismo conter a falta de nutrientes e

calorias. Esta condição acomete principalmente crianças menores de 5 anos idade, devido à maior demanda nutricional e susceptibilidade a infecções que esse grupo etário apresenta. Fraqueza, letargia, bradicardia, hipotensão e hipotermia são sintomas típicos desse agravo (GROVER & EE, 2009).

O *kwashiorkor* marasmático também é uma síndrome que afeta principalmente crianças. Estas apresentam um quadro com características típicas da desnutrição marasmática e outras típicas do *Kwashiorkor*: acentuada perda de peso, edema generalizado, mudanças no cabelo e manifestações cutâneas, além de desenvolverem esteatose (acúmulo de gordura no fígado) (GROVER & EE, 2009).

Além destas graves manifestações, a DPC pode ocasionar diversas outras, dentre elas: diminuição dos níveis do hormônio tireoidiano e insulina, imunossupressão, retardo no desenvolvimento físico e mental, alterações gastrintestinais e arritmias cardíacas (GROVER & EE, 2009).

#### **4. Deficiências de Micronutrientes**

As deficiências de micronutrientes constituem a segunda categoria da desnutrição (MULLER & KRAWINKEL, 2005) e são altamente disseminadas, atingindo 1 a cada 3 pessoas no mundo (GHANDILYANA, VREUGDENHILB, AARTS, 2006).

Denominam-se micronutrientes os minerais e vitaminas necessários em quantidades muito pequenas (HAIDER & BHUTTA, 2006; PROBART, 2003), mas que são fundamentais para o funcionamento, crescimento e desenvolvimento adequados do organismo (HAIDER & BHUTTA, 2006).

Dezenove vitaminas e minerais são considerados micronutrientes: Vitaminas A, B<sub>4</sub>, B<sub>12</sub>, C, D, E e K; tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, biotina, folato, ácido fólico, cálcio, ferro, iodo, magnésio e zinco (KENNEDY, NANTEL, SHETTY, 2003).

A deficiência crônica destes nutrientes pode causar distúrbios no crescimento fetal, diminuição da capacidade cognitiva de crianças, letargia, cegueira e disfunções imunológicas. Como estas desordens orgânicas não costumavam ser

relacionadas a dietas inadequadas, passou-se a chamar este tipo de malnutrição de fome-oculta (SAUTTER et al., 2005).

A fome-oculta resulta de complexos fatores sociais, políticos e econômicos (PROBART, 2003), e estima-se que o número de pessoas atingidas por algum tipo de deficiência de micronutrientes ultrapasse dois bilhões em todo o mundo (WHO, 1995; WELCH & GRAHAM, 1999).

A carência de micronutrientes é um dos problemas nutricionais mais comuns do planeta (STEPHENSON, LATHAM e OTTESEN, 2000; LEE et al., 2009). Sua prevalência é especialmente elevada no Sudeste da Ásia e na África Subsaariana (RAMAKRISHNAN, 2002), e em várias regiões da América Latina, inclusive no Nordeste Brasileiro (BRESSANI, 2000), mas existem evidências de que esta condição também continue prevalente em determinados grupos populacionais da Europa (DARMON, FERGUSON, BRIEND, 2002) e dos Estados Unidos (KARP, 1999).

O consumo insuficiente de micronutrientes é reconhecido como um importante contribuinte para a carga global de morbi-mortalidade no mundo, através do aumento das taxas de adoecimento e morte por doenças infecciosas e outras (BLACK R., 2003).

Além dos impactos na saúde, as deficiências de micronutrientes (DM) também exercem sérios efeitos sócio-econômicos (HORTON & ROSS, 2003; FAO, 2004) e são responsáveis por maiores gastos tanto no nível individual, quanto para a sociedade e para as nações (DARNTON-HILL et al., 2005).

De acordo com estimativas do Banco Mundial, as DM geram perdas anuais de cerca de 5% do Produto Interno Bruto (PIB) nos países, sendo que investimentos de apenas 0,3% do PIB poderiam resolver grande parte do problema (WORLD BANK, 1994).

Assim, o combate à deficiência de micronutrientes foi estabelecido como prioridade pela Organização Mundial da Saúde e também por outras organizações, como o Grupo Consultivo sobre Pesquisa Agrícola Internacional (Consultative Group on International Agricultural Research – CGIAR) (WHO, 1992; BOUIS et al., 2000).

Recentemente, o CGIAR lançou o programa “*HarvestPlus Challenge*” que tem como principal objetivo obter novas variedades de mandioca, feijão, arroz, milho, trigo e batata-doce com o dobro da concentração de ferro e com 40% a mais de zinco (PFEIFFER & MCCLAFFERTY, 2007).

#### **4.1. Implicações das deficiências de micronutrientes na saúde humana**

Mesmo quando se configuram como ligeiras ou moderadas, as carências de micronutrientes desencadeiam sérias consequências para a saúde do homem, devido a sua participação direta ou indireta em diversos processos orgânicos (BLACK M., 2003).

Muitas vezes, apesar de não se manifestarem clinicamente, as DM podem afetar o crescimento físico, o desenvolvimento mental e o amadurecimento do sistema imunológico de crianças, até mesmo de forma irreversível, quando ocorrem durante o período fetal ou nos dois primeiros anos de vida (UNDERWOOD, 1998; WELCH & GRAHAM, 1999). Ocorrendo mais tardiamente, as DM podem prejudicar o desempenho escolar de crianças, diminuir o rendimento de adultos no trabalho, reduzir a resistência a doenças e aumentar o risco de morte prematura (UNDERWOOD, 1998).

Outro ponto importante é que as deficiências de micronutrientes e as doenças infecciosas geralmente coexistem e exibem complexas interações, levando a um ciclo vicioso de desnutrição e infecções, resultando muitas vezes em quadros de desnutrição crônica (BHASKARAM, 2002; SHAMAH & VILLALPANDO, 2006). A desnutrição crônica pode comprometer o desenvolvimento físico e mental de crianças, aumentar os riscos de mortalidade e morbidade perinatais, além de ter graves consequências para a vida social de adultos (SHAMAH & VILLALPANDO, 2006), que podem exibir menor produtividade nas tarefas diárias.

Além disso, vários micronutrientes tais como vitamina A, betacaroteno, ácido fólico, vitamina B12, vitamina C, riboflavina, ferro, zinco e selênio têm funções imunoreguladoras, e por isso, influenciam na susceptibilidade do indivíduo a doenças infecciosas (BHASKARAM, 2002).

Mulheres e crianças constituem os grupos mais susceptíveis da população à fome-oculta. No caso das mulheres, esta maior vulnerabilidade deve-se, em grande parte, a gestações, amamentação e menstruação. Em crianças, o principal fator seria o rápido crescimento do corpo, característico dessa fase da vida.

Em todas estas situações, o incremento acentuado da demanda por micronutrientes torna mais difícil atingir suas quantidades adequadas (WHO, 2002).

As deficiências de ferro, iodo e vitamina A são consideradas as mais relevantes para a saúde coletiva (Figura 9), quando considerado o número de pessoas sabidamente acometidas por elas (WHO, 2000). Entretanto, a carência de zinco é também incluída neste grupo, pois apesar de não existirem dados precisos sobre sua prevalência na população – devido a dificuldades de diagnóstico – acredita-se ser tão difundida no mundo quanto a deficiência de ferro. Apesar de menos freqüentes, as deficiências de cálcio e magnésio têm aumentado na população mundial, devido a diversos fatores, como a transição nutricional (GIBSON, 1994; RAMAKRISHNAN, 2002).

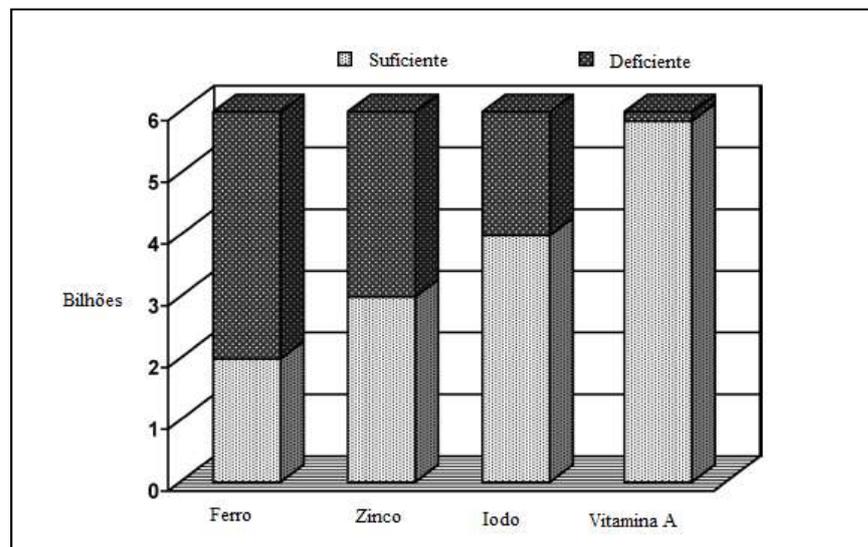


Figura 9 – Número de pessoas que sofrem das principais carências de micronutrientes no mundo.  
Fonte: Qaim, Stein, Meenakshi, 2007 (com adaptações).

#### 4.1.1. Deficiência de cálcio

Nas últimas décadas, a diminuição do consumo de leguminosas acompanhado do aumento no consumo de cereais (particularmente pobres em cálcio) fez aumentar a prevalência da carência de cálcio nos países em desenvolvimento (GRAHAM, WELCH, BOUIS, 2001).

O efeito mais comum da ingestão insuficiente de cálcio é a osteoporose. Isto porque quando se encontra em níveis diminuídos no sangue, é dado o comando

biológico para que ocorra o processo denominado reabsorção óssea, através do qual o cálcio é retirado dos ossos – que contêm cerca de 99% do cálcio corpóreo – para tentar abrandar a deficiência (HEANEY et al., 1982).

A carência de cálcio relaciona-se também com a ocorrência de osteomalacia (doença ósseo-metabólica em que há mineralização insuficiente dos ossos), hiperparatireoidismo secundário e raquitismo em crianças (PETTIFOR, 2004).

Vanderjagt e colaboradores (1999) demonstraram que a deficiência de cálcio está envolvida na aminoacidúria (excreção de aminoácidos pela urina) de crianças afetadas por raquitismo. A aminoacidúria, principalmente de aminoácidos essenciais, pode ter um impacto significativamente negativo no crescimento e desenvolvimento físico e mental.

#### **4.1.2. Deficiência de ferro**

A deficiência de ferro é a carência nutricional mais difusa no mundo, atingindo cerca de 5 bilhões de pessoas (WHO, 2000).

Crianças e mulheres em idade fértil, especialmente durante a gestação, são os grupos mais susceptíveis à anemia (RAMAKRISHNAN, 2002), conforme mostrado na Figura 10.

De forma geral, as deficiências de ferro acarretam em fadiga, debilidade das funções imunológicas e comprometem o crescimento e o desenvolvimento físico e mental (BLACK, 2003), entretanto, a mais grave e difundida manifestação da carência de ferro é a anemia.

A anemia é uma doença que atinge mais de um terço da população mundial, sendo que cerca de metade destes casos decorrem da carência de ferro (WHO, 2000) – situação em que é denominada anemia ferropriva – a qual são atribuídas 800000 mortes por ano (MAYER, PFEIFFER, BEYER, 2008).

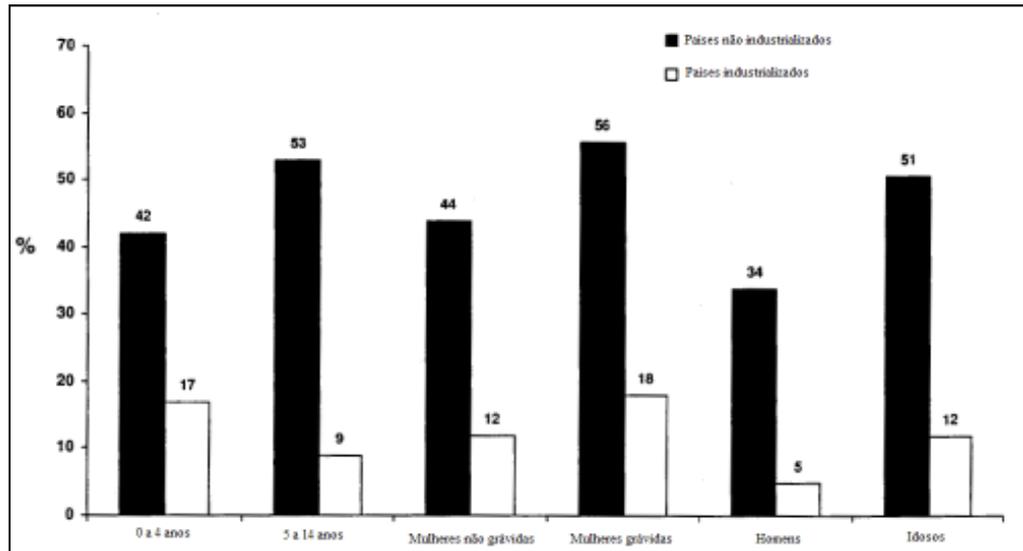


Figura 10 – Prevalência da anemia em diferentes grupos da população, por nível de desenvolvimento. Fonte: RAMAKRISHNAN, 2002 (com adaptações).

É importante salientar que apesar da deficiência de ferro ser a principal responsável pela ocorrência de anemia, outras condições também estão envolvidas: processos infecciosos (malária e ancilostomíase, e.g.), doenças crônicas e ou hereditárias (anemia falciforme, e.g.) e outras DM (vitamina B<sub>12</sub> e folato, e.g.) (ALLEN & CASTERLINE-SABEL, 2001).

Na anemia, a capacidade de captação de oxigênio pelas hemácias – células vermelhas do sangue – encontra-se reduzida, pois a falta de ferro prejudica a síntese de hemoglobina, proteína constituinte das hemácias. O ferro participa na formação do grupo heme da hemoglobina, e é no grupo heme onde a captação de oxigênio ocorre (BEARD, 2009). Assim, um aporte de ferro diminuído pode acarretar numa menor capacidade de oxigenação tecidual, devido ao papel central da hemoglobina no mecanismo de trocas gasosas no corpo humano.

Em adultos, a redução da capacidade aeróbica provocada pela anemia reduz significativamente sua capacidade física e performance laboral (MABERLY et al., 1994).

Crianças afetadas pela anemia podem apresentar problemas de crescimento físico e desenvolvimento mental (WHO, 2001) e diminuição da capacidade cognitiva (HURTADO, CLAUSSEN, SCOTT, 1999; BLACK, 2003).

Entre mães anêmicas há maiores chances de ocorrerem partos prematuros e morte do feto (ROSZKOWSKI, WOJCICKA, ZALESKA, 1966). Bebês de mães anêmicas podem nascer com baixo peso e geralmente possuem menores

reservas de ferro corpóreo, sendo que muitas vezes o leite materno dessas mulheres apresenta baixos níveis de ferro, o que pode ocasionar anemia grave nos bebês e comprometer o desenvolvimento neurofisiológico. A anemia materna é agravada no parto, devido à hemorragia e constitui-se num importante fator para a morte materna (ROSZKOWSKI, WOJCICKA, ZALESKA, 1966; WHO, 1991; WHO, 2001).

Em casos extremos, a anemia pode ocasionar hipóxia tecidual e insuficiência cardíaca, causando óbito principalmente de crianças e mulheres grávidas (WHO, 1991).

Distúrbios de comportamento, déficit de atenção (EDGERTON et al., 1982) e aumento da absorção de metais pesados pelo intestino (LIN-FU, 1973; WATSON, HUME, MOORE, 1980) são algumas de muitas outras consequências de carências de ferro, sendo estas relacionadas ou não à anemia.

#### **4.1.3. Deficiência de magnésio**

O magnésio participa de vários processos metabólicos, tais como transcrição do DNA, síntese protéica e diversas funções da membrana plasmática (WACKER & PARISI, 1968), e desempenha papel importante nas reações que utilizam nucleotídeos como cofatores ou substratos (SARIS & KHAWAJA, 1996).

A deficiência de magnésio é relativamente incomum, devido a sua ampla distribuição nos alimentos e na água, além do controle fino renal e intestinal da excreção deste mineral. Geralmente a deficiência de magnésio decorre da existência de outras doenças, e pode ter consequências graves (RUDE & SINGER, 1981).

Em condições crônicas de deficiência de magnésio, o indivíduo pode experimentar tremores musculares, fraqueza, ataxia e vertigem (FISHMAN, 1965).

Dentre os efeitos cardiovasculares relacionados à carência de magnésio destacam-se a possibilidade de ocorrência de arritmias, insuficiência cardíaca congestiva, complicações vasculares da diabetes e hipertensão (ISERI, FREED, BNRES, 1975; GOTTLIEB, 1989).

A carência de magnésio pode provocar diminuição significativa dos níveis plasmáticos de cálcio (hipocalcemia) e de potássio (hipocalemia) (RUDE et al., 1978), além de resultar no desenvolvimento de anemia (ELIN & ALLING, 1978).

#### **4.1.4. Deficiência de zinco**

A deficiência de zinco é uma condição altamente disseminada em todo o mundo. Estima-se que 2,7 bilhões de pessoas correm risco de desenvolvê-la (HOTZ & BROWN, 2004).

O zinco é essencial para o funcionamento de muitas enzimas, aparecendo na estrutura de mais de 200 metaloenzimas (RAMAKRISHNAN, 2002), muitas delas críticas para o crescimento e diferenciação celular. Este mineral está envolvido num grande número de processos metabólicos, incluindo a síntese de ácidos nucleicos, DNA e RNA (SHANKAR & PRASAD, 1998).

O zinco é especialmente importante durante períodos de rápido crescimento, tanto pré quanto pós-natais, e para tecidos que crescem e renovam-se constantemente, como o sistema imunológico e o trato gastrointestinal (BROWN, WUEHLER, PEERSON, 2001).

Funções críticas afetadas pelo estado nutricional do zinco incluem a gestação, o crescimento físico, a proteção contra infecções, o desenvolvimento neurocomportamental, (BROWN, WUEHLER, PEERSON, 2001), a expressão de genes, a biossíntese de proteínas, o desenvolvimento do esqueleto e o amadurecimento sexual (MÜLLER & KRAWINKEL, 2005).

A carência de zinco possui estreita relação com a ocorrência de diarreia e doenças respiratórias, tais como a pneumonia (BUTHA et al., 1999).

Além desses efeitos, a deficiência de zinco tem sido relacionada à subutilização da vitamina A (KHUSH, 2002), e também ao desenvolvimento de anorexia, dermatite e aumento do tempo de cicatrização de lesões cutâneas (HAMBRIDGE et al., 1972).

## 5. Biofortificação de culturas

Muitos métodos têm sido sugeridos e utilizados na tentativa de ofertar às populações alimentos mais nutritivos e diminuir a extensão da desnutrição: diversificação das dietas, fortificação e enriquecimento de alimentos e suplementação massiva de populações (MABERLY et al., 1994; UNDERWOOD & SMITASIRI, 1999; SAUTTER et al., 2006).

Porém, estas metodologias têm se mostrado insuficientes, por várias razões (SAUTTER et al., 2006), como será demonstrado a seguir.

A provisão de dietas balanceadas, obtida através da diversificação dos alimentos ofertados, poderia resolver a maioria dos casos de deficiências nutricionais (MABERLY et al., 1994). Mas, nem sempre isto é possível. O grande problema inerente a esta medida é o acesso limitado das populações pobres a frutas, verduras e carnes (WELCH & GRAHAM, 1999). Por outro lado, muitas pessoas têm acesso a uma alimentação saudável, mas optam por produtos menos nutritivos, sobressaindo as questões da educação nutricional e das mudanças de hábitos. Há também fatores relacionados à industrialização dos alimentos, que muitas vezes provoca perdas de nutrientes durante o processamento destes produtos (MABERLY et al., 1994).

A fortificação e o enriquecimento de alimentos são técnicas bastante similares entre si, usadas no combate às deficiências de micronutrientes. Na fortificação, adicionam-se um ou mais nutrientes aos alimentos nos quais naturalmente estão ausentes ou ocorrem em quantidades muito pequenas. No enriquecimento, o nutriente ou nutrientes são acrescentados a alimentos que naturalmente os possuem, mas em quantidades sub-ótimas (MABERLY et al., 1994).

Para este tipo de ação lograr êxito, o alimento fortificado/enriquecido deve ser consumido em quantidades apreciáveis pela população-alvo e possuir cor, sabor e cheiro semelhantes àquele não fortificado/enriquecido. Além disso, os preços dos dois tipos de alimentos também devem ser equivalentes (MABERLY et al., 1994; UNDERWOOD & SMITASIRI, 1999).

Quando a fortificação/enriquecimento figura como política de saúde, a autoridade sanitária deve valer-se de dispositivos legais para efetivar a ação e fiscalizar as indústrias produtoras do alimento, o que demanda esforços políticos e

muitos recursos financeiros (MABERLY et al., 1994; UNDERWOOD & SMITASIRI, 1999).

Por sua vez, a suplementação massiva de micronutrientes à população por meio da distribuição de cápsulas ou na forma de líquidos requer grandes investimentos monetários e supervisão constante, e não se mostra sustentável a longo prazo (MABERLY et al., 1994; UNDERWOOD & SMITASIRI, 1999).

Como pode ser notado, o sucesso destas três metodologias depende de vários fatores sejam eles culturais, políticos ou legais, e que sobremaneira esbarram em questões financeiras.

Contudo, cerca de 30% das populações dos países em desenvolvimento – os mais afetados pela desnutrição (WHO, 1995) – possuem acesso altamente restrito à alimentação e dispõem de escassos recursos financeiros para cultivar quaisquer espécies vegetais (FAO, 2004). Para estas populações, o fornecimento de alimentos biofortificados sem custos adicionais pode representar a solução para suas carências nutricionais mais pungentes.

A biofortificação de culturas é uma metodologia que tem sido apontada como uma importante ferramenta no combate à desnutrição (GRAHAM & WELCH, 1996; UNDERWOOD & SMITASIRI, 1999; WELCH & GRAHAM, 2004; SAUTTER et al., 2006; MAYER; PFEIFFER e BEYER, 2008; LEE, 2009). Esta técnica consiste em aumentar a biossíntese (no caso de vitaminas e proteína, e.g.) ou a acumulação (no caso de minerais) dos nutrientes desejados, o que depende da capacidade biossintética ou fisiológica das plantas.

As culturas biofortificadas podem ser obtidas através do cruzamento de plantas – desde que exista uma variação genética suficiente dentro do seu espectro de diversidade (MAYER; PFEIFFER e BEYER, 2008).

Cabe ressaltar que a biofortificação é uma intervenção sustentável (WELCH & GRAHAM, 2004), pois ela promove a melhora da qualidade nutricional (SAUTTER et al., 2006) de alimentos convencionalmente consumidos pela população, sem exacerbação dos custos para a sua obtenção.

Dentre as culturas de reserva contra fome que têm sido alvo de programas de biofortificação, a mandioca merece destaque, pois sua distribuição geográfica e importância na alimentação mundial são únicas (MONTAGNAC et al., 2009a).

## **6. Objetivos**

### **6.1. Objetivo Geral**

Avaliar o conteúdo de proteína, o perfil de aminoácidos, os conteúdos de cálcio, ferro, zinco e magnésio, além do teor de cianeto da mandioca comum e dos seus híbridos interespecíficos.

### **6.2. Objetivo Específico**

Os dados obtidos serão utilizados para selecionar cultivares mais nutritivos da mandioca.

## 7. Materiais e Métodos

### 7.1. Caracterização do cultivar e dos híbridos interespecíficos estudados

As plantas estudadas são mantidas na coleção viva de germoplasma da mandioca, localizada na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (Latitude: 15°44'14"/ Longitude: 44°52'52"). Elas constituem parte do programa de melhoramento genético da mandioca, conduzido pelo orientador deste trabalho, professor Nagib Nassar.

O híbrido interespecífico ICB 300, resultado do cruzamento entre a mandioca comum e a espécie silvestre *Manihot oligantha*, foi deixado para polinização aberta. Os frutos obtidos foram coletados, suas sementes foram extraídas e plantadas, resultando numa população de híbridos de mandioca, denominados progenias de ICB 300. Os indivíduos desta população são geneticamente distintos entre si e possuem um conjunto numérico normal de cromossomos ( $2n=36$ ).

Alguns clones do híbrido ICB 300 foram tratados com colchicina (Sigma) para induzir poliploidia. Este tratamento originou uma planta tetraplóide, cujo conjunto cromossômico encontra-se duplicado ( $4n=72$ ). A planta tetraplóide (Figura 15) também foi deixada para polinização aberta. Os frutos produzidos por ela foram coletados, as sementes foram extraídas e semeadas, resultando numa população de híbridos tetraplóides de mandioca, com indivíduos geneticamente distintos entre si.

As sementes foram cultivadas em Março de 2007, no viveiro, a uma profundidade de 2 cm. O regime de irrigação foi diário e as plântulas brotaram na segunda semana. Após a formação da 6ª folha verdadeira, as mudas foram transplantadas ao canteiro permanente.

O solo no qual as plantas se desenvolveram é do tipo latossolo vermelho (LV), segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2006).

Neste trabalho foram estudadas as plantas progenitoras ICB 300 e ICB 300 tetraplóide, 11 progenias de ICB 300 e 6 progenias de ICB 300 tetraplóide, além de um cultivar da mandioca comum, totalizando 20 plantas.

O exemplar de mandioca comum avaliado é um cultivar local, bastante consumido e apreciado no Distrito Federal, e encontra-se estabelecido na Estação Experimental de Biologia.

Na tabela 1, encontram-se discriminadas as plantas estudadas e suas correspondentes denominações, que serão utilizadas ao longo do texto.

Tabela 1 – Plantas estudadas e suas denominações correspondentes.

| <b>Grupo</b>       | <b>Planta</b>                   | <b>Denominação</b> |
|--------------------|---------------------------------|--------------------|
| <b>Controle</b>    | Cultivar da mandioca comum      | Cultivar 530       |
|                    | ICB 300 progenitora             | ICB 300            |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 3       | ICB 300-3          |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 5       | ICB 300-5          |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 7       | ICB 300-7          |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 10      | ICB 300-10         |
| <b>Diplóide</b>    | Progenia de ICB 300 nº. 12      | ICB 300-12         |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 17      | ICB 300-17         |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 18      | ICB 300-18         |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 25      | ICB 300-25         |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 34      | ICB 300-34         |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 37      | ICB 300-37         |
|                    | Progenia de ICB 300 nº. 38      | ICB 300-38         |
|                    | ICB 300 tetraplóide progenitora | ICB 300 TE         |
|                    | ICB 300 tetraplóide nº. 2       | ICB 300 TE-2       |
|                    | ICB 300 tetraplóide nº.8        | ICB 300 TE-8       |
| <b>Tetraplóide</b> | ICB 300 tetraplóide nº.10       | ICB 300 TE-10      |
|                    | ICB 300 tetraplóide nº.12       | ICB 300 TE-12      |
|                    | ICB 300 tetraplóide nº.15       | ICB 300 TE-15      |
|                    | ICB 300 tetraplóide nº.16       | ICB 300 TE-16      |

O parênquima de reserva das raízes das 20 plantas foi analisado quanto ao teor de proteína; perfil de aminoácidos; nível de cianeto total e conteúdo dos micronutrientes cálcio, ferro, zinco e magnésio.

## 7.2. Coleta das amostras

A coleta das amostras para as análises realizou-se no mesmo dia. De cada planta foram coletadas 3 raízes tuberosas.

Após a retirada do solo, acondicionaram-se as raízes em sacos de papel identificados. As raízes foram mantidas a  $-10^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

Seguiram-se diferentes procedimentos de preparo das amostras, de acordo com o método de análise aos quais seriam submetidas.

### **7.3. Quantificação de proteína**

A quantificação de proteína foi realizada através da determinação de nitrogênio total, a partir da mineralização das amostras para converter nitrogênio orgânico em íon amônio ( $\text{N}^-$ ;  $\text{NH}_4^+$ ), como no método Kjeldahl (AOC, 1990), seguida pela determinação do íon amônio por fotolorimetria como descrito por Baethgen e Alley (1989).

Separadamente, uma fração de cada uma das 3 raízes de cada planta foi descongelada, lavada com água destilada, descascada e cortada em pequenos pedaços. Estes foram submetidos à maceração sob nitrogênio líquido, e a massa obtida foi levada à estufa ( $37^{\circ}\text{C}$ ) por 72 horas. Após esse tempo, as amostras foram maceradas novamente, obtendo-se uma fina farinha.

Para cada planta o ensaio foi realizado em triplicata, segundo o que se segue: Num tubo de mineralização, cerca de 0,02g de farinha foi aquecida num bloco microdigestor (Tecnal) com 1,5 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) PA e 1,1g de catalisador composto de sulfato de potássio PA ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ), sulfato de cobre PA ( $\text{CuSO}_4$ ) e selênio metálico PA (Se) (100:10:1), por 15 minutos a  $100^{\circ}\text{C}$ , 20 minutos a  $150^{\circ}\text{C}$  e  $250^{\circ}\text{C}$ , 30 minutos a  $300^{\circ}\text{C}$  e 45 minutos a  $400^{\circ}\text{C}$ . Após resfriamento à temperatura ambiente, o mineralizado foi transferido para balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com água deionizada (sistema Milli-Q, Millipore Corporation). Desta solução, alíquotaram-se 100  $\mu\text{L}$ , que foram transferidos para um tubo de ensaio. Adicionaram-se 900  $\mu\text{L}$  de solução diluente (catalisador, ácido sulfúrico 1,1M e água deionizada), 5500  $\mu\text{L}$  de solução 1 (fosfato de sódio dibásico, tartarato de sódio e potássio, hidróxido de sódio e água deionizada), 4000  $\mu\text{L}$  de

solução 2 (salicilato de sódio, nitroprussiato de sódio e água deionizada) e 2000  $\mu\text{L}$  de solução 3 (hipoclorito de sódio 5,25% e água deionizada). Agitou-se o tubo após a adição de cada uma das soluções em vortex. O tubo foi incubado em banho-maria por 15 minutos a 37°C. A leitura foi feita em espectrofotômetro (Biochrom Libra S12) a 650 nm. Utilizou-se o fator de conversão de 3,24 para transformar os valores de nitrogênio total em proteína (YEOH & TRUONG, 1996). Os valores foram expressos em percentual de proteína com relação à massa seca de amostra.

Foi utilizada uma curva padrão construída com solução padrão de sulfato de amônio PA, nas concentrações de 0; 2,5; 3,8; 5,1; 6,4; 7,6; 8,9; 10,2; 11,4; 12,7  $\mu\text{g}$  de nitrogênio. $\text{mL}^{-1}$  e comprimento de onda 650 nm (BAETHGEN e ALLEY, 1989). A equação da reta obtida foi  $y=0,1062x+0,04$  ( $R^2=0,995$ ).

Para a determinação da exatidão do método, utilizou-se como referência albumina sérica bovina isolada e purificada (BSA; Sigma, A-4378). A exatidão obtida foi de 93%.

#### **7.4. Perfil de aminoácidos**

A análise do perfil de aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com o método descrito por NASSAR & SOUSA (2007a).

Para cada planta, um segmento de cada um dos 3 tubérculos coletados foi descongelado, lavado com água destilada, descascado e cortado em pequenos pedaços. Estes foram submetidos à maceração sob nitrogênio líquido. A massa obtida foi centrifugada a vácuo (SpeedVac Savant, USA) e liofilizada.

Adicionaram-se 1000 mL de ácido clorídrico (HCl) 10 mM a cerca de 500 mg de amostra, agitando-se a 1200 rpm em Thermomixer (Eppendorf, Hamburg, Germany) por 4 horas, a 25°C e a 6000 rpm por 4 minutos em centrífuga de bancada. O sobrenadante (extrato ácido) e o material sólido remanescente foram secos através de centrifugação a vácuo (SpeedVac Savant, USA). O pó seco obtido na etapa anterior foi acrescido de 1000 mL de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 10 mM, obtendo-se um extrato alcalino. Resuspendeu-se o extrato ácido com 750  $\mu\text{L}$  de HCl

10 mM, lavado com mais 750  $\mu\text{L}$  deste ácido. Acrescentaram-se, então, 750  $\mu\text{L}$  do extrato alcalino. O extrato total foi dialisado com água deionizada (sistema Milli-Q, Millipore Corporation) e centrifugado à vácuo, resultando no extrato total seco (ETS). Dissolveram-se 150mg do ETS em 75  $\mu\text{L}$  de HCl 100 mM, submetendo-se a hidrólise ácida por 24 horas, a 109°C e sob vácuo. Em seguida, as amostras hidrolisadas foram diluídas em 75  $\mu\text{L}$  de HCl 100 mM. Injetaram-se 50  $\mu\text{L}$  desta solução no cromatógrafo (Amino acid analyzer - Hitachi L8500, Tokyo – Japan). As análises foram realizadas em triplicata. Foi utilizada como padrão mistura de aminoácidos não-fisiológicos (Ajinomoto Inc. Co., Tokyo), na concentração de 2,5  $\text{nmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$  para todos os aminoácidos, exceto para a prolina, cuja concentração foi de 5,0  $\text{nmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ . Os dados foram expressos em gramas de aminoácido por 100 gramas de proteína, com relação à massa seca.

### **7.5. Cianeto Total**

Para a determinação do Cianeto Total foi utilizado o método proposto por Brito e colaboradores (2009). Este método consiste na hidrólise da linamarina pela linamarase endógena da amostra analisada, adicionada de preparado enzimático comercial. O cianeto liberado reage colorimetricamente com uma solução de picrato, procedendo-se a leitura em espectrofotômetro.

Imediatamente antes do início de cada ensaio, lavou-se com água destilada uma porção de cada uma das 3 raízes da planta a ser analisada. As porções de raiz foram descascadas, retirando-se a feloderme. A raiz descascada foi cortada em finos discos, e estes foram submetidos à maceração sob nitrogênio líquido, resultando numa massa finamente granulada. A massa fora acondicionada em frasco com tampa, tendo reserva de nitrogênio líquido.

Pesaram-se cerca de 3g da massa obtida na etapa anterior e adicionaram-se 50 mL de água destilada. A mistura foi agitada manualmente por 60 segundos, com o erlenmeyer fechado. Adicionaram-se 1000  $\mu\text{L}$  de suspensão enzimática contendo a betaglicosidase comercial Cellubrix (Novozymes, Denmark), diluída a 1:100, homogeneizando-se a mistura. O erlenmeyer tampado foi incubado em banho-maria (37°C) por 15 minutos. A reação foi interrompida com 15  $\mu\text{L}$  de

ácido sulfúrico PA concentrado. Em seguida, filtrou-se a amostra em papel filtro qualitativo (185 mm - Whatman Sheleicher & Schuell), obtendo-se um extrato líquido opaco. A um tubo de ensaio com tampa adicionaram-se 1000  $\mu\text{L}$  do extrato, 1000  $\mu\text{L}$  de solução saturada de ácido pícrico ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_6$ ), 1000  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 5% e 1000  $\mu\text{L}$  de água destilada. O tubo foi levado à banho-maria ( $37^\circ\text{C}$ ) por 15 minutos. As leituras das absorvâncias foram feitas em espectrofotômetro (Pharmacia Biotech, Brasil) a 535 nm. As análises foram realizadas em triplicata, fazendo-se para cada bateria de ensaios um teste branco. Os valores foram expressos em  $\text{mg}$  de  $\text{CN}^- \cdot \text{kg}^{-1}$ .

A curva padrão foi construída utilizando-se uma solução-estoque de cianeto de potássio PA (Vetec) a 26  $\mu\text{g}$  de  $\text{CN}^- \cdot \text{mL}^{-1}$ , diluída em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,01M. A partir da solução-estoque obtiveram-se soluções intermediárias nas concentrações de 0,00; 0,26; 0,52; 1,30; 2,6; 3,90 e 13  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . A concentração de cianeto nestas soluções foi determinada a partir da dissolução de 40  $\mu\text{L}$  de cada uma delas a 1000  $\mu\text{L}$  de solução saturada de ácido pícrico, 1000  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio 5% e 1960  $\mu\text{L}$  de água destilada. Os tubos foram incubados em banho-maria ( $37^\circ\text{C}$ ) por 15 minutos. Adicionaram-se 15  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico PA concentrado a cada um dos tubos e procederam-se as leituras em espectrofotômetro a 535 nm. A equação da reta obtida foi  $y=50,017x-0,0142$  ( $R^2=0,9959$ ).

## 7.6. Micronutrientes

A quantificação dos micronutrientes cálcio, ferro, magnésio e zinco nas amostras foi realizada através de espectrofotometria de absorção atômica, de acordo com o método descrito por Allen (1989).

Uma porção de cada uma das 3 raízes das plantas analisadas foram descongeladas, lavadas com água deionizada (sistema Milli-Q, Millipore Corporation), descascadas e cortadas em pequenos pedaços com o auxílio de faca de plástico. Os pedaços foram macerados e secos em estufa ( $37^\circ\text{C}$ ) por 72 horas. As amostras foram maceradas novamente após este tempo, obtendo-se uma farinha fina.

Aproximadamente 0,4g das amostras de farinha foram digeridas em bloco microdigestor (Tecnal), utilizando-se 5 mL de uma solução composta dos ácidos sulfúrico, nítrico e perclórico na proporção de 1:10:2, a 150°C, até que as amostras se tornassem incolores. Em seguida, os extratos foram transferidos para balões volumétricos de 100 mL, completando-se o volume com água deionizada. Os digeridos foram, então, armazenados em frascos com tampa.

Foi construída uma curva padrão para cada um dos minerais quantificados. Na obtenção da curva padrão de cálcio utilizou-se uma solução-padrão de 1000 ppm de carbonato de cálcio PA (Ecibra), nas concentrações 5; 10; 20; 30; 40 e 50 ppm. Para a construção da curva padrão de ferro, partiu-se de uma solução-padrão de 100 ppm de ferro metálico PA (Synth), nas concentrações 0,5; 1; 2; 4 e 8 ppm. A curva padrão de magnésio foi obtida a partir de uma solução-padrão de 1000 ppm de magnésio metálico PA (Mallinckrodt AR), nas concentrações 2; 4; 8; 12; 16 e 20 ppm. No preparo da curva padrão de zinco utilizou-se uma solução-padrão de 100 ppm de zinco metálico PA (Synth), nas concentrações 0,1; 0,2 e 0,4 ppm. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) para cálcio e magnésio, e em  $\text{mg.kg}^{-1}$  para ferro e zinco. Os valores referem-se à massa seca das raízes de mandioca. Todas as vidrarias utilizadas nos procedimentos foram deixadas em HCl 10% por 3 horas e lavadas com  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada (BARANOWSKA, CZERNICKI, ALEKSANDROWICZ, 1995).

### **7.7. Análise Estatística**

A normalidade dos dados foi averiguada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Procedeu-se a análise de variância de fator único para as diferenças encontradas entre o grupo controle (cultivar da mandioca comum) e os grupos diplóide e poliplóide. As diferenças entre os indivíduos foram comparadas através do teste ANOVA múltiplas comparações com correção de Bonferroni. Empregou-se, para tais análises, o pacote estatístico SAS – Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., North Carolina, USA, 1999), versão 9.0.

## 8. Resultados

### 8.1. Proteína

Foi observada uma grande variação no teor de proteína entre as 20 plantas estudadas. As plantas ICB 300-34, ICB 300-18 e ICB 300-38 apresentaram os maiores teores de proteína, enquanto que a planta ICB 300 TE-8 apresentou um dos menores valores (Tabela 2).

No grupo diplóide, os híbridos ICB 300-34, ICB 300-18, ICB 300-38, ICB 300-12 e ICB 300-7 demonstraram teores de proteína mais elevados do que o teor de ICB 300, a planta-mãe destes indivíduos (Tabela 2).

Dentre as plantas tetraplóides, a progenitora ICB 300 TE apresentou o maior conteúdo de proteína. Os níveis de proteína das outras plantas do referido grupo não diferiram estatisticamente daquele apresentado pelo cultivar comum da mandioca, a planta 530 (Tabela 2).

Tabela 2 – Conteúdos de proteína nos tubérculos das plantas estudadas.

| PLANTA        | PROTEÍNA (%)        |        |
|---------------|---------------------|--------|
| ICB 300-34    | 5,78 <sup>a</sup>   | ± 0,20 |
| ICB 300-18    | 5,71 <sup>a</sup>   | ± 0,37 |
| ICB 300-38    | 5,64 <sup>a</sup>   | ± 0,01 |
| ICB 300-12    | 5,33 <sup>ab</sup>  | ± 0,37 |
| ICB 300 TE    | 5,09 <sup>b</sup>   | ± 0,05 |
| ICB 300-7     | 4,35 <sup>c</sup>   | ± 0,10 |
| ICB 300-17    | 3,88 <sup>cd</sup>  | ± 0,15 |
| ICB 300       | 3,50 <sup>de</sup>  | ± 0,01 |
| ICB 300-3     | 3,44 <sup>de</sup>  | ± 0,02 |
| ICB 300-37    | 3,42 <sup>de</sup>  | ± 0,07 |
| ICB 300-5     | 3,06 <sup>ef</sup>  | ± 0,08 |
| ICB 300 TE-2  | 2,56 <sup>fg</sup>  | ± 0,01 |
| ICB 300 TE-12 | 2,51 <sup>gh</sup>  | ± 0,06 |
| ICB 300-10    | 2,50 <sup>gh</sup>  | ± 0,35 |
| ICB 300 TE-15 | 2,36 <sup>gh</sup>  | ± 0,15 |
| 530           | 2,30 <sup>ghi</sup> | ± 0,06 |
| ICB 300 TE-10 | 2,29 <sup>ghi</sup> | ± 0,04 |
| ICB 300-25    | 2,16 <sup>ghi</sup> | ± 0,06 |

|                      |                    |   |      |
|----------------------|--------------------|---|------|
| <b>ICB 300 TE-16</b> | 1,97 <sup>ni</sup> | ± | 0,12 |
| <b>ICB 300 TE-8</b>  | 1,80 <sup>i</sup>  | ± | 0,09 |

Os dados correspondem à média e desvio padrão. Conteúdos de proteína com relação à massa seca. Valores seguidos de letras iguais não são significativamente diferentes para  $P < 0,05$ .

## 8.2. Perfil de aminoácidos

As composições de aminoácidos dos tubérculos das 20 plantas estudadas encontram-se nas tabelas 3, 4 e 5. Os valores foram expressos em gramas de aminoácido por 100 gramas de extraído aminoacídico. O extraído aminoacídico corresponde a aminoácidos livres, provenientes tanto de proteínas quanto de aminoácidos que já se encontravam livres nas amostras das raízes. Não foi possível quantificar triptofano, pois este é degradado durante a hidrólise ácida (NASSAR & SOUSA, 2005).

Em todas as plantas estudadas o aminoácido que se apresentou em maior proporção foi a glutamina (Tabelas 3, 4 e 5).

O híbrido ICB 300-5 apresentou os maiores níveis dos aminoácidos essenciais valina, metionina, isoleucina e leucina dentre todas as plantas analisadas, além de proporções elevadas de fenilalanina e treonina, que também são aminoácidos essenciais. O aminoácido condicionalmente essencial cisteína apareceu em alta proporção na proteína dos tubérculos de ICB 300-5 (Tabela 3).

Tabela 3 – Perfil de aminoácidos das raízes do exemplar de mandioca comum (cultivar 530), do híbrido interespecífico ICB 300 e de 4 de suas progenias.

| Aminoácido        | 530                                | ICB 300 | ICB 300-3 | ICB 300-5 | ICB 300-7 | ICB 300-10 |
|-------------------|------------------------------------|---------|-----------|-----------|-----------|------------|
|                   | Composição de aminoácidos (g/100g) |         |           |           |           |            |
| <b>Asparagina</b> | 4,06                               | 3,21    | 3,74      | 3,68      | 5,17      | 5,49       |
| <b>Treonina</b>   | 1,59                               | 1,52    | 2,66      | 2,16      | 2,17      | 3,41       |
| <b>Serina</b>     | 2,64                               | 2,53    | 4,79      | 3,18      | 3,39      | 2,70       |
| <b>Glutamina</b>  | 51,95                              | 34,00   | 45,88     | 28,41     | 22,18     | 33,33      |
| <b>Glicina</b>    | 2,33                               | 1,61    | 1,95      | 2,08      | 2,98      | 3,07       |
| <b>Alanina</b>    | 8,53                               | 7,82    | 6,91      | 6,79      | 14,11     | 14,98      |
| <b>Cisteína</b>   | 1,12                               | 3,46    | 0,60      | 5,04      | 0,85      | 0,82       |
| <b>Valina</b>     | 2,37                               | 3,11    | 2,58      | 4,69      | 2,40      | 2,51       |
| <b>Metionina</b>  | 1,45                               | 3,32    | 0,88      | 4,74      | 1,13      | 1,58       |
| <b>Isoleucina</b> | 0,93                               | 1,88    | 1,31      | 2,37      | 1,17      | 1,56       |

|                     |        |        |        |        |        |        |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Leucina</b>      | 1,28   | 2,45   | 1,27   | 3,19   | 1,79   | 1,93   |
| <b>Tirosina</b>     | 0,00   | 0,00   | 0,00   | 0,94   | 0,00   | 0,04   |
| <b>Fenilalanina</b> | 1,96   | 2,98   | 1,89   | 3,33   | 2,90   | 3,10   |
| <b>Lisina</b>       | 1,76   | 1,61   | 1,72   | 1,89   | 2,23   | 1,98   |
| <b>Histidina</b>    | 3,85   | 5,70   | 2,81   | 3,77   | 4,52   | 3,24   |
| <b>Arginina</b>     | 12,18  | 23,78  | 17,74  | 23,13  | 28,52  | 15,16  |
| <b>Prolina</b>      | 2,01   | 1,02   | 3,27   | 0,62   | 4,48   | 5,10   |
| <b>Total</b>        | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |

As raízes de ICB 300-12 mostraram as maiores proporções de treonina e leucina, além de altos conteúdos de valina, isoleucina, fenilalanina e cisteína (Tabela 4).

O conteúdo de lisina nas progenias ICB 300-38 e ICB 300-17 (Tabela 4) foi superior a encontrada para o cultivar de mandioca comum (Tabela 3).

Tabela 4 – Perfil de aminoácidos das raízes de 7 progenias de ICB 300.

| <b>Aminoácido</b>                         | <b>ICB 300-12</b> | <b>ICB 300-17</b> | <b>ICB 300-18</b> | <b>ICB 300-25</b> | <b>ICB 300-34</b> | <b>ICB 300-37</b> | <b>ICB 300-38</b> |
|-------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Composição de aminoácidos (g/100g)</b> |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
| <b>Asparagina</b>                         | 7,46              | 2,80              | 4,92              | 3,87              | 5,24              | 10,60             | 3,50              |
| <b>Treonina</b>                           | 3,95              | 1,99              | 2,35              | 2,20              | 0,83              | 1,09              | 2,15              |
| <b>Serina</b>                             | 4,52              | 2,55              | 2,69              | 3,61              | 0,73              | 2,24              | 2,91              |
| <b>Glutamina</b>                          | 21,61             | 23,33             | 43,65             | 42,73             | 58,51             | 26,50             | 30,32             |
| <b>Glicina</b>                            | 0,00              | 2,68              | 2,63              | 2,66              | 0,00              | 2,69              | 2,77              |
| <b>Alanina</b>                            | 8,24              | 10,97             | 14,23             | 7,49              | 0,00              | 1,70              | 9,80              |
| <b>Cisteína</b>                           | 20,23             | 2,07              | 0,86              | 0,47              | 21,13             | 8,67              | 3,26              |
| <b>Valina</b>                             | 3,42              | 0,28              | 2,53              | 2,11              | 2,38              | 2,42              | 0,01              |
| <b>Metionina</b>                          | 0,42              | 0,68              | 1,36              | 1,16              | 0,00              | 4,48              | 0,86              |
| <b>Isoleucina</b>                         | 1,76              | 1,08              | 1,34              | 1,20              | 0,27              | 0,61              | 1,02              |
| <b>Leucina</b>                            | 4,51              | 1,56              | 1,89              | 1,59              | 0,27              | 0,68              | 1,49              |
| <b>Tirosina</b>                           | 0,00              | 0,00              | 0,00              | 0,01              | 0,00              | 0,00              | 0,00              |
| <b>Fenilalanina</b>                       | 3,74              | 1,45              | 3,14              | 2,34              | 0,00              | 2,35              | 1,44              |
| <b>Lisina</b>                             | 0,92              | 7,99              | 1,69              | 2,21              | 0,00              | 1,57              | 10,16             |
| <b>Histidina</b>                          | 0,00              | 4,64              | 3,21              | 3,73              | 0,00              | 0,00              | 5,27              |
| <b>Arginina</b>                           | 19,20             | 33,28             | 10,54             | 18,59             | 10,65             | 34,37             | 21,12             |
| <b>Prolina</b>                            | 0,00              | 2,64              | 2,98              | 4,04              | 0,00              | 0,00              | 3,90              |
| <b>Total</b>                              | 100,00            | 100,00            | 100,00            | 100,00            | 100,00            | 100,00            | 100,00            |

A planta ICB 300 TE-10 exibiu conteúdos elevados de aminoácidos essenciais, com destaque para valina, metionina, isoleucina, fenilalanina, lisina e histidina (Tabela 5).

A progenitora tetraplóide ICB 300 TE (Tabela 5) mostrou proporção cerca de quatro vezes maior de fenilalanina e prolina do que o cultivar da mandioca comum (Tabela 3).

O híbrido ICB 300 TE-16 destacou-se por apresentar altos níveis de treonina, valina e leucina (Tabela 5).

Tabela 5 – Perfil de aminoácidos das raízes das plantas tetraplóides estudadas.

| Aminoácido                                | ICB 300<br>TE | ICB 300<br>TE-2 | ICB 300<br>TE-8 | ICB 300<br>TE-10 | ICB 300<br>TE-12 | ICB 300<br>TE-15 | ICB 300<br>TE-16 |
|-------------------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>Composição de aminoácidos (g/100g)</b> |               |                 |                 |                  |                  |                  |                  |
| <b>Asparagina</b>                         | 7,82          | 3,98            | 4,53            | 5,05             | 7,29             | 6,75             | 6,93             |
| <b>Treonina</b>                           | 2,44          | 2,33            | 2,32            | 2,95             | 2,09             | 2,29             | 3,17             |
| <b>Serina</b>                             | 4,49          | 3,19            | 2,96            | 4,56             | 2,58             | 3,74             | 3,90             |
| <b>Glicina</b>                            | 3,14          | 2,49            | 1,82            | 5,25             | 2,50             | 2,98             | 4,03             |
| <b>Alanina</b>                            | 15,22         | 11,98           | 8,64            | 16,70            | 10,42            | 10,82            | 16,84            |
| <b>Cisteína</b>                           | 1,13          | 1,01            | 1,58            | 1,78             | 0,00             | 1,22             | 1,47             |
| <b>Valina</b>                             | 2,93          | 2,81            | 2,47            | 4,18             | 2,65             | 2,71             | 4,16             |
| <b>Metionina</b>                          | 1,63          | 1,59            | 0,66            | 2,12             | 0,61             | 1,69             | 1,62             |
| <b>Isoleucina</b>                         | 1,28          | 1,33            | 1,12            | 1,87             | 1,23             | 1,37             | 1,63             |
| <b>Leucina</b>                            | 2,12          | 1,96            | 1,59            | 3,01             | 1,90             | 2,08             | 2,82             |
| <b>Tirosina</b>                           | 0,00          | 0,00            | 0,00            | 0,00             | 0,00             | 0,00             | 0,00             |
| <b>Fenilalanina</b>                       | 4,40          | 3,24            | 2,46            | 3,85             | 2,47             | 2,10             | 4,11             |
| <b>Lisina</b>                             | 1,93          | 2,04            | 1,68            | 3,42             | 1,30             | 1,55             | 1,94             |
| <b>Histidina</b>                          | 4,98          | 2,65            | 3,96            | 5,34             | 4,08             | 2,55             | 3,03             |
| <b>Arginina</b>                           | 19,38         | 20,19           | 26,62           | 15,82            | 6,86             | 4,53             | 9,43             |
| <b>Prolina</b>                            | 7,52          | 3,76            | 1,68            | 3,04             | 4,36             | 7,60             | 4,47             |
| <b>Total</b>                              | 100,00        | 100,00          | 100,00          | 100,00           | 100,00           | 100,00           | 100,00           |

### 8.3. Cianeto Total

Os teores de cianeto total variaram de 19,73 a 172,56 mg.Kg<sup>-1</sup>, conforme apontado na tabela 6.

As análises mostraram que as plantas ICB 300-37, ICB 300-18 e ICB 300-TE possuem os maiores teores de cianeto total. Por outro lado, ICB 300 TE-10, ICB 300 TE-8 e ICB 300 TE-16 exibiram os menores níveis cianogênicos (Tabela 6).

A progenia ICB 300-7 e o cultivar da mandioca comum, planta 530, demonstraram teores estatisticamente equivalentes de cianeto (Tabela 6).

Tabela 6 – Teor de cianeto total das plantas estudadas.

| PLANTA        | CN Total (mg.kg <sup>-1</sup> ) |        |
|---------------|---------------------------------|--------|
| ICB 300 TE-10 | 19,73 <sup>a</sup>              | ± 0,00 |
| ICB 300 TE-8  | 31,50 <sup>b</sup>              | ± 0,19 |
| ICB 300 TE-16 | 33,39 <sup>b</sup>              | ± 2,52 |
| ICB 300 TE-2  | 36,39 <sup>bc</sup>             | ± 0,33 |
| ICB 300-25    | 41,61 <sup>c</sup>              | ± 1,02 |
| 530           | 50,61 <sup>d</sup>              | ± 0,96 |
| ICB 300-7     | 54,94 <sup>de</sup>             | ± 0,77 |
| ICB 300-12    | 56,27 <sup>e</sup>              | ± 2,79 |
| ICB 300 TE-15 | 66,60 <sup>f</sup>              | ± 1,64 |
| ICB 300-10    | 73,04 <sup>g</sup>              | ± 0,67 |
| ICB 300-5     | 78,15 <sup>gh</sup>             | ± 1,54 |
| ICB 300 TE-12 | 80,71 <sup>h</sup>              | ± 0,33 |
| ICB 300       | 83,15 <sup>h</sup>              | ± 0,69 |
| ICB 300-17    | 93,26 <sup>i</sup>              | ± 1,35 |
| ICB 300-34    | 98,48 <sup>ij</sup>             | ± 0,51 |
| ICB 300-38    | 99,92 <sup>j</sup>              | ± 0,19 |
| ICB 300-3     | 110,25 <sup>k</sup>             | ± 2,04 |
| ICB 300 TE    | 130,58 <sup>l</sup>             | ± 1,95 |
| ICB 300-18    | 132,13 <sup>l</sup>             | ± 2,71 |
| ICB 300-37    | 172,56 <sup>m</sup>             | ± 4,03 |

Os dados correspondem à média e desvio padrão. Potenciais cianogênicos com relação à polpa fresca da raiz. Valores seguidos de letras iguais não diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

## 8.4. Micronutrientes

### 8.4.1. Cálcio

Os conteúdos de cálcio determinados pelas análises variaram de 0,099 a 0,535%, sendo que os híbridos ICB 300-7, ICB 300, ICB 300-17 e ICB 300-12 demonstraram os teores mais elevados (Tabela 7).

O nível de cálcio apresentado pela planta progenitora ICB 300 TE não diferiu estatisticamente daquele exibido pelo cultivar de mandioca comum (Tabela 7).

Tabela 7 – Porcentagens de cálcio dos tubérculos das plantas analisadas.

| PLANTA        | CÁLCIO (%)              |         |
|---------------|-------------------------|---------|
| ICB 300-7     | 0,535 <sup>a</sup>      | ± 0,058 |
| ICB 300       | 0,342 <sup>b</sup>      | ± 0,003 |
| ICB 300-17    | 0,336 <sup>b</sup>      | ± 0,010 |
| ICB 300-12    | 0,321 <sup>b</sup>      | ± 0,008 |
| ICB 300-3     | 0,260 <sup>c</sup>      | ± 0,011 |
| ICB 300-18    | 0,242 <sup>cd</sup>     | ± 0,001 |
| ICB 300 TE-10 | 0,241 <sup>cd</sup>     | ± 0,002 |
| ICB 300-38    | 0,216 <sup>cde</sup>    | ± 0,005 |
| ICB 300 TE-15 | 0,195 <sup>def</sup>    | ± 0,001 |
| 530           | 0,187 <sup>etg</sup>    | ± 0,029 |
| ICB 300 TE    | 0,185 <sup>etg</sup>    | ± 0,002 |
| ICB 300 TE-2  | 0,182 <sup>etgh</sup>   | ± 0,002 |
| ICB 300-10    | 0,168 <sup>etghi</sup>  | ± 0,012 |
| ICB 300-34    | 0,158 <sup>tg hij</sup> | ± 0,003 |
| ICB 300-5     | 0,137 <sup>ghijk</sup>  | ± 0,001 |
| ICB 300 TE-16 | 0,133 <sup>hijk</sup>   | ± 0,002 |
| ICB 300 TE-12 | 0,124 <sup>ijk</sup>    | ± 0,006 |
| ICB 300-37    | 0,124 <sup>ijk</sup>    | ± 0,001 |
| ICB 300-25    | 0,115 <sup>jk</sup>     | ± 0,004 |
| ICB 300 TE-8  | 0,099 <sup>k</sup>      | ± 0,004 |

Os dados correspondem à média e desvio padrão. Níveis de cálcio com relação à massa seca. Letras iguais indicam que não houve diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ).

#### 8.4.2. Ferro

O teor de ferro nas 20 plantas analisadas variou de 4,25 a 107,58 mg.kg<sup>-1</sup>. O maior conteúdo de ferro foi apresentado pelo híbrido ICB 300-7, seguido dos valores demonstrados pelas plantas ICB 300-18, ICB 300-10, ICB 300 TE-10, ICB 300-5, ICB 300-17 e ICB 300-25 (Tabela 8).

A progenitora ICB 300 apresentou nível de ferro superior àquele exibido pelo cultivar de mandioca comum, enquanto que a planta progenitora dos indivíduos tetraplóides, ICB 300 TE, não diferiu estatisticamente do cultivar (Tabela 8).

Tabela 8 – Teores de ferro das raízes das plantas estudadas.

| PLANTA        | FERRO (mg.kg <sup>-1</sup> ) |   |       |
|---------------|------------------------------|---|-------|
| ICB 300-7     | 107,58 <sup>a</sup>          | ± | 1,17  |
| ICB 300-18    | 59,25 <sup>b</sup>           | ± | 14,78 |
| ICB 300-10    | 58,75 <sup>b</sup>           | ± | 9,50  |
| ICB 300 TE-10 | 47,33 <sup>bc</sup>          | ± | 1,01  |
| ICB 300-5     | 35,75 <sup>bcd</sup>         | ± | 3,31  |
| ICB 300-17    | 35,67 <sup>bcd</sup>         | ± | 13,09 |
| ICB 300-25    | 34,83 <sup>bcd</sup>         | ± | 4,49  |
| ICB 300-3     | 34,17 <sup>cd</sup>          | ± | 14,15 |
| ICB 300 TE-12 | 33,67 <sup>cde</sup>         | ± | 1,04  |
| ICB 300 TE-2  | 33,08 <sup>cde</sup>         | ± | 2,90  |
| ICB 300-12    | 32,93 <sup>cde</sup>         | ± | 7,14  |
| ICB 300       | 32,25 <sup>cde</sup>         | ± | 3,50  |
| ICB 300-34    | 25,08 <sup>cdef</sup>        | ± | 4,23  |
| ICB 300-38    | 22,58 <sup>def</sup>         | ± | 3,36  |
| ICB 300 TE-15 | 18,25 <sup>def</sup>         | ± | 10,21 |
| ICB 300-37    | 16,25 <sup>def</sup>         | ± | 3,61  |
| ICB 300 TE    | 13,83 <sup>def</sup>         | ± | 11,61 |
| ICB 300 TE-16 | 9,50 <sup>ef</sup>           | ± | 7,37  |
| ICB 300 TE- 8 | 6,33 <sup>f</sup>            | ± | 2,13  |
| 530           | 4,25 <sup>f</sup>            | ± | 1,32  |

Os dados correspondem à média e desvio padrão. Teores de ferro com relação à massa seca. Valores seguidos de letras iguais não são estatisticamente diferentes (P<0,05).

#### 8.4.3. Magnésio

Os conteúdos de magnésio demonstrados pelas plantas variaram entre 0,050 e 0,188%. Os maiores níveis deste nutriente foram exibidos pelas raízes dos híbridos ICB 300, ICBB 300-38, ICB 300-17 e ICB 300-7. As plantas ICB 300-25 e ICB 300-12 apresentaram os menores teores de magnésio (Tabela 9).

Tabela 9 – Porcentagens de magnésio nas raízes das plantas estudadas.

| PLANTA        | MAGNÉSIO (%)                 |
|---------------|------------------------------|
| ICB 300       | 0,188 <sup>a</sup> ± 0,002   |
| ICB 300-38    | 0,157 <sup>b</sup> ± 0,002   |
| ICB 300-17    | 0,132 <sup>c</sup> ± 0,002   |
| ICB 300-7     | 0,122 <sup>d</sup> ± 0,001   |
| ICB 300 TE-10 | 0,109 <sup>e</sup> ± 0,003   |
| ICB 300 TE-16 | 0,105 <sup>ef</sup> ± 0,001  |
| ICB 300-37    | 0,102 <sup>efg</sup> ± 0,003 |
| 530           | 0,099 <sup>fg</sup> ± 0,009  |
| ICB 300-3     | 0,093 <sup>gh</sup> ± 0,003  |
| ICB 300 TE    | 0,088 <sup>h</sup> ± 0,002   |
| ICB 300-12    | 0,087 <sup>h</sup> ± 0,002   |
| ICB 300-34    | 0,086 <sup>hi</sup> ± 0,003  |
| ICB 300 TE-2  | 0,085 <sup>hi</sup> ± 0,003  |
| ICB 300-10    | 0,084 <sup>hi</sup> ± 0,002  |
| ICB 300-5     | 0,083 <sup>hi</sup> ± 0,002  |
| ICB 300-18    | 0,077 <sup>i</sup> ± 0,003   |
| ICB 300 TE-15 | 0,064 <sup>j</sup> ± 0,001   |
| ICB 300 TE-8  | 0,061 <sup>j</sup> ± 0,003   |
| ICB 300-25    | 0,051 <sup>k</sup> ± 0,003   |
| ICB 300 TE-12 | 0,050 <sup>k</sup> ± 0,001   |

Os dados correspondem à média e desvio padrão. Teores de magnésio com relação à massa seca. Letras iguais indicam que os valores não diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

#### 8.4.4. Zinco

Os teores de zinco das plantas estudadas variaram entre 4,92 e 29,42 mg.kg<sup>-1</sup>. Os híbridos ICB 300, ICB 300-3, ICB 300-7 e ICB 300 TE-2 mostraram os maiores conteúdos deste nutriente (Tabela 10).

Tabela 10 – Teores de zinco determinados para as raízes das plantas estudadas.

| PLANTA  | ZINCO (mg.kg <sup>-1</sup> ) |
|---------|------------------------------|
| ICB 300 | 29,42 <sup>a</sup> ± 2,47    |

|                      |                      |   |       |
|----------------------|----------------------|---|-------|
| <b>ICB 300-3</b>     | 23,25 <sup>ab</sup>  | ± | 12,80 |
| <b>ICB 300-7</b>     | 18,36 <sup>abc</sup> | ± | 0,13  |
| <b>ICB 300 TE-2</b>  | 17,75 <sup>abc</sup> | ± | 0,90  |
| <b>ICB 300 TE</b>    | 13,92 <sup>abc</sup> | ± | 10,26 |
| <b>ICB 300- 12</b>   | 13,9 <sup>abc</sup>  | ± | 0,38  |
| <b>ICB 300- 18</b>   | 12,75 <sup>bc</sup>  | ± | 0,90  |
| <b>ICB 300- 5</b>    | 12,00 <sup>bc</sup>  | ± | 2,38  |
| <b>ICB 300- 17</b>   | 11,75 <sup>bc</sup>  | ± | 4,92  |
| <b>ICB 300 TE-15</b> | 11,08 <sup>bc</sup>  | ± | 10,61 |
| <b>ICB 300 TE-16</b> | 10,58 <sup>bc</sup>  | ± | 4,05  |
| <b>ICB 300- 25</b>   | 10,00 <sup>bc</sup>  | ± | 2,41  |
| <b>3ICB 300- 38</b>  | 9,58 <sup>bc</sup>   | ± | 0,38  |
| <b>ICB 300 TE-12</b> | 8,75 <sup>bc</sup>   | ± | 1,25  |
| <b>ICB 300- 10</b>   | 8,08 <sup>bc</sup>   | ± | 2,63  |
| <b>ICB 300 TE-8</b>  | 8,08 <sup>bc</sup>   | ± | 1,28  |
| <b>ICB 300- 34</b>   | 7,83 <sup>bc</sup>   | ± | 1,70  |
| <b>ICB 300 TE-10</b> | 6,98 <sup>c</sup>    | ± | 0,64  |
| <b>ICB 300- 37</b>   | 5,08 <sup>c</sup>    | ± | 0,80  |
| <b>530</b>           | 4,92 <sup>c</sup>    | ± | 1,01  |

Os dados correspondem à média e desvio padrão. Conteúdos de zinco com relação à massa seca.  
Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente para P<0,05.

## 9. Discussão

### 9.1. Conteúdo de proteína

As plantas ICB 300-34, ICB 300-18, ICB 300-38 e ICB 300-12, possuem teores de proteína superiores ao apresentado pela planta progenitora destes indivíduos, ICB 300 (Tabela 2). As progenias ICB 300-7 e ICB 300-17 também mostraram níveis consideráveis de proteína. O fenômeno de segregação positiva para genes de acúmulo de proteína nas raízes poderia explicar o observado (ALLARD, 1960).

A segregação positiva pressupõe que o caractere em questão – no caso, acúmulo de proteína na raiz – seja controlado de forma quantitativa por mais de um par de alelos e que o progenitor – no caso, a planta ICB 300 – seja heterozigoto para aqueles pares de alelos. Assim, quanto mais genes dominantes na progenia, maior será a expressão genética para o determinado caractere (FISHER, 1918). Considerando estes requisitos, poderia ter ocorrido segregação de genes dominantes para acúmulo de proteína nas sementes que originaram as progenias com alto teor de proteína. É importante frisar que na segregação positiva, a progenia apresenta maior expressão genética para aquela característica do que o progenitor, e foi exatamente este o fato observado para os híbridos 300-34, ICB 300-18, ICB 300-38 e ICB 300-12, que apresentaram conteúdo protéico mais alto do que a planta progenitora, ICB 300.

Fenômeno oposto ao descrito acima – a segregação negativa – justificaria os baixos teores de proteína exibidos pelas progenias ICB 300-10 e ICB 300-25 (Tabela 2) cujos valores se mostraram inferiores ao exibido pela progenitora, ICB 300. Este padrão de segregação genética era esperado (FISHER, 1918).

O nível de 2,3% de proteína mostrado pelo exemplar de mandioca comum – planta 530 – está dentro da faixa relatada na literatura, que é de menos 1 a 3% (BUITRAGO, 1990; BALAGOPALAN et al., 1992; BABU & CHATTERJEE, 1999).

Nota-se uma pequena diferença entre o teor de proteína do híbrido ICB 300 determinado neste trabalho, 3,49%, e o valor referido por Nassar & Dorea (1982), que foi de 4,6%. Esta diferença pode ser explicada pelas diferentes

condições climáticas, de irrigação e de adubação nos diferentes momentos em que se procederam as coletas e análises das raízes: 1982 e 2008, pois a quantidade de proteína acumulada sofre forte influência destas variáveis (GRAHAM et al., 1999). Outra explicação para a diferença encontrada é o fato de esses autores terem usado o fator de conversão 6,25 para transformar os valores de nitrogênio total (determinados pelo método Kjeldahl) em nitrogênio proveniente de proteína (nitrogênio protéico verdadeiro). O fator de conversão é utilizado para descontar o nitrogênio de origem não-protéica (nitratos, nitritos e glicosídeos cianogênicos, por exemplo) do montante de nitrogênio total. Nassar & Dorea (1982) utilizaram o fator de conversão de 6,25, pois somente em 1996 foi proposto o fator específico para raízes de mandioca (YEOH & TRUONG, 1996). O referido fator é igual a 3,24 e foi empregado para as conversões dos valores determinados no presente trabalho.

O baixo conteúdo protéico das plantas tetraplóides (Tabela 2) e o alto teor apresentado pela progenitora ICB 300 TE (5,09%) podem ser explicados de duas formas. A primeira diz respeito à possibilidade ter ocorrido segregação no nível de poliploidia: Enquanto ICB 300 TE era realmente tetraplóide, suas plantas-filhas poderiam ser tetraplóides, triploídes ou mesmo diplóides e o aumento de proteína esperado (STEBBINS, 1985; DHAWAN & LAVANIA, 1996) não pôde ser observado. Isto justificaria os teores típicos de plantas diplóides, encontrados nas progenias de ICB 300 TE. Mas, considerando que a progenia de ICB 300 TE era de fato tetraplóide, ela poderia exibir um nível de proteína muito baixo, devido ao fato de a segregação genética incluir 4 alelos para tetraplóides, no lugar de 2 alelos para diplóides (STEBBINS, 1985). Assim, a permutação alélica poderia ter levado à combinação específica, resultando nas baixas porcentagens observadas.

CHÁVEZ e colaboradores (2005) apresentaram 8,31%, 8,13%, 6,44%, 6,0%, 5,94% e 5,88% de proteína para cultivares da coleção do CIAT, mas deixaram de relatar os respectivos níveis de cianogênese. No mesmo trabalho eles apresentaram os potenciais cianogênicos na forma de mínimo e máximo dentre todas as plantas estudadas. O nível de cianeto máximo obtido por eles foi de 2561 mg.kg<sup>-1</sup>. Fica a interrogação: será que a planta apresentada com 8,31% de proteína é a mesma que mostrou 2561 mg.kg<sup>-1</sup> de cianeto? Isto é muito provável. A ocorrência de mandioca com alto teor de proteína e potenciais cianogênicos extremos é bem conhecido. O próprio CIAT, em 1972, apresentou o clone “sonora”, com 9% de proteína e cerca de 3000 mg.kg<sup>-1</sup> de cianeto (HENDERSHOTT, 1973).

Este nível de cianeto chega ao mesmo nível do artigo de Chávez e colaboradores (2005). Se os cultivares estudados pelos referidos autores apresentam conteúdos de cianeto tão elevados, é excluída a possibilidade do uso destes cultivares na forma *in natura*.

Os teores de proteína exibidos por ICB 300-34, ICB 300-18, ICB 300-38, ICB 300-12, ICB 300 TE, ICB 300-7, ICB 300-17, ICB 300, ICB 300-3, ICB 300-37 e ICB 300-5 são mais elevados do que aqueles reportados para a mandioca comum. Tais plantas demonstram o potencial de se tornar cultivares de mandioca com maior conteúdo protéico ou de servir como fontes de variabilidade genética para programas de melhoramento desta cultura.

## **9.2. Perfil de aminoácidos**

É relatado na literatura que há na mandioca comum baixos níveis de cisteína, isoleucina e metionina (YEOH & TRUONG, 1996; GIL & BUITRAGO, 2002). As análises realizadas neste trabalho retrataram este fato para a planta 530, cultivar comum de mandioca (Tabela 3).

Há abundância de glutamina, alanina e asparagina (YEOH & TRUONG, 1996; GIL & BUITRAGO, 2002) que também foi verificada em nosso trabalho nas raízes do cultivar comum (Tabela 3).

A composição aminoacídica de ICB 300 revelou-se semelhante àquela determinada por NASSAR & SOUSA (2005), com grande proporção de glutamina e arginina. As contribuições proporcionais de metionina, cisteína, e histidina na proteína das raízes de ICB 300 também foram quase o dobro para cada um desses aminoácidos, com relação à variedade comum (Tabela 3). Isto está de acordo com os referidos autores.

A progenitora tetraplóide ICB 300 TE mostrou uma proporção cerca de quatro vezes maior dos aminoácidos essenciais fenilalanina e prolina (Tabela 5) do que a mandioca comum (Tabela 3).

As progenias ICB 300-5 (Tabela 3) e ICB 300-37 (Tabela 4) mostraram proporções consideráveis do aminoácido essencial metionina, quando comparadas à

planta 530 (Tabela 3). A planta ICB 300-5 se destaca ainda por apresentar o dobro do aminoácido essencial valina, quando comparada à mandioca comum.

O aminoácido sulfurado cisteína apareceu em proporção cerca de 20 vezes maior nas plantas ICB 300-12 e ICB 300-34 (Tabela 4) do que na planta 530 (Tabela 3). A presença de uma proporção maior de cisteína nas raízes de mandioca é de extrema importância, dada sua participação no mecanismo de detoxificação endógena do ácido cianídrico liberado em alimentos derivados de mandioca insuficientemente detoxificados (OSUNTOKUN et al., 1968).

Um achado surpreendente ocorreu com relação aos híbridos ICB 300-38 e ICB 300-17, que mostraram alta proporção do aminoácido essencial lisina em suas raízes, contando com 10,16g/100g e 7,99g/100g, respectivamente. A variedade comum da mandioca mostrou somente 1,76g/100g. Cabe lembrar que a lisina é um dos aminoácidos limitantes do valor biológico da proteína das raízes de mandioca (YOUNG & PELLET, 1994; MILLWARD, 1999). A alta proporção de lisina encontrada em ICB 300-38 e ICB 300-17 pode ter resultado no aumento do valor biológico da proteína das raízes desses híbridos, devido à melhora do balanço entre aminoácidos essenciais e não-essenciais.

Juntamente com o trabalho de Nassar & Sousa (2005), este é o primeiro relato de híbridos interespecíficos de mandioca com perfil de aminoácidos tão favorável, o que confirma nossa teoria de que certas espécies silvestres da mandioca e seus híbridos interespecíficos servem como fontes de proteína de boa qualidade, contando com aminoácidos essenciais.

### **9.3. Cianeto Total**

De acordo com a classificação sugerida por Coursey (1973), os híbridos ICB 300-TE 10, ICB 300 TE-8, ICB 300 TE-16, ICB 300 TE-2, ICB 300-25 e a variedade da mandioca comum estudada são classificados como “não-tóxicas”. Por sua vez, a progenitora ICB 300 e os híbridos ICB 300-7, ICB 300-12, ICB 300 TE-15, ICB 300-10, ICB 300-5, ICB 300 TE-12, ICB 300-17, ICB 300-34 e ICB 300-38 são

“moderadamente tóxicas”. Por outro lado, ICB 300-3, ICB 300 TE, ICB 300-18 e ICB 300-37 enquadram-se na categoria “altamente tóxicas” (Tabela 6).

Os teores de cianeto total de ICB 300 TE-10, ICB 300 TE-8, ICB 300 TE-16 e ICB 300 TE-2 são inferiores ao apresentado pelo cultivar de mandioca comum. Vale salientar que o clone da mandioca comum – planta 530 – é um dos cultivares de mesa mais consumidos no Brasil.

As plantas ICB 300-7 e ICB 300-12 apresentaram níveis de cianogênese moderados, comparáveis ao demonstrado pela planta 530 (Tabela 6) e altos teores de proteína (Tabela 2).

De acordo com tais dados, as referidas plantas com baixo nível de cianeto total são boas candidatas a se tornar cultivares, caso apresentem boa produtividade e palatabilidade aceitável pelos consumidores. Isto corrobora nossa hipótese de que espécies silvestres e seus híbridos podem conferir alto conteúdo de proteína, perfil favorável de aminoácidos e baixo teor de cianeto.

## **9.4. Micronutrientes**

### **9.4.1. Cálcio**

O híbrido ICB 300-7 demonstrou possuir o maior teor de cálcio entre todas as plantas estudadas: 0,535%, que é quase 3 vezes superior ao valor apresentado pelo cultivar de mandioca comum estudado neste trabalho (0,187%). O alto conteúdo de cálcio de ICB 300-7 também é consideravelmente maior do que aqueles referidos por Okigbo, 1980 (0,03%), Chávez e colaboradores, 2005 (0,250%) e Charles, Siroth e Huang, 2005 (0,369%), que estudaram diferentes variedades de mandioca comum.

As raízes de ICB 300, ICB 300-17 e ICB 300-12, com 0,342; 0,336 e 0,321%, respectivamente, também mostraram teores altos deste micronutriente, quando comparados ao cultivar de mandioca comum estudado neste trabalho e aos reportados pelos autores Okigbo, 1980 (0,03%) e Chávez et al., 2005 (0,250%).

A progenitora ICB 300 TE (0,185%) e sua progenia ICB 300 TE-2 (0,180%) exibiram os maiores níveis de cálcio dentro do grupo das plantas tetraplóides, porém estes valores se mostraram estatisticamente equivalentes ao mostrado pela mandioca comum analisada (Tabela 7).

#### **9.4.2. Ferro**

Dentre as raízes de todas as plantas estudadas, as de ICB 300-7 exibiram o maior teor de ferro, valor 26 vezes superior ao apresentado pelo cultivar comum de mandioca (Tabela 8).

As progenias ICB 300-18, ICB 300-10 e ICB 300 TE-10 (Tabela 8) também demonstraram teor de ferro elevado, representando um aumento de cerca de 10 vezes com relação à mandioca comum analisada neste trabalho.

Os níveis de ferro dos tubérculos de ICB 300-7, ICB 300-18, ICB 300-10 e ICB 300 TE-10 (Tabela 8) são superiores àquele relatado por Charles, Sriroth e Huang, 2005 (40 mg/kg) referente a um cultivar de mandioca comum proveniente do Norte da Tailândia.

O conteúdo de ferro das raízes da planta progenitora ICB 300 determinado neste trabalho ( $32,35 \pm 3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) se mostrou muito próximo ao referido por Nassar e colaboradores ( $38,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) em trabalho de 2009 (NASSAR et al., 2009).

#### **9.4.3. Magnésio**

O teor mais elevado de magnésio foi demonstrado pelas raízes do híbrido ICB 300, seguido da sua progenia 38. As plantas ICB 300-17 e ICB 300-7 também apresentaram níveis altos de magnésio. Tais plantas possuem conteúdo de magnésio maior que a mandioca comum estudada neste trabalho (Tabela 9).

Dentre os híbridos tetraplóides, ICB 300 TE-10 e ICB TE-16 demonstraram os teores mais elevados de magnésio, que se mostraram maiores do que aquele da variedade comum (Tabela 9).

Os valores de magnésio encontrados nas raízes das plantas estudadas neste trabalho são superiores aos referidos pelos autores Buitrago, 1990 (0,030%), Bradbury & Holloway, 1988 (0,030%) e Charles, Siroth e Huang, 2005 (0,031 a 0,043%), que reportaram conteúdos de magnésio em raízes de cultivares da mandioca com diversos genótipos.

#### **9.4.4. Zinco**

A progenitora ICB 300 exibiu valor quase 6 vezes superior ao demonstrado pelo exemplar de mandioca comum (Tabela 10).

Os conteúdos de zinco das raízes de ICB 300 e ICB 300-3 são superiores aos valores referidos por Charles, Siroth e Huang, 2005, que variaram de 13 a 19 mg.kg<sup>-1</sup>, relacionados aos cultivares de mandioca comum com diferentes genótipos estudados por eles.

### **9.5. Híbridos interespecíficos destacados**

Alguns híbridos se destacaram devido às características nutricionais apresentadas.

A progenitora ICB 300 mostrou alto conteúdo protéico (Tabela 2), proporção 4 vezes maior do aminoácido essencial fenilalanina que o cultivar da mandioca comum (Tabela 3) e o maior teor de zinco dentre as plantas estudadas (Tabela 10).

A planta ICB 300-12 possui um teor de proteína elevado (Tabela 2), alta proporção de fenilalanina (Tabela 4), além de níveis altos de cálcio (Tabela 7) e de ferro (Tabela 8), aliados a um baixo teor de cianeto total (Tabela 6).

O híbrido ICB 300-7 também exibiu grande quantidade de proteína (Tabela 2), os maiores teores de cálcio (Tabela 7) e ferro (Tabela 8) dentre todas as plantas estudadas e baixo conteúdo de cianeto (Tabela 6).

Por sua vez, ICB 300-17 destacou-se pela grande proporção de lisina, cerca de 7 vezes superior à apresentada pela mandioca comum (Tabela 4).

A progenia ICB 300-5 exibiu alto nível de proteína (Tabela 2), acompanhado de grandes proporções dos aminoácidos essenciais metionina e valina (Tabela 3), moderado nível de cianeto total (Tabela 6) e alto teor de ferro (Tabela 8).

Os nutrientes aumentados podem interagir de forma positiva na disponibilidade destes e de outros nutrientes. Os híbridos que mostraram proporções elevadas de metionina, cisteína e lisina podem ter sua disponibilidade de ferro e zinco aumentadas, pois a interação destes nutrientes é sinérgica. O zinco e o ferro presentes em quantidades elevadas em alguns destes híbridos, podem melhorar a biodisponibilidade de vitamina A presente nas raízes (GRAHAM, WELCH, BOUIS, 2001). Estas e muitas outras interações podem incrementar os ganhos nutricionais demonstrados pelas plantas estudadas.

## 10. Considerações finais

O estudo realizado permitiu identificar híbridos de mandioca com combinação de alta proteína, perfil de aminoácidos diferenciado, quantidades elevadas de micronutrientes e teor de cianeto moderado. Dentre estes híbridos, se destacam: ICB 300-12, ICB 300-7, ICB 300-17 e ICB 300-5.

Os referidos híbridos possuem grande potencial de se tornar cultivares de mandioca com qualidade nutricional superior aos cultivares comuns. O consumo das raízes destes cultivares poderia fornecer quantidades maiores de nutrientes do que aquelas ofertadas pela mandioca comum, o que poderia beneficiar principalmente as parcelas mais vulneráveis da população, cujo acesso a outros alimentos é limitado.

Considerando a possibilidade da ação de agentes antinutrientes naturalmente presentes nas raízes de mandioca, sugere-se demonstrar *in vivo* se o aumento na quantidade de nutrientes observado foi acompanhado de efetivo aumento de sua biodisponibilidade. Esse tipo de estudo é necessário para avaliar a eficácia da biofortificação na melhoria da qualidade nutricional desses alimentos (GRAHAM, WELCH, BOUIS, 2001), o que possibilita mensurar o impacto do consumo do alimento proveniente da cultura biofortificada no estado nutricional das pessoas.

A avaliação de outros aspectos, como a palatabilidade das raízes e viabilidade agrícola – produtividade, vigor, facilidade de propagação e tolerância a fatores bióticos e abióticos, por exemplo – também se faz necessária.

Os achados deste trabalho confirmam a teoria de que espécies silvestres de mandioca e seus híbridos são fontes inestimáveis de proteína, aminoácidos e micronutrientes. Esta fonte aguarda exploração por nutricionistas e melhoristas de plantas.

## 11. Referências Bibliográficas

- AKINTONWA, A. Fatal Cyanide Poisoning from Cassava-Based Meal. **Human & Experimental Toxicology**, 11(1): 47-49. 1992.
- ALLEN, S. E. Chemical analysis of ecological materials. **Blackwell Scientific Publications**, Oxford. 1989.
- ALLEN, L. & Casterline-Sabel J. Prevalence and causes of nutritional anemias. In: **Nutritional anemias**, 7–22. 2001.
- ALLARD, R.W. **Principles of Plant Breeding**. Ed. John Willey & Sons, Inc. – New York. 80-87. 1960.
- ANDERSEN, M. D.; BUSK P. K.; SVENDSEN, I.; MOLLER B. L. Cytochromes P-450 from Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Catalyzing the First Steps in the Biosynthesis of the Cyanogenic Glucosides Linamarin and Lotaustralin. **The Journal of Biological Chemistry**, 275(3): 1966–1975. 2000.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. Arlington: AOAC International 15.ed. 1: 117.1990.
- BABU, L., CHATTERJEE, S.R. Protein content and amino acid composition of cassava tubers and leaves. **Journal of Root and Crops**, 25 (20): 163–168. 1999.
- BAETHGEN, W. E.; ALLEY, M. M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digest. **Soil Science Plant Analysis**, 20 (9/10): 961-969. 1989.
- BAK, S., KAHN; R. A., NIELSEN, H. L., MOLLER, B. L., HALKIER, B. A. Cloning of three A type cytochromes P450, CYP71E1, CYP98, and CYP99 from Sorghum bicolor (L.) Moench by a PCR approach and identification by expression in *Escherichia coli* of CYP71E1 as a multifunctional cytochrome P450 in the biosynthesis of the cyanogenic glucoside dhurrin. **Plant Molecular Biology**. 36: 393–405. 1998.
- BALAGOPALAN, C., PADMAJA, G., GEORGE, M. Improving the nutritional value of cassava products using microbial techniques. **FAO Animal Production and Health Paper**, 95:127–140. 1992.

- BALAGOPALAN, C. Cassava utilization in food, feed and industry. In: Hillocks, R. J.; Thresh, J. M.; Bellotti, A. C. Cassava: biology, production and utilization. **Wallingford: CAB International**: 301-317. 2002.
- BANEA-MAYAMBU, J.P.; TYLLESKAR, T.; GITEBO, N. MATADI, N., GEBRE-MEDHIN, M.; ROSLING, H. Geographical and seasonal association between linamarina and cyanide exposure from cassava and the upper motor neurone disease konzo in former Zaire. **Tropical Medicine and International Health**, 2(12): 1143–1151. 1997.
- BARANOWSKA I.; CZERNICKI, K.; ALEKSANDROWICZ, R. The analysis of lead, cadmium, zinco, copper, and nickel content in human bones from the Upper Silesian industrial district. **The Science Total Environment**, 159:155-162. 1995.
- BEARD J. & HAN O. Systemic iron status. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1790: 584–588. 2009.
- BEATON, G. H. Protein: energy ratios – Guidelines in the assessment of protein nutritional quality. In: Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds. **Dekker: New York**, 2: 619-634. 1975.
- BELLOTTI, A.; RIIS, L. Cassava cyanogenic potential and resistance to pests and diseases. **Acta Horticulturae**, 375 (1): 141-151. 1994.
- BHASKARAM P. Micronutrient Malnutrition, Infection, and Immunity: An Overview. **Nutrition Reviews**, 60(1): 40-45. 2002.
- BHUTTA Z.A., BLACK R.E., BROWN K.H., GARDNER J.M., GORE S., HIDAYAT A. Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. **Journal of Pediatrics**, 35: 689-97. 1999.
- BLACK, M. M. Micronutrient deficiencies and cognitive functioning. **Journal of Nutrition**, 133: 3927S–3931S. 2003.
- BLACK, R. Micronutrient deficiency: an underlying cause of morbidity and mortality. **Bulletin of World Health Organ**, 81(2): 79. 2003.

- BOKANGA, M. Distribution of cyanogenic potential in cassava germplasm. **Acta Horticulturae**, 375:117-123. 1994.
- BOUIS, H. E.; GRAHAM, R. D. & WELCH, R. M. The CGIAR micronutrient project: justification, history, objectives and summary of findings. In: **Workshop on Improving Human Nutrition Through Agriculture: The Role of International Agricultural Research**. 2: 374–381. 2000.
- BRESSANI, R. (2000) Micronutrient policies for agriculture in Latin America. **Food and Nutrition Bulletin**, 21(4): 538-541. 2000.
- BRIMER, L. & ROSLING, H. A microdiffusion method with solid state detection of cyanogenic glycosides from cassava in human urine. **Food and Chemical Toxicology**, 31: 599-603. 1993.
- BRITO, V. H. S.; RAMALHO, R. T.; RABACOW, A. P. M.; MORENO, S. E.; CEREDA, M. P. Colorimetric method for free and potential cyanide analysis of cassava tissue. **Gene Conserve**, 8(34): 841-852. 2009.
- BROWN, K.H.; PERSON, J.M.; ALLEN, L.H. Effects of zinc supplementation on children growth: a meta-analysis of intervention trial. *Bibliotheca Nutritio et Dieta*, 54:76-83. 1998.
- BUITRAGO, A. J. A. La yuca en la alimentación animal. **Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)**, 446. 1990.
- BUTLER, G. W.; KENNEDY, L. D. Studies on the glucosidase “linamarase”. **Phytochemistry**, 4: 369-381. 1965.
- CAGNON. J.R.; CEREDA. M.P.; PANTAROTTO. S. Glycosides of cassava cyanogen: biosynthesis. distribution. detoxification and analytical methods. In: **Agriculture: Latin America starchy tuberous and roots**. Cargill Foundation. São Paulo. 2009.
- CHARLES, A. L.; SRIROTH, K.; HUANG, T. C. Proximate composition, mineral contents, hydrogen cyanide and phytic acid of 5 cassava genotypes. **Food Chemistry**, 92: 615-620. 2005.

- CHARLES, A. L.; CHANG, Y. H.; KO, WC.; SRIROTH, K.; HUANG, T. C. Some physical and chemical properties of starch isolates of cassava genotypes. **Starch/Starke**, 56: 413–8. 2004.
- CHÁVEZ et al. Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. **Euphytica**, 143: 125–133. 2005.
- CONN, E., E. Cyanogenic glycosides. In: **Biochemistry of Plants**. Academic Press, New York. 1981.
- COURSEY, D. G. & HAYNES, P.H. Root Crops and Their Potential as Food in the Tropics. **World Crops**, 22: 261-265. 1970.
- COURSEY, D. G. Cassava as food: Toxicity and technology. In: **Chronic Cassava Toxicity**. International Development Research Centre. Monograph IDRC-010e: 27-36. 1973.
- DARMON, N.; FERGUSON, E.L.; BRIEND, A. A cost constraint alone has adverse effects on food selection and nutrient density: an analysis of human diets by linear programming. **Journal of nutrition**, 132(12): 3764 –3771. 2002.
- DARNTON-HILL I. et al. Micronutrient deficiencies and gender: social and economic costs. **American Journal of Clinical Nutrition**, 81(5): 1198S-1205S. 2005.
- DHAWAN, O.P.; LAVANIA, U.C. Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy: A review. **Euphytica**, 87:81-89. 1996.
- DELANGE, F.; EKPECHI, L.; ROSLING, H. Cassava cyanogenesis and iodine deficiency disorders. **Acta Horticulturae**, 375:289-93. 1994.
- DU, L.; BOKANGA, M.; MOLLER B.; HALKIER B. The biosynthesis of cyanogenic glucosides in Roots of Cassava. **Phytochemistry**, 39(2): 323-326. 1995.
- DUFOUR, D. Cyanide content of cassava (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae) cultivars used by Tukanoan Indians in northwest Amazonia. **Economic Botany**, 42:255–266. 1988.

- DUFOUR, D. "Bitter" Cassava: Toxicity and Detoxification. In: **Proceedings First International Meeting on Cassava Breeding, Biotechnology and Ecology**. 171-184. 2007.
- DZIEWANOWSKA, K.; NIEDZWIEDZ, I.; CHODELSKA, I.; LEWAK, S. Hydrogen cyanide and cyanogenic compounds in seeds. I. Influence of hydrogen cyanide on germination of apple embryos. **Physiology Vegetal**. 17: 297-303. 1979.
- EDGERTON, V.R., OHIRA Y., GARDNER G.W., SENEWIRATNE B. Effects of iron deficiency anemia and voluntary activities in rats and humans. In: **Iron Deficiency: Brain Biochemistry and Behavior**, 141-60. 1982.
- ELIN, R. J., ALLING, D. W. Survival of normal and magnesium-deficient erythrocytes in rats: effect of magnesium deficient diet vs. splenectomy. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. 91: 666-72.1978.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: **EMBRAPA Produção de Informação; Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos**. 2006.
- FAO/WHO. Joint FAO/WHO food standards programme. Codex Alimentarius Commission XII, Supplement 4. Rome. 1991.
- FAO. Production Yearbook, Rome. 2003.
- FAO. The State of Food Insecurity in the World 2004. Rome. 2004.
- FAO. Production Yearbook, Rome. 2007.
- FAVIER, J.C. Valeur alimentaire de deux aliments de base Africains: Le manioc et le sorgho. **ORSTOM (éditions de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-mer)**, 67. 1977.
- FISHER, R. A. 1918. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. **Transactions of the Royal Society**, 52:399-433.
- FISHMAN, R. A. Neurological aspects of magnesium metabolism. **Archives of Neurology**, 12:562-69. 1965.

- FOKUNANG, C. N.; TOMKINS, P. T.; DIXON, A. G. O.; TEMBE, E. A.; SALWA B.; NUKENINE, E. N. Cyanogenic potential in food crops and its implication in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) production. **Pakistan Journal of Biological Science**. 4(7): 926–930. 2001.
- GHANDILYANA, A.; VREUGDENHILB, D.; AARTS, M. G. M. Progress in the genetic understanding of plant iron and zinc Nutrition. **Physiologia Plantarum**, 126: 407–417. 2006.
- GIBSON, R. S. Zinc nutrition in developing countries. *Nutrition Reserch Reviews*, 7: 151-173. 1994.
- GIL, J.L. & BUITRAGO, A.J.A. La yuca en la alimentacion animal. In: **La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización**. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. 2002.
- GOTTLIEB S.S. Importance of magnesium in congestive heart failure. **American Journal of Cardiology**. 63(14): 39G-42G. 1989.
- GRAHAM, R. D. & WELCH, R. M. 1996. Breeding for Staple Food Crops With High Micronutrient Density: Agricultural Strategies for Micronutrients. International Food Policy Research Institute, Washington, D.C. **Working Paper**, (3). 1996.
- GRAHAM R. D. et al. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. **Field Crops Research**, 60: 57-80. 1999.
- GRAHAM, R.D.; WELCH R.M., BOUIS H.E. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: principles, perspectives and knowledge gaps. **Advances in Agronomy**, (70): 77–142. 2001.
- GROVER, Z. & EE, L. C. Protein Energy Malnutrition. **Pediatric Clinics of North America**, 56: 1055–1068. 2009.
- HAIDER, B.A.; BHUTTA Z. A. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 4. 2006.

- HAMBRIDGE K.M., HAMBRIDGE C., JACOBS M., BAUM J.D. Low levels of zinc in hair, anorexia, poor growth and hypogeusia in children. **Pediatric Research**, 6: 868-74. 1972.
- HAQUE, M. R. & BRADBURY, J. H. Preparation of linamarin from cassava leaves for use in a cassava cyanide kit. **Food Chemistry**, 85(1): 27-29. 2004.
- HASHIMOTO, D. Y. C. Estudo comparativo entre híbridos diplóides e tetraplóides de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): citogenética, apomixia e anatomia caulinar. Dissertação – Universidade de Brasília, Brasília. 2009.
- HEANEY, R. P.; GALLAGHER, J. C.; JOHNSTON, NEER, C. C.; PARFITT, R.; WHEDON, G. D. Calcium nutrition and bone health in the elderly. **American Journal of Clinical Nutrition**, 36: 986-1013. 1982.
- HENDERSHOTT, C. H. et al. A Literature Review and Research Recommendations on Cassava (*Manihot esculenta*, Crantz). **Athens**. 1973.
- HERSHEY, C. H. *Manihot esculenta* diversity. In: **International Network for Cassava Genetic Resources**, Proceedings. 111-134. 1992.
- HEUBERGER, C. Cyanide content of cassava and fermented products with focus on attiéke and attiéke garba. Dissertation. 2005.
- HOCK-HIN, Y.; VAN-DEN, T. Protein contents, amino acid compositions and nitrogen-to protein conversion factors for cassava roots. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 70: 51–54. 1996.
- HORTON, S. & ROSS, J. “The Economics of Iron Deficiency,” **Food Policy**, 28: 51–75. 2002.
- HOTZ, C. & BROW, K. H. Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for its Control. In: International Zinc Nutrition Consultative Group Technical. **Food and Nutrition Bulletin**, 25: S91–S204. 2004.
- HUDSON, B. J. F. & OGUNSUA, A. O. Lipids of cassava tubers (*Manihot esculenta*, Crantz). **Journal of Science of Food and Agriculture**, 25:1503–1508. 1974.

- HURTADO, E. K.; CLAUSSEN, A. H. & SCOTT, K. G. Early childhood anemia and mild and moderate mental retardation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 69(1): 115-119. 1999.
- IBGE. Confronto das Safras de 2009 e 2010. Disponível em [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa\\_2010075.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_2010075.shtm) Acesso 20 jul 2009
- ISERI, L. T.; FREED, J.; BNRES, A. R. Magnesium deficiency and cardiac disorders. *American Journal of Medicine*. 58: 837-846. 1975.
- JARVIS, D. I. & HODGKIN, T. Wild relatives and crop cultivars: detecting natural introgression and farmer selection of new genetic combinations in agroecosystems. ***Molecular Ecology***, 8: S159–S173. 1999.
- JENNINGS, D. L. *Manihot melanobasis* Muell. Arg. – a useful parent for cassava breeding. ***Euphytica*** 8: 157-162. 1959.
- KAHN, R. A.; BAK, S., SVENDSEN, I.; HALKIER, B. A.; MØLLER, B. L. Isolation and reconstitution of cytochrome P450ox and in vitro reconstitution of the entire biosynthetic pathway of the cyanogenic glucoside dhurrin from sorghum. ***Plant Physiology***, 115: 1661–1670. 1997.
- KAMALU, B. P. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in the Aetiology of Kwashiorkor. ***Nutrition Research Reviews***, 6: 121-135. 1993.
- KAMALU B. P. The adverse effects of long-term cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) consumption. ***International Journal of Food Sciences and Nutrition***, 46(1): 65-93, 1995.
- KARP, R. Malnutrition among children in the United States: the impact of poverty. In: ***Modern nutrition in health and disease***. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 989 –1001. 1999.
- KENNEDY, G.; NANTEL, G.; SHETTY, P. 2003. The scourge of “hidden hunger”: global dimensions of micronutrient deficiencies. ***Food, Nutrition and Agriculture***, 32. 2003.
- KHUSH, G. S. Challenges for meeting the global food and nutrient needs in the new millennium. ***Proceedings of the Nutrition Society***. 60:15–26. 2001.

- KHUSH G. S. The promise of biotechnology in addressing current nutritional problems in developing countries. **Food and Nutrition Bulletin**, 23(4): 354-357. 2002.
- KING, N. & BRADBURY, J. Bitterness of cassava: Identification of a new apiosyl glucoside and other compounds that affect its bitter taste. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 68(2): 223-230. 1995.
- LANJOW, J. Two interesting species of *Manihot* from Surinam. **Recueil. Travaux Botanique Neerlandica**, 36: 542-549. 1939.
- LANCASTER, P. A.; INGRAM J. S.; LIM, M. Y.; COURSEY, D. G. Traditional cassava based foods: Survey of processing techniques. **Economic Botany**, 36(1): 12-45. 1982.
- LEE, S. et al. Iron fortification of rice seeds through activation of the nicotianamine synthase gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 106(51): 22014-22019. 2009.
- LEI, X. G. & PORRES, J. M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, 25: 1787-1794. 2003
- LENHARTZ, H.; NDASI, R.; ANNINOS, A.; BÖTTICHER, D.; MAYATEPEK. E.; TETANYE, E.; LEICHSENRING, M. The clinical manifestation of the kwashiorkor syndrome is related to increased lipid peroxidation. **The Journal of Pediatrics**, 132(5): 879-881. 1998.
- LIN-FU, J.S. Vulnerability of children to lead exposure and toxicity (second part). **New England Journal of Medicine**, 289: 1289-93. 1973.
- LYKKESFELDT, J. & MOLLER B.L. Cyanogenic glycosides in cassava, *Manihot esculenta* Crantz. **Acta Chemica Scandinavica**, 48: 178–180. 1994.
- MABERLY, G. Programs Against Micronutrient Malnutrition: Ending Hidden Hunger. **Annual Review of Public Health**, 15: 277-301. 1994.

- MAZIYA-DIXON, B.; KLING, J. G.; MENKIR, A.; DIXON, A. Genetic variation in total carotene, iron, and zinc contents of maize and cassava genotypes. **Food Nutrition Bulletin**, 21: 419-422. 2000.
- MAYER, J. E.; PFEIFFER, W. H.; BEYER, P. Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Current Opinion*. **Plant Biology**, 11:166–170. 2008.
- MCGUIRE J., GALLOWAY R., World Bank. Enriching lives: overcoming vitamin and mineral malnutrition in developing countries. **Development in Practice Series**. Washington DC: World Bank, 1994.
- MCLEAN, E.; COGSWELL, M.; EGLI, I.; WOJDYLA, D.; DE BENOIST, B. Worldwide prevalence of anemia in preschoolaged children, pregnant women and non-pregnant women of reproductive age. In: **The Guidebook – Nutritional Anemia**. 11-12. 2007.
- MCCMAHON, J. M.; SAYRE, R. T. Cyanogenic glycosides: physiology and regulation of synthesis. In DL Gustine, HE Flores, eds, *Phytochemicals and Health, Current Topics*. **Plant Physiology**, 15: 112–121. 1995.
- MCCMAHON, J.; WHITE, W.; SAYRE R.T. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of Experimental Botany**, 46: 731–741. 1995.
- MILLWARD, D. J. The nutritional value of plant-based diets in relation to human amino acid and protein requirements. **Proceedings of the Nutrition Society**, 58: 249–260, 1999.
- MICHELY, D.; ZINSMEISTER, H. D.; ROTH, E.; NAHRSTEDT, A. Cyanogenic glycoside of *Avena sativa*. 177: 350-352. 1983.
- MKPONG, O. E.; YAN, H.; CHISM, G.; SAYRE, R. T. Purification, Characterization, and Localization of Linamarase in Cassava. **Plant Physiology**, 93: 176-218. 1990.
- MLINGI, N.; POULTER, N.; ROSLING, H. An outbreak of acute intoxications from consumptions of insufficiently processed cassava in Tanzania. **Nutrition Research**, 12: 677-687. 1992.
- MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Nutritional Value of Cassava for Use as a Staple Food and Recent Advances for Improvement.

- Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 8 (3): 181 – 194. 2009a.
- MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Processing Techniques to Reduce Toxicity and Antinutrients of Cassava for Use as a Staple Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 8(1):17 – 27. 2009.
- MONTGOMERY, R. D. Cyanogens In: Toxic constituents of plant foodstuffs. **Academic Press**. 143-160. 1980.
- MÜLLER, O. & KRAWINKEL, M. Malnutrition and health in developing. **Canadian Medical Association Journal**, 173 (3):1–10.
- NAMBISAN, B. & SUNDARESAN, S. Effect of processing on the cyanoglucoside content of cassava. **Journal of Science of Food and Agriculture**, 36:1197–203. 1985.
- NARTEY, F. *Manihot esculenta* – Cyanogenesis, Ultrastructure and Seed Germination. **Villadsen and Christensen**, Copenhagen. 1978.
- NASSAR, N. M. A. Conservation of the genetic resources of cassava (*Manihot esculenta*). Determination of wild species localities with emphasis on probable origin. **Economic Botany**, 32: 311-320. 1978a.
- NASSAR, N.M.A. Microcenters of wild cassava, *Manihot* spp., diversity in Central Brazil. **Turrialba**, 28: 345-347. 1978b.
- NASSAR, N. M. A. Genetic resources of cassava: Chromosome behavior in some *Manihot* species. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, 38: 135-137. 1978c.
- NASSAR, N. M. A. Wild *Manihot* species of central Brazil for cassava breeding. **Canadian Journal of Plant Science**, 58: 257-261. 1978d.
- NASSAR, N. M. A.; Dorea G. Protein contents of cassava cultivars and its hybrid with *Manihot* species. **Turrialba**, 32(4): 429-432. 1982.

- NASSAR, N. M. A. Natural hybrids between *Manihot reptans* Pax and *M. alutacea* Rogers & Appan. **Canadian Journal of Plant Science**, 64: 423-425. 1984.
- NASSAR, N. M. A. Genetic variation of wild *Manihot* species native to Brazil and its potential for cassava improvement. **Field Crops Research**, 13: 177-184. 1986.
- NASSAR, N. M. A. Broadening the genetic base of cassava, *Manihot esculenta* Crantz by interspecific hybridization. **Canadian Journal of Plant Science**, 69: 1071-1073. 1989.
- NASSAR N. M. A. Wild cassava, *Manihot* spp.: Biology and potentialities for genetic improvement. **Genetics and Molecular Biology**, 23(1): 201-212. 2000.
- NASSAR, N. M. A. Wild and Indigenous cassava diversity: An untapped genetic resource. **Genetic Research and Crop Evolution**, 54:1523-1530. 2006.
- NASSAR, N. M. A. & SOUSA, M.V. Amino acids profile in cassava and its interspecific hybrid progeny. **Genetic Molecular Research**, 6 (2): 292-297. 2007.
- NASSAR, N. M. A.; VIZZOTO, C. S.; SCHWARTZ, C. A.; JÚNIOR, O. R. P. Cassava diversity in Brazil: the case of carotenoid-rich landraces. **Genetics and Molecular Research** 6 (1): 116-121. 2007.
- NASSAR, N. M. A.; JUNIOR, O. P.; SOUSA M. V.; ORTIZ R. Improving Carotenoids and Amino-Acids in Cassava. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, 1: 32-38. 2009.
- NASSAR, N. M. A.; BARBOSA, I. S.; HARIDASSAN, M.; ORTIZ, R.; GOMES, P. T. C. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genetic resources: a case of high iron and zinc. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 57(2): 287-291. 2010.
- NEWMAN, J. L. From Definition, To Geography, To Action, To Reaction: The Case of Protein-Energy Malnutrition. **Annals of the Association of American Geographers**, 85(2): 233-245. 1995.
- NGUDI, D. D.; KUO, Y. H.; LAMBEIN, F. Food safety and amino acid balance in processed cassava "cosettes". **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50: 3042-3049. 2002.

- NGUDI, D. D. KONZO and cassava toxicity: A study of associated nutritional factors in the Popokabaka district, D.R. Congo. **PhD Thesis**, University of Gent, Belgium. 2005.
- OBOH, G.; ELUSIYAN, C. A. Changes in the nutrient and anti-nutrient content of micro-fungi fermented cassava flour produced from low- and medium-cyanide variety of cassava tubers. **African Journal of Biotechnology**, 6(18): 2150-2157. 2007.
- O'BRIEN G.M.; WHEATLEY, C. C.; IGLESIAS C.; POULTER, N. H. Evaluation, modification, and comparison of two rapid assays for cyanogens in cassava. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 65:391-399. 1994.
- OKIGBO, B. N. Nutritional implications of projects giving high priority to the production of staples of low nutritive quality. In the case for cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) in the humid tropics of West Africa. **Food and Nutrition Bulletin**, 2: 1–10.
- OLUSOLA, B.; OYEWOLE AND S. AYO ODUNFA. Effects of fermentation on the carbohydrate, mineral, and protein contents of cassava during “fufu” production. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2(2): 170-176. 1989.
- OLUWOLE, O. S. A. & ONABOLU, A. O. Cyanogenic compounds in cassava and exposure to cyanide. In: **Reviews in Food and Nutrition Toxicity**, 41-62. 2003.
- ONIS, M.; MONTEIRO C.; CLUGSTON, G. The worldwide magnitude of protein energy malnutrition: an overview from the WHO global database on child growth. **Bulletin of World Health Organ**, 71(6):703–12. 1993.
- OSUNTOKUN, B.O, DUROWOJU, J.E; MCFARLANE H.; WILSON J. Plasma amino-acids in the Nigerian nutritional ataxic neuropathy. **British Medical Journal**, 3: 647-649. 1968.
- OSUNTOKUN, B. O. Cassava diet, chronic cyanide intoxicification and neuropathy in the Nigerian Africans. **World Review of Nutrition and Dietetics**, 36:141–73. 1981.

- PEREIRA A. S.; LORENZI, J. O.; VALLE, T.L. Avaliação do tempo de cozimento e padrão de massa cozida em mandioca de mesa. **Revista Brasileira de Mandioca**, 4(1):27-32. 1985.
- PERONI, N.; KAGEYAMA, P. Y.; BEGOSSI, A. Molecular differentiation, diversity, and folk classification of “sweet” and “bitter” cassava ( *Manihot esculenta* ) in Caiçara and Caboclo management systems (Brazil). **Genetic Resources and Crop Evolution**, 54(6): 1333-1349. 2007.
- PETTIFOR J. M. Nutritional rickets: deficiency of vitamin D, calcium, or both? **American Journal of Clinical Nutrition**, 80(suppl):1725S–9S. 2004.
- PFEIFFER, W. H. & MCCLAFFERTY, B. HarvestPlus: Breeding Crops for Better Nutrition. **Crop Science**, 47: S88-105. 2007.
- PINSTRUP–ANDERSEN P.; BURGER, S.; HABICHT, J.P.; PETERSON, K. Protein–energy malnutrition. In: **Disease control priorities in developing countries**. 391- 420. 1993.
- PITSCH, C.; KELLER, M.; ZINSMEISTER, H. D.; NAHRSTEDT, A. Cyanogene Glycoside aus Triticum monococcum. **Planta Medica**, 34: 388-390. 1984.
- PROBART, C. Meeting micronutrient needs. Food, Nutrition and Agriculture 32. Rome, Italy: **Food and Agricultural Organization**, 2003.
- PURCELL, J.H. Protein and amino acid content of sweet potato cultivar. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 97: 30. 1972.
- QAIM, M.; STEIN, A.J.; MEENAKSHI, J.V. Economics of biofortification. **Agricultural Economics**, 37: 119-133. 2007.
- RAMAKRISHNAN, U. Prevalence of Micronutrient Malnutrition Worldwide. **Nutrition Reviews**, 60(1): 46-52. 2002.
- RAMALHO, R.T.; LOPES, A.M.; CEREDA, M.P. 2007. Oral Letal Dosis evaluation (DL50) of linamarin extracted from cassava in rats. In: Brazilian Journal of Toxicology, ISSN 1415-2983 In: **Congresso Brasileiro de Toxicologia**, 20(3): 145. 2007.

- RAMANUJAM, T. & INDIRA, P. Effect of girdling on the distribution of total carbohydrates and hydrocyanic acid in cassava. **Indian Journal of Plant Physiology**, 1984, 27:355-360.
- RISS, L.; BELLOTTI, A.; CASTAÑO, O. In Field Damage of High and Low Cyanogenic Cassava Due to a Generalist Insect Herbivore *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae). **Journal of Economic Entomology**, 96 (6): 1915-1921. 2003.
- ROA, A. C.; et al.. AFLP analysis of relationships among cassava and other *Manihot* species. **Theoretical and Applied Genetics**, 95: 741-750. 1997.
- ROGERS, D. & APPAN, C. *Manihot, Manihotoides, Euphorbiaceae*. **Flora Neotropica**. Hafner Press, New York, NY. 1973.
- RONZELLI, J. P. Capítulo II: Evolução das espécies cultivadas. **Melhoramento genético de plantas**. Curitiba, PR ed. 13-23. 1996.
- ROSLING, H. Cassava toxicity and food security: a review of health effects of cyanide exposure from cassava and of ways to prevent these effects. Uppsala. **UNICEF/African Household Food Security Programme**. 40p. 1987.
- ROSZKOWSKI I.; WOJCICKA, J.; ZALESKA, K. J. Serum iron deficiency during the third trimester of pregnancy: maternal complications and fate of the neonate. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 28(6):820-5. 1966.
- RUDE, R. K.; OLDHAM, S. B.; SHARP, C. F.; SINGER, F. R. Parathyroid hormone secretion in magnesium deficiency. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 47(4): 800–806.1978.
- RUDE, R.K.; SINGER, F.R. Magnesium deficiency and excess. **Annual Review of Medicine**, 32: 245-259. 1981
- SARIS, N.L.; Karppanen, H.; KHAWAJA, J. A.; LEWENSTAM, H.; MERVAALA, E. Interaction of Mg and polyamines with membrane enzyme activities. In: **Current research in magnesium**. 205–209. 1996.
- SAUBERLICH, H. E.; CHANG, W. I.; SALMON, W. D. The Comparative Nutritive Value of Corn of High and Low Protein Content for Growth in the Rat and Chick. **Journal of Nutrition**, 51: 623-635. 1953.

- SAUTTER, C.; POLETTI, S.; ZHANG, P.; GRUISSEM, W. Biofortification of essential nutritional compounds and trace elements in rice and cassava. **Proceedings of the Nutrition Society**, 65:153-159. 2006.
- SCHAAL, B.A.; OLSEN, K.M.; CARVALHO, L. J. Evolution, Domestication, and Agrobiodiversity in the Tropical Crop Cassava. In: **Darwin's Harvest: New Approaches to the origins, evolution and conservation of crops**. 1: 269-284. 2005.
- SCHULZ, V. Clinical pharmacokinetics of nitroprusside cyanide, thiosulfate and thiocyanate. **Clinical Pharmacokinetics**, 9: 239-251. 1984.
- SELMAR, D.; LIEBEREI, R.; BIHEL, B.; VOIGT, J. Hevea linamarase: a nonspecific  $\beta$ -glucosidase. **Plant Physiology**, 83(3): 557-563. 1987.
- SELMAR, D.; LIEBEREI, R.; BIEHL, B. Mobilization and Utilization of Cyanogenic Glycosides: The Linustatin Pathway. **Plant Physiology**, 86: 711-716. 1988.
- SHANKAR, A. H.; PRASAD, A. S. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **American Journal of Clinical Nutrition**, 68(2): 447S-463S. 1998.
- SHAMAH, T. & VILLALPANDO, S. The role of enriched foods in infant and child nutrition. **British Journal of Nutrition**, 96(1): S73-S77. 2006.
- SHEFFIELD, J.; TAYLOR N.; FAUQUET, C.; CHEN, N. D. S. The cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root proteome: Protein identification and differential expression. **Proteomics**, 6:1588-1598. 2006.
- SIBBESEN, O.; KOCH, B.; HALKIER, B. A.; MOLLER, B. L. Isolation of the heme-thiolate enzyme cytochrome P450<sup>Tyr</sup>, which catalyzes the committed step in the biosynthesis of the cyanogenic glucoside dhurrin in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 91: 9740-9744. 1994.
- SINGH, M. Role of Micronutrients for Physical Growth and Mental Development. **Indian Journal of Pediatrics**, 71: 59-62. 2004.

- SINHA, S. K.; NAIR, T. V. R. Studies on the variability of cyanogenic glucoside content in cassava tubers. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, 38:958-963. 1968.
- STEBBINS**, G. L. *Poliploidy*, hybridization, and the *invasion* of new habitats. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 72: 824-832. **1985**.
- STEPHENSON, L. S.; LATHAM, M. C.; OTTESEN, E. A. Global malnutrition. **Parasitology**, 121: 5-22. 2000.
- STEPHENSON et al. Consuming cassava as a staple food places children 2-5 years old at risk for inadequate protein intake, an observational study in Kenya and Nigeria. **Nutrition Journal**, 9:9. 2010.
- STUPAK, M.; VANDERSHUREN, H.; GRUSSEM, W.; ZHANG, P. Biotechnological approaches to cassava protein improvement. **Trends in Food Science & Technology**, 17: 634-641. 2006.
- SWENNE, I. et al. Cyanide detoxification in rats exposed to acetonitrile and fed a low protein diet. **Fundamental and Applied Toxicology**, 31: 66–71.1996.
- TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Universidade Estadual de Campinas [NEPA/Unicamp]**, versão 2. São Paulo: NEPA/ Unicamp. 2006.
- TELES, F. F. F. Chronic poisoning by hydrogen cyanide in cassava and its prevention in Africa and Latin America. **Food and Nutrition Bulletin**. **23** (4): 407-412. 2002.
- TOR-AGBIDYE, J. et al. Dietary deficiency of cystine and methionine in rats alters thiol homeostasis required for cyanide detoxification. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, 55(8):583-95. 1998.
- TYLLESKÄR, T.; BANE M.; BIKANGI N.; COOKE, R. D.; POULTER, N. H.; ROSLING H. Cassava cyanogens and konzo, an upper motoneuron disease found in Africa. 339(8787): 208-211. 1992.
- UNDERWOOD, B. A. From research to global reality: the micronutrient story. **Journal of nutrition**, 128: 145–151. 1998.

- UNDERWOOD, B. & SMITASIRI, S. Micronutrient malnutrition: Policies and Programs for Control and Their Implications. **Annual Reviews of Nutrition**, 19: 303–324. 1999.
- VANDERJAGTA, D.J. et al. Aminoaciduria in calcium-deficiency rickets in northern Nigeria. **Journal of Tropical Pediatrics**, 45(5): 258-264. 1999.
- WACKER, W. E. C. & PARISI, A. F. Magnesium metabolism. *New England Journal of Medicine*, 278: 658-663. 1968.
- WAJANT, H.; PFIZENMAIER, K. Identification of potential active site residues in the hydroxynitrile lyase from *Manihot esculenta* by site-directed mutagenesis. **Journal of Biological Chemistry**, 271: 25830–25834. 1996.
- WANDA, L. B., et al. Cyanogenesis in Cassava. The Role of Hydroxynitrile Lyase in Root Cyanide Production. **Plant Physiology**. 116: 1219-1225. 1998.
- WATSON, W.S.; HUME, R.; MOORE, M. R. Oral absorption of lead and iron. **Lancet**, 2: 236-237. 1980.
- WORLD BANK. The Challenge of Dietary Deficiencies of Vitamins and Minerals. Anonymous. *Enriching Lives: Overcoming Vitamin and Mineral Malnutrition in Developing Countries*, 6-13. 1994.
- WELCH, R. M. & GRAHAM R. D. A new paradigm for world agriculture: meeting human needs Productive, sustainable, nutritious. **Field Crops Research**, 60: 1-10. 1999.
- WELCH, R. M. & GRAHAM, R. D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. **Journal of Experimental Botany**, 55(396): 353-364. 2004.
- WESTLEY, J. Mammalian cyanide detoxification with sulphane sulphur. In: **Cyanide compounds in biology**. Ciba Foundation Symposium, 140: 201–202. 1988.
- WHITE, W.; MCMAHON, J.; SAYRE, R. T. Regulation of cyanogenesis in cassava. **Acta Horticulture**, 375: 69–78. 1994.

- WHITE, W. & SAYRE, R. T. The characterization of hydroxynitrile lyase for the production of safe food products from cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) In DL Gustine, HE Flores, eds, Phytochemicals and Health, Current Topics in **Plant Physiology**, 15: 303–304. 1995.
- WHO, World Health Organization. National strategies for overcoming micronutrient malnutrition . EB 89/27. **Geneva: WHO**. 1991.
- WHO, World Health Organization. National Strategies for Overcoming Micronutrient Malnutrition. **Geneva: WHO**. 1992.
- WHO, World Health Organization. Highlights of the recent activities in the context of the World Declaration and Plan of Action for Nutrition. **Geneva: WHO**. Nutrition Programme. 1995.
- WHO, World Health Organization. World Health Report. **Geneva: WHO**. 2000.
- WHO, World Health Organization. The World Health Report 2002 – Reducing Risks, Promoting Healthy Life. **Geneva: WHO**. 2002.
- WHO, World Health Organization. World Health Report. **Geneva: WHO**. 2005.
- WHO/UNICEF/UNU: Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: A guide for programme managers. **Geneva**. Document WHO/NHD/01.03. 119. 2001.
- YEOH, H. H. & CHEW, M. Y. Protein content and acid composition of cassava seed and tuber. **Malaysian Agricultural Journal**, 15(11): 1597-1599. 1977.
- YEOH, H. H. & TRUONG, V.D. Protein contents, amino acid compositions and nitrogen-to-protein conversion factors for cassava roots. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 70: 51-54. 1996.
- YOUNG, V. R.; PELLETT, P. L. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, 59: 1203S-1212. 1994.