

DESENVOLVIMENTO DE CLONES APOMÍTICOS DA MANDIOCA E SELEÇÃO DE CLONES APOMÍTICOS POR MEIOS EMBRIÔNICOS

Nayra N. Bomfim¹; Danielle Y. C. Hashimoto²; Nagib M. A. Nassar³

Departamento de genética e morfologia, Instituto de Biologia, Campus Universitário Darcy Ribeiro,
Universidade de Brasília, DF E-mail: E-mail: ¹luardodf@yahoo.com.br; ²danyasmin@hotmail.com;
³nagnassa@rudah.com.br.

INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) cultivada em todo país e na maioria de países de regiões tropicais, é uma das culturas de subsistência mais importantes para as populações de baixa renda (CIAT, 1992). Sua reprodução é essencialmente vegetativa, método que facilita a contaminação por patógenos, o que inutiliza os clones. O uso de sementes minimizaria os problemas causados principalmente pela contaminação, porém sementes são produto de segregação genética e diminuem o vigor híbrido. É necessário, assim, um mecanismo de proteção dos clones a doenças e que, ao mesmo tempo, mantenha a superioridade genética dos clones

O desenvolvimento de linhagens apomíticas (Nassar, 1994) seria a solução deste limitante do rendimento, pois o vigor híbrido, a uniformidade e a resistência a patógenos poderiam ser mantidos de geração a geração.

Apomixia é a formação de embrião sem a união do núcleo espermático do pólen com a oosfera (Bashaw, 1980). Ela preserva a heterose, mantendo a superioridade genética. Ela ainda permite a produção de sementes livres de patógenos. Logo, o embrião apomítico é um clone da planta-mãe, pois é formado apenas pelo tecido desta e não pela fusão dos gametas masculino e feminino.

A apomixia foi descoberta por Nassar em mandioca, das quais *Manihot glaziovii* Muell. (Maniçoba) é a mais destacada (Nassar 1994, 1995; Nassar et al. 1998b). Anteriormente, a apomixia foi documentada em outras espécies silvestres do gênero *Manihot* com a frequência 1% a 2%, mas em *M. glaziovii* não foi detectada apomixia. Aparentemente, a apomixia no gênero *Manihot* é geneticamente diferente da apomixia em outras culturas.

Este trabalho tem o objetivo de selecionar clones a partir dos referidos híbridos entre *M. glaziovii* e *M. esculenta* a partir do exame embrionário pela técnica de clarificação de óvulos. Nosso objetivo é ainda selecionar um híbrido com alto teor apomítico.

METODOLOGIA

Para a seleção de plantas apomíticas, foram analisados 160 óvulos de clones do híbrido entre *M. glaziovii* Muell e *M. esculenta* Crantz através da técnica de clarificação de óvulos. Foram coletadas inflorescências femininas fechadas de maior tamanho possível (máx de 14 mm). As inflorescências foram fixadas em solução de álcool absoluto e ácido acético glacial 3:1 (volume/volume), durante 24 horas e, posteriormente, conservadas em álcool 70%, sob refrigeração. As flores foram dissecadas em água destilada, sob lupa de aumento de 40 vezes e os óvulos, desidratados em série de etanol (70%, 80%, 90% e 100%), durante uma hora em cada solução, e posteriormente tratados com benzil benzoato quatro e meio (BB 4^{1/2}), consistindo de ácido láctico, cloro hidratado, fenol, óleo de cravo, xileno e benzil benzoato nas proporções 2:2:2:2:1:1, por peso, durante 24 horas, para clarificação. As lâminas dos óvulos foram montadas com BB 4^{1/2} e uma gota de solução contendo metil salicilato (100%) e BB 4^{1/2} na proporção 1:1 v/v, adaptação realizada por Ogburia & Adachi (1994), para se obter melhor contraste no microscópio. Os óvulos transparentes foram observados e fotografados no aumento de cem vezes de magnificação usando microscopia interferencial de contraste.

As categorias em que os óvulos foram analisados são: normal, na qual havia saco embriônico, mas não havia embrião; sem saco embriônico; adventício e apomíticos, onde os óvulos apospóricos tinham apenas um embrião no saco embrionário, dois embriões em um mesmo saco ou dois sacos embrionários lado a lado.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

Os clones poliplóides apresentaram 16,25% de apomixia (Tabela 1), o que provavelmente pode ter sido influenciado pela poliploidia. Esta porcentagem é oito vezes maior que em seu progenitor silvestre, que segundo Nassar (2002) era de 1% a 2%. A poliploidia pode ter restaurado a fertilidade do híbrido e expressado sua capacidade apomítica. Para confirmação faz se necessário testes com marcadores moleculares.

Tabela 1. Modalidade de embriões encontrados nos óvulos, porcentagem de apomixia e de flores hermafroditas do híbrido *M. glaziovii* x *M. esculenta*.

Planta	Tam. Médio	Normais	Sem saco	2 embriões/ saco	2 sacos/ ovulo	Embrião adventício	1 embrião/ saco	Total Anali- sado	% apomixia	% de flores herma- froditas
Clone 800's	Entre 9 e 14 mm	134	0	3	5	3	15	160	16,25%	60 %

A ocorrência das modalidades onde há dois embriões no óvulo garante a certeza de que ocorre apomixia, sendo um sexual e um apomítico, porém 57,7% dos óvulos apomíticos desenvolveram apenas um embrião por saco. As flores foram coletadas fechadas, o que garante a certeza de que não houve polinização.

Algo que vale ressaltar é a ocorrência de flores hermafroditas em 60% das flores analisadas, pois a mandioca é uma planta monóica. Este fenômeno pode ser atribuído a estrutura *quadriplex* causada pela poliploidia, ou ainda, pode representar *novel* devido à hibridação interespecífica entre *M. glaziovii* e *M. esculenta*. Apesar de 60% das flores serem hermafroditas, nenhuma delas foi polinizada pelo grão de pólen da própria flor, pois eles eram imaturos, sem viabilidade.

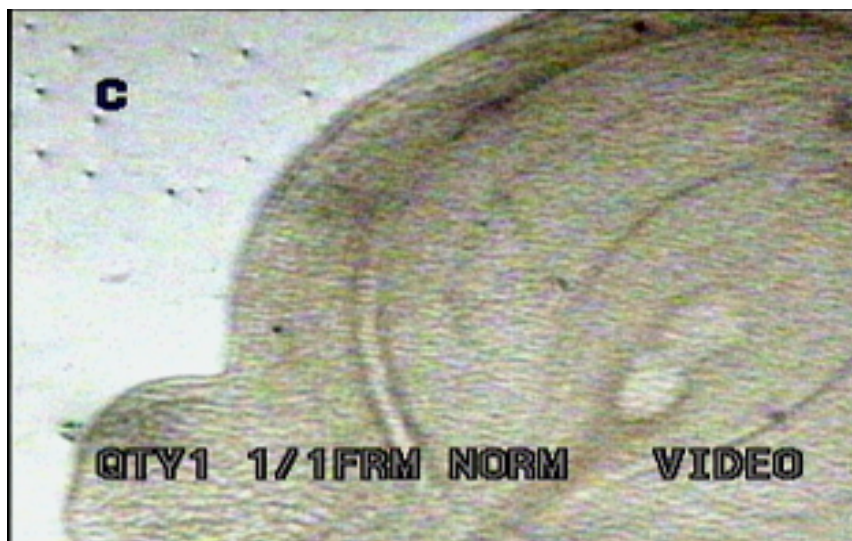


Fig. 1. Óvulo apospórico de clone entre *M. glaziovii* x *M. esculenta* com dois sacos embriônicos

AGRADECIMENTOS

À equipe do Pibic-UnB, pelos serviços prestados; ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento de Pesquisa) por subsidiar este projeto e aos estagiários companheiros da Estação Biológica de UnB pelo auxílio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASKER, S. E. & JERLING, L. Apomixis in plants. Boca Raton: CRC Press, 1992
- BASHAW, W.C. Apomixis and its application in crop improvement. pp45-63. In W.R. Fehr e H.H. Hadley (ed.) Hybridization of crop plants. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America. Madison, USA, 1980.
- BASHAW, E.C. & W. W.. HANNA (1990) *Apomitic reproduction. Reproductive Versatility*

in the grasses. G.P.Chapman. Cambridge University Press: 296p

HERR, J.M. *An analysis of methods for permanently mounting ovules cleared in four and a half type clearing fluids*. Stain Teechnology, V. 57, n. 3, p. 161-169, 1982

NASSAR, N.M.A. *The transference of apomixis genes from Manihot neusana Nassar to cassava, M. esculenta Crantz*. Hereditas 132:167-170(2000)

NASSAR, N.M.A. *Apomixis and cassava*. Genet. Mol. Res. 1 (2): 147-152 (2002)

NASSAR, N.M.A & COLLEVATTI, R.G. *Moleular Technique confirms high apomixis level in Cassava bred clones* Disponível em <geneconserve.pro.br> acessado em 20 fev 2005