

## ESTUDO DO COMPORTAMENTO MEIÓTICO EM ACESSOS DO GÊNERO *Manihot*\*

Kaliny Veiga Pessoa da SILVA<sup>1</sup>, Alfredo Augusto Cunha ALVES<sup>2</sup>,  
Ana Maria BENKO-ISEPPON<sup>3</sup>, Reginaldo de CARVALHO<sup>4</sup>

**RESUMO:** O gênero *Manihot* pertence a família Euphorbiaceae e é nativo das regiões tropicais das Américas, apresentando um grande centro de diversidade genética no Brasil. Cerca de 80% das espécies de *Manihot* ocorrem no país, exibindo amplo polimorfismo vegetativo e reunindo potencial para utilização em programas de melhoramento genético da mandioca. A mandioca (*M. esculenta* Crantz) é a única espécie comercialmente cultivada, e dela se aproveita tanto a parte aérea como suas raízes tuberosas para consumo humano e animal, sendo utilizada na fabricação de farinha ou como parte da composição de diversos outros produtos e subprodutos. As espécies de *Manihot* são consideradas alotetraplóides, com  $2n=36$  e um número básico  $x=9$ . Cruzamentos interespecíficos naturais podem ocorrer com certa frequência produzindo híbridos férteis ou não e, que, nos casos de infertilidade, essa característica pode não ser facilmente detectada por análise fenotípica. Por isso é de extrema importância o estudo do comportamento cromossômico e da viabilidade do pólen dos acessos de *Manihot* contidos em bancos de germoplasma. O estudo realizado neste trabalho com acessos presentes na coleção de trabalho da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMPF) revelou acessos com comportamento meiótico irregular, o que pode levar a infertilidade total ou parcial, comprometendo etapas importantes do programa de melhoramento.

**Palavras-chave:** Cromossomo, poliplóide, meiose.

**SUMMARY:** STUDIES ON MEIOSIS IN ACCESSIONS OF *Manihot* GENUS. *Manihot* is a genus of the Euphorbiaceae family native to tropical regions of the Americas, with greatest diversity center in Brazil, with 80% of *Manihot* species, showing a large vegetative polymorphism and a potential source for cassava breeding programs. Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is the only commercially

---

\* Trabalho financiado pelo Generation Challenge Programme (GCP) e Embrapa

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco. Mestranda em Melhoramento Genético de Plantas, Depto. de Biologia, Rua Dom Manuel de Medeiros s/n - Dois irmãos - CEP: 52171-900, Recife, PE. Email: [kalinyveiga@hotmail.com](mailto:kalinyveiga@hotmail.com)

<sup>2</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP: 44380-000, Cruz das Almas, BA. Email: [aalves@cnpmf.embrapa.br](mailto:aalves@cnpmf.embrapa.br)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rêgo S/N, Cidade universitária, Recife, PE. E.mail: [celisep@hotmail.com.br](mailto:celisep@hotmail.com.br)

<sup>4</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Depto. de Biologia. Email: [Reginaldo.ufrpe@gmail.com](mailto:Reginaldo.ufrpe@gmail.com)

cultivated species, with the shoots and the tuber roots used for both human food and animal feed. Cassava roots are also used in the manufacture of flour or in the composition of other products. *Manihot* species are considered allotetraploid, with  $2n=36$  chromosome and  $x=9$  as basic number. Natural interspecific crosses can be found frequently, making in some cases infertile hybrids. Infertility is not detected using phenotypic analysis. That is why the importance to make a chromosome study and the investigation of pollens viability in *Manihot* genotypes held in Germoplasm banks. This study with the accessions of *Manihot* from Embrapa Cassava and Tropical Fruits (CNPMPF) showed an irregular disjunction in meiosis, which can result in total or partial infertility, affecting important steps of the cassava breeding programs.

**Keywords:** chromosome, polyploidy, meiosis.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Manihot* (Euphorbiaceae), possui aproximadamente 98 espécies distribuídas desde os Estados Unidos até a Argentina (Nassar, 2000; Rogers e Appan, 1973). Segundo Rogers e Appan (1973), cerca de 80% das espécies de *Manihot* ocorrem no Brasil, exibindo amplo polimorfismo vegetativo e reunindo potencial para utilização em programas de melhoramento genético da mandioca. *M. esculenta* Crantz, a mandioca cultivada, é a mais importante das espécies do gênero, sendo uma das culturas alimentares mais difundidas no mundo. Da mandioca cultivada se aproveita tanto a parte aérea como as raízes tuberosas, seja para o consumo humano ou animal e também para o uso como parte da composição de diversos outros produtos e subprodutos, como: papel, papelão, madeira prensada, cola e álcool (Tonukari, 2004).

Estudos citogenéticos em espécies do gênero *Manihot* revelam um cariótipo contendo  $2n=36$  e  $n=18$  para todas as espécies estudadas (De Carvalho; Guerra e Carvalho, 1999; Nassar, 2006; Nassar et al., 1995; Umanah e Hartmann, 1973). Essas espécies são consideradas alotetraplóides, tendo, portanto número básico  $x=9$ . No entanto, acredita-se que ao longo da evolução essas espécies tenham sido diploidizadas, apresentando hoje, o comportamento cromossomal típico de um diplóide (Carvalho e Guerra, 2002). Devido a esse comportamento cromossômico, podem ocorrer, com certa frequência, cruzamentos intererespecíficos naturais, estes podem produzir híbridos férteis ou não, onde nos casos de infertilidade, essa característica pode não ser facilmente detectada por análise

enotípica, sendo então necessários estudos de comportamento meiótico pra identificar os casos de infertilidade.

Esse trabalho teve por objetivo analisar o comportamento meiótico e viabilidade do grão de pólen de algumas variedades e de acessos do gênero *Manihot*, presentes numa coleção de trabalho da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMPF), a fim de obter informações sobre possíveis irregularidades cromossômicas e infertilidades que poderiam comprometer programas de melhoramento para o gênero *Manihot*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As seguintes espécies foram estudadas: *M. irwinii*, *M. anomala*, *M. tomentosa*, *M. flabellifolia*, *M. peruviana*, *M. esculenta* (variedades: Manipeba e Pornunça bebedouro) e o acesso 'MAC 88' provenientes da coleção de espécies silvestres de *Manihot* da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**.

Foram coletados botões florais jovens que posteriormente foram fixados em etanol-ácido acético (3:1, v/v) por 24 h e estocados a -20 °C antes da preparação das lâminas. Os botões florais foram lavados em água destilada, duas vezes de 5 min. cada, hidrolisadas em HCl 5N, por 5-10 min. Em seguida, as lâminas foram preparadas de acordo com a metodologia de Guerra (1983), montadas com Entellan e analisadas sob microscopia comum.

O comportamento meiótico dos cromossomos e o percentual de irregularidade meiótica foram avaliados a partir de cinco indivíduos de cada espécie e cinco lâminas por indivíduo. Para a análise de viabilidade de pólen, as anteras que continham micrósporos, foram coradas diretamente com carmim acético 2%, para avaliação do conteúdo citoplasmático. Os grãos de pólen que apresentaram coloração intensa no seu citoplasma foram considerados viáveis. Os que apresentaram ausência de coloração foram considerados estéreis.

As imagens foram capturadas com câmera digital Cyber shot Sony 5.1 MP e transferidas para o programa computacional Corel Draw V.12 onde as células foram trabalhadas.

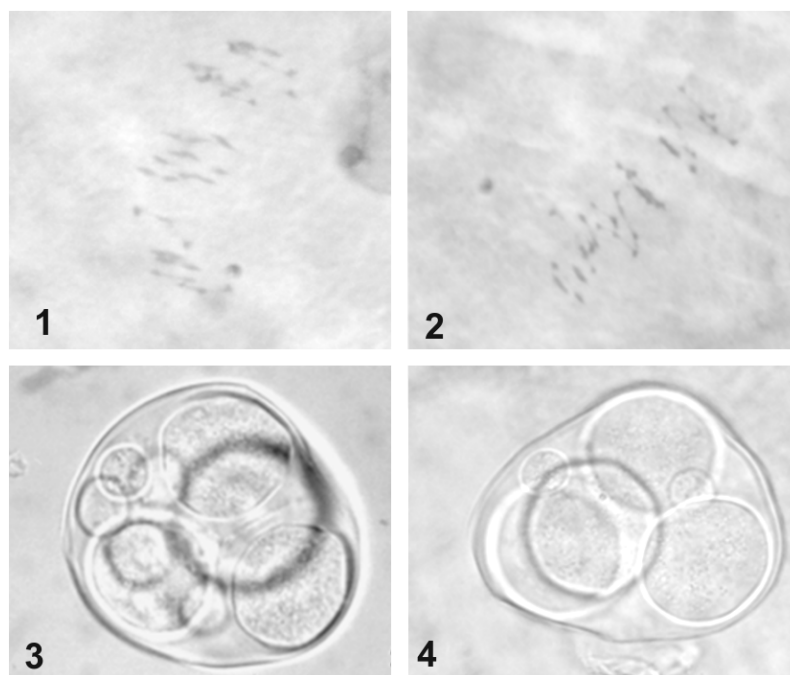
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies silvestres de *Manihot* exibiram um comportamento meiótico regular, evidenciando cariótipo com  $2n=36$  e  $n=18$  cromossomos (Fig. 1). O pareamento entre os bivalentes foi normal durante a metáfase I, resultando em uma segregação cromossômica regular durante a anáfase I e a anáfase II, ambas sem formação de pontes anafásicas. No final da esporogênese, formaram-se na maioria dos acessos avaliados, quatro micrósporos (tétrades), revelando uma meiose completamente regular em termos de divisão celular e conseqüentemente com formação de grãos de pólen viáveis, ou seja, férteis.

A variedade Pornunça, apresentou-se com uma meiose aparentemente regular (Fig.2), no entanto ao final da microesporogênese, ocorreu o aparecimento de algumas caloses contendo cerca de seis células cada, sugerindo irregularidade meiótica (Fig. 4). Já a variedade Manipeba apresentou-se totalmente irregular, com formação de univalentes, bivalentes e trivalentes na metáfase I, comportamento típico de um triploide confirmado por contagem cromossômica mitótica no trabalho de Carvalho et al. (1999). A segregação cromossômica foi irregular no final da meiose (anáfase II), resultando em 100% das tétrades ou “políades” anormais apresentando um grande número de núcleos no seu interior, em média 20 células por meiócito (Fig. 3). Os grãos de pólen analisados para essas duas variedades apresentaram irregularidades morfológicas, possuindo diversos tamanhos e citoplasma vazio, sem coloração, sugerindo esterilidade total de ambas as variedades.

O gênero *Manihot* foi considerado tetraploide com base na ocorrência de quatro constrições secundárias e dois pares de homólogos (Umanah e Hartmann, 1973). No entanto, a condição poliplóide poderia significar irregularidade meiótica, com queda no percentual de fertilidade. A regularidade meiótica apresentada nas espécies *M. irwinii*, *M. anomala*, *M. tomentosa*, *M. flabellifolia*, *M. peruviana* e *M. esculenta* (acesso ‘MAC 88’), sugerem que as espécies do gênero possuem uma estabilidade no cariótipo diplóide com  $2n=36$ , o que contribui para que não haja alterações na taxa de fertilidade. A “diploidização” cariotípica, que segundo Singh (1993), é um processo adaptativo dos cariótipos durante a evolução, pode ser o melhor processo para explicar o sucesso de algumas populações poliplóides na natureza. Isso pode ter ocorrido nas espécies do gênero *Manihot*, onde hibridações interespecíficas com produção de híbridos férteis podem ocorrer naturalmente e também artificialmente com quebras de barreiras de isolamento reprodutivo.

Os acessos de *M. esculenta* estudados neste trabalho apresentaram diferenças no comportamento meiótico, enquanto a variedade MAC 88 apresentou meiose normal (Fig. 1), como se observou em outros estudos de *M. esculenta* (Carvalho e Guerra, 2002), as variedades pornunça e manipeba, apresentaram irregularidades meióticas, e essas irregularidades podem levar a esterilidade total, como apresentado pela variedade Manipeba, ou parcial, como apresentado pela variedade Pornunça bebedouro. No caso da variedade Manipeba a esterilidade total foi comprovada pela produção de grãos de pólen inviáveis para reprodução. Esses dados refletem a importância de uma avaliação prévia dos cromossomos nos acessos incluídos em programas de melhoramento genético. Já que casos de ocorrência de triplóides e tetraplóides espontâneos induzidos em espécies de *Manihot* parecem ser bastante comuns, levando a casos freqüentes de infertilidade (HAHN et al., 1990).



**Figuras 1 a 4:** Células meióticas de *M. esculenta* 1) Metáfase I do acesso 'MAC 88'; 2 e 4) Metáfase I e "políade" da variedade 'Pornunça bebedouro'; 3) "Políade" da variedade manipeba

## CONCLUSÃO

A ocorrência de poliploidia espontânea parece não ser um evento muito freqüente no gênero *Manihot*, no entanto, a ocorrência de triplóides e tetraplóides induzidos em espécies do gênero parece ser bastante comum, levando a irregularidades meióticas como as encontradas em dois dos acessos de *M. esculenta* estudados, onde no final da microesporogênese formaram-se políades,

sugerindo possível infertilidade. A utilização de acessos de Maniçaba, por exemplo, em programas de melhoramento é inviável, já que o uso dos mesmos não produziria resultados satisfatórios. Esses fatos refletem a importância de uma avaliação prévia dos cromossomos nos acessos incluídos em programas de melhoramento genético.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, R. e GUERRA, M. Cytogenetics of *Manihot esculenta* Crantz (cassava) and eight related species. **Hereditas** 136: 159-168. 2002.
- DE CARVALHO, R.; GUERRA, M.; CARVALHO, P. C. L. Occurrence of Spontaneous Triploidy in *Manihot esculenta* Crantz. **Cytologia: The Japan Mendel Society**, v. 64, p. 137-140, 1999.
- GUERRA, M.. Uso do giemsa na citogenética vegetal: comparação entre bandeamento simples e o bandeamento. **Ci e Cult.** 35: 190-193. 1983.
- HAHN, S, K., BAÍ, V, K. e ASIEDU, R. Tetraploids, triploids and 2n pollen from diploid int sava. **Theor. Appl. Genetic**: v 79. 433-439. 1990.
- NASSAR, N.M.A. Wild cassava spp.: biology and potentialities for genetic improvement. **Genet. Mol. Biol.** 23: 201-212, 2000.
- NASSAR, N. M. Cassava genetic resources: extinct everywhere in Brazil. **Genetic Resources and Crop Evolution.** 53: 975–983. 2006.
- NASSAR, N.M.A, NASSAR H.N.M, VIEIRA, C e SARAIVA, S.L. (1995) Cytogenetic behaviour of the interspecific hybrid of *Manihot neusana* Nassar and cassava, *Manihot esculenta* Crantz, and its backcross progeny. **Can. J. Plant Sci.** 75: 675–678.
- ROGERS, D.J. e APPAN, S.G. *Manihot* and *Manihotoides* (Euphorbiaceae ). **Flora Neotropica**. New York: Hafner Press (monografia, 13). 1973.
- SINGH, R, J. plant cytogenetics.. 1993, CRC Press, Inc. Boca Raton: 111-254.
- TONUKARI, N. J. Cassava and the future of starch. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 5-8, 2004.
- UMANAH, E. E.; HARTMANN, R. W. Chromosome numbers and karyotypes of some *Manihot* species. **Journal of American Society of Horticulture Science**, v. 98, p. 272-274, 1973.