

Hibridação interespecífica entre mandioca e espécies silvestres de *Manihot**

Nagib M. A. Nassar

Departamento de Agronomia, Universidade de Brasília
Brasília, DF, Brasil.

José Rafael da Silva e Clibas Vieira

Departamento de Fitotecnia, Universidade de Viçosa
Viçosa, MG, Brasil.

Abstract. *Interspecific hybridization of cassava with wild Manihot species.* Hybrid of the four wild *Manihot* species (*M. glaziovii*, *M. pseudoglaziovii*, *M. caerulescens* and *M. pohlilii*) with cassava (*M. esculenta*) showed incompatibility of the first three species and a limited compatibility of *M. pohlilii*.

Phylogenetic relationship of these species with cassava is being discussed. The most favourable time of pollination under Central Brazil conditions was found to be February and April. Cytological study has shown a haploid number of 18 for all of the four species. Chromosome number of *M. pseudoglaziovii* and *M. pohlilii* is being reported for the first time.

Resumo. A hibridação de quatro espécies silvestres de *Manihot* (*M. glaziovii*, *M. pseudoglaziovii*, *M. caerulescens*, e *M. pohlilii*) com mandioca (*M. esculenta*) mostrou incompatibilidade das primeira três espécies e limitada compatibilidade de *M. pohlilii*. O grau de parentesco destas espécies com a mandioca foi discutida. A época de polinização mais favorável para as condições do Brasil Central foi de fevereiro a abril. O estudo citológico mostrou número cromossomo haplóide $n = 18$ para todas as quatro espécies, sendo a contagem cromossômica relatada, pela primeira vez, para *M. pseudoglaziovii* e *M. pohlilii*.

INTRODUÇÃO

O melhoramento da mandioca (*Manihot esculenta*) no Brasil e em alguns centros internacionais tem-se concentrado na seleção clonal, mostrando lento progresso na superação de problemas como produtividade, resistência a doenças e valor nutritivo das raízes. Esta aproximação é devida à idéia de que a mandioca é uma planta tipicamente alógama, com alta heterozigosidade. Trabalhos recentes têm evidenciado o contrario, isto é, têm ressaltado a homozigose para vários genes e a necessidade de se ampliar sua variabilidade genética.

Em diversas culturas as espécies silvestres vêm sendo utilizadas pelos melhoristas como fonte de caracteres úteis, não encontrados nas variedades da espécie cultivada e, freqüentemente, para resolver problemas pela transferência de alelos que foram incorporados às variedades comerciais.

Dentro das 98 espécies de *Manihot*, tidas como válidas, *Manihot esculenta* é a única cultivada, pelas suas raízes ricas em carboidratos. São poucas as espécies que foram até agora utilizadas em programas de melhoramento. Provavelmente o trabalho mais fascinante tenha sido o de Storey e Nichols, com *Manihot glaziovii*, resistente ao vírus do mosaico comum da mandioca. Esta resistência foi transferida a clones comerciais de mandioca, salvando esta cultura da extinção no Leste da África. O presente trabalho relata resultados obtidos em cruzamentos entre clones de *M. esculenta* e espécies silvestres de *Manihot* e contribui com informações para o estudo das relações filogenéticas entre as espécies do gênero.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados neste estudo as espécies silvestres *M. glaziovii* Muell-Arg., *M. pseudoglaziovii* Pax e Hoff, *M. caerulescens* Pohl, *M. pohlilii* Warwa e os clones catelo, vassourinha e branca-de-santacaterina de *M. esculenta*.

Para a realização das hibridações foram eliminadas todas as flores masculinas nas fluorescências com flores femininas aptas a serem polinizadas.

Procedeu-se a abertura da flor com o cabo de um pincel, e o pólen foi pincelado sobre o estigma. A flor, em seguida, foi protegida com fita gomada. Este método apresenta algumas vantagens sobre aquele que consiste na proteção usual com sacos de papel. Há maior eficiência de trabalho e maior segurança contra contaminações por pólen estranho. As polinizações efetuaram-se entre as 10 e 16 horas, procurando dividi-las em duas épocas: a primeira, de outubro até dezembro, e a segunda, de fevereiro até abril, sendo que no primeiro período ocorrem chuvas pesadas, enquanto, no segundo, as chuvas são mais leves, nas condições de Brasília.

Os botões florais das espécies silvestres foram estudados citologicamente; foram fixados em solução de 3 álcool: 1 ácido acético e conservados em álcool 70% de acordo a o *Swaminathan et al.* Procurou-se observar as configurações cromossômicas na diacinese e metáfase I, a separação na anáfase I, e a ocorrência de pontes ou migração retardada de cromossomos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado dos cruzamentos entre espécies silvestres e *M. esculenta*, bem como dos cruzamentos reíporcos, estão nos Quadros I a IV. As Fig. De 1 a 2 mostram as curvas de sobrevivência dos frutos híbridos. Das espécies silvestres usadas neste estudo, somente *M. glaziovii* foi utilizada anteriormente em programas de hibridação interespecífica com a mandioca. Com referencia às hibridações de *M. esculenta* com *M. pseudoglaziovii*, *M. caerulescens* e *M. pohlii*, os dados são os primeiros apresentados. Somente quando se usou *M. pohlii* como receptora de pólen (Quadro II) e para o período de fevereiro/abril, houve formação de sementes. Obteve-se uma taxa média de pagamento desse cruzamento muito baixa 0,09%, considerando os três clones usados, não havendo, entretanto, formação de sementes em nenhum dos cruzamentos envolvendo as outras três espécies silvestres. Storey e Nichols, Magoon e Jennings relataram a compatibilidade de *M. glaziovii* como clones de *M. esculenta*, resultado não confirmado no presente trabalho. Isso pede ser interpretado e explicado pelo tipo de material usado pelos referidos autores, que não deve ter sido de *M. glaziovii*, como é o caso dos indivíduos usados nas hibridações realizadas no presente trabalho, coletados em Crato, Ceará. Provavelmente, como Rogers e Appan explicam, o material entre *M. glaziovii* e a própria mandioca.

Outras espécies silvestres foram testadas quanto à sua compatibilidade com *M. esculenta* por Nassar, que realizou hibridações, com sucesso, de *M. tripartita*, *M. reptans*, *M. procumbens* e *M. oligantha* com clones de *M. esculenta*. Os híbridos oriundos desses cruzamentos encontram-se na coleção viva da Universidade de Brasília. Essa espécies são todas nativas do Brasil Central; têm hábito arbustivo ou subarbustivo. Varias provas indicam serem de origem recente, fato que explica a falta de estabelecimento de fortes barreiras contra os cruzamentos entre as espécies silvestres e *M. esculenta*, permitindo fácil cruzamento por intermédio da polinização artificial.

Quadro I – Compatibilidade entre espécies silvestres e *M. esculenta*, polinizações feitas de outubro de 1983 a janeiro de 1984 (Brasília-DF)*.

Cruzamento (x)	NFP	NFM	NSO	Pegamento (%)
<i>M. glaziovii</i> x "catelo"	285	2	0	0
<i>M. glaziovii</i> x "vassourinha"	312	1	0	0
<i>M. glaziovii</i> x "branca-de-santa-catarina"	297	1	0	0
<i>M. pseudoglaziovii</i> x "catelo"	303	0	0	0
<i>M. pseudoglaziovii</i> x "branca-de-santa-catarina"	252	0	0	0
<i>M. pseudoglaziovii</i> x "vassourinha"	292	0	0	0
<i>M. caerulescens</i> x "catelo"	265	0	0	0
<i>M. caerulescens</i> x "vassourinha"	278	0	0	0
<i>M. caerulescens</i> x "branca-de-santa-catarina"	247	0	0	0
<i>M. pohlii</i> x "catelo"	258	0	0	0
<i>M. pohlii</i> x "vassourinha"	275	0	0	0
<i>M. pohlii</i> x "branca-de-santa-catarina"	252	0	0	0

*NFP = Número de flores polinizadas

NFM = Número de frutos maduros

NSO = Número de sementes obtidas

Quadro II – Compatibilidade entre espécies silvestres e *M. esculenta*, polinizações feitas de fevereiro a abril de 1984 (Brasília-DF)*.

Cruzamento (x)	NFP	NFM	NSO	Pegamento (%)
<i>M. glaziovii</i> x "catelo"	286	12	0	0
<i>M. glaziovii</i> x "vassourinha"	258	15	0	0
<i>M. glaziovii</i> x "branca-de-santa-catarina"	167	13	0	0
<i>M. pseudoglaziovii</i> x "catelo"	280	0	0	0
<i>M. pseudoglaziovii</i> x "branca-de-santa-catarina"	235	0	0	0
<i>M. pseudoglaziovii</i> x "vassourinha"	271	0	0	0
<i>M. caerulescens</i> x "catelo"	252	0	0	0
<i>M. caerulescens</i> x "vassourinha"	275	0	0	0
<i>M. caerulescens</i> x "branca-de-santa-catarina"	231	0	0	0
<i>M. pohlii</i> x "catelo"	297	4	1	0,11
<i>M. pohlii</i> x "vassourinha"	281	3	1	0,12
<i>M. pohlii</i> x "branca-de-santa-catarina"	240	3	0	0

*NFP = Número de flores polinizadas

NFM = Número de frutos maduros

NSO = Número de sementes obtidas

Quadro III – Compatibilidade entre *M. esculenta* e espécies silvestres, polinizações feitas de outubro de 1983 a janeiro de 1984 (Brasília-DF)*.

Cruzamento (x)	NFP	NFM	NSO	Pegamento (%)
"catelo" x <i>M. glaziovii</i>	197	0	0	0
"catelo" x <i>M. pseudoglaziovii</i>	215	0	0	0
"catelo" x <i>M. caerulescens</i>	203	0	0	0
"catelo" x <i>M. pohlii</i>	185	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. glaziovii</i>	191	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. pseudoglaziovii</i>	198	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. caerulescens</i>	189	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. pohlii</i>	196	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. glaziovii</i>	158	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. pseudoglaziovii</i>	163	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. caerulescens</i>	142	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. pohlii</i>	150	0	0	0

*NFP = Número de flores polinizadas

NFM = Número de frutos maduros

NSO = Número de sementes obtidas

Quadro IV – Compatibilidade entre *M. esculenta* e espécies silvestres, polinizações feitas de fevereiro a abril de 1984 (Brasília-DF)*.

Cruzamento (x)	NFP	NFM	NSO	Pegamento (%)
"catelo" x <i>M. glaziovii</i>	228	0	0	0
"catelo" x <i>M. pseudoglaziovii</i>	195	0	0	0
"catelo" x <i>M. caerulescens</i>	207	0	0	0
"catelo" x <i>M. pohlii</i>	235	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. glaziovii</i>	288	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. pseudoglaziovii</i>	235	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. caerulescens</i>	193	0	0	0
"vassourinha" x <i>M. pohlii</i>	272	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. glaziovii</i>	315	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. pseudoglaziovii</i>	264	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. caerulescens</i>	275	0	0	0
"branca-de-santa-catarina" x <i>M. pohlii</i>	304	0	0	0

*NFP = Número de flores polinizadas
 NFM = Número de frutos maduros
 NSO = Número de sementes obtidas

Inversamente a essas espécies arbustivas ou subarbutivas de origem mais recente, as três espécies que mostram incompatibilidade com *M. esculenta* (*M. glaziovii*, *M. pseudoglaziovii*, e *M. caerulescens*) são arbóreas, nativas do Nordeste brasileiro, e dão indicação de origem mais antiga, com barreiras estabelecidas contra os cruzamentos. Entre as quatro espécies silvestres, *M. pohlii* é a única que mostrou limitada compatibilidade com *M. esculenta* no presente trabalho; tem situação intermediária quanto às características morfológicas e de habitat natural. Foi coletada do leste da Bahia, e sua ocorrência foi relatada também no Espírito Santo e no Rio de Janeiro.

Para estabelecer relações filogenéticas entre a mandioca e as espécies silvestres será conveniente aplicar o conceito de espécies de Harlan e de Wet usando conjuntos gênicos primários, secundários e terciários para referir ao grau de parentesco entre as espécies de um certo grupo. Assim, pode-se enquadrar as espécies *M. reptans*, *M. procumbens*, *M. tripartita*, *M. anômala*, *M. aligantha* e *M. pohlii* no conjunto gênico secundários GP2, de *M. esculenta* e as outras espécies investigadas, *M. glaziovii*, *M. pseudoglaziovii* e *M. caerulescens*, no conjunto gênico terceiro GP3 (see photo gallery).

Como se pode observar nos Quadros I a IV não há diferenças entre os clones de *M. esculenta* usados, com respeito à compatibilidade com as espécies silvestres. Provas estão sendo reunidas para mostrar que em *M. esculenta*, ao contrario do que é normalmente conhecido, não ocorre grande variabilidade genética a julgar pelo estudo de suas descendências.

Nas curvas de desenvolvimento dos frutos híbridos (see gallery photo nº 67), observa-se que houve diferenças no tempo de permanência dos mesmos nos cruzamentos em que entraram as quatro espécies usadas. Trata-se, possivelmente, de maior afinidade entre *M. glaziovii* e *M. esculenta* do que entre esta última e *M. pseudoglaziovii* e *M. caerulescens*, que não deram frutos, mesmo sem sementes. Um dos fatores que pode ter contribuído para a queda dos frutos híbridos seriam as chuvas nas primeiras semanas de desenvolvimento. Observou-se que no período de fevereiro-abril, o tempo de permanência dos frutos, em geral, foi maior do que no período de outubro-janeiro. Nesta época, normalmente ocorrem chuvas muito fortes, enquanto que as chuvas de fevereiro-abril são mais leves.

Os resultados obtidos das contagens cromossômicas realizadas em células meióticas, fase diacinese, estão reunidos no Quadro V. em todas as espécies examinadas o número haplóide de cromossomos foi de 18. Todas as espécies mostraram meiose normal, com pequena freqüência de univalentes, trivalentes e quadrivalentes, uma dindicação de provável origem poliplóide deste grupo de espécies. O número haplóide n = 18 da *M. pseudoglaziovii* e *M. pohlii* é relatado pela primeira vez.

Quadro V – Associações cromossômicas encontradas em células meióticas das espécies silvestres do gênero *Manihot* e clones de *M. esculenta**.

	Nº médio por célula das associações cromossômicas				Nº de PMC investigados
	I	II	III	IV	
<i>M. glaziovii</i> tipo Crato	0,08	17,92			14
<i>M. glaziovii</i> tipo IAC	0,37	17,57	0,06		32
<i>M. pseudoglaziovii</i>	0,21	17,76	0,03		33
<i>M. caerulescens</i>	0,3	17,69	0,01		12
<i>M. pohlii</i>	0,71	17,01	0,28		14
<i>M. esculenta</i> "Catelo"	1,00	16,79	0,16	0,05	18
<i>M. esculenta</i> "Vassourinha"	0,92	16,96	0,08	0,04	25
<i>M. esculenta</i> "Branca-de-santa-catarina"	0,87	16,87	0,26		15

*I = Univalentes
 II = Bivalentes
 III = Trivalentes
 IV = Quadrivalentes

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq. O estabelecimento de um coleção viva a partir de 1976 constitui iniciativa do Canadian International Development Research Center – IDRC.

REFERÊNCIAS

1. Harlan, J. R. 1976. Genetic resources in wild relatives of crops. *Crop Sci.*, **16**: 329-333.
2. Harlan, J. R. e J. de Wet, J. M. 1971. toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon.*, **20**: 509-517.
3. Jennings, D. L. 1957. Further studies in breeding cassava for virus rsistance. *E. Afr. Forest J.*, **22**: 213-219.
4. Magoon, M. L. 1967. Recent trends in cassava breeding in India. *In Inter. Sympm. Trop. Root Crops. Trinidad*, p. 100-107.
5. Magoon, M. L. 1968. Some immediate problems, possibilities and experimental approaches in relation to genetic improvement of cassava. *Ind. J. Genet. & Plant Breed.*, **28**: 109-125.
6. Martin, F. W. 1976. Cytogenetics and plant breeding of cassava. A review. *Plant Breed. Absts.*, **46**: 909-916.
7. Nassar, Nagib M. A. 1978a. Conservation of the genetic resources of cassava. Determination of wild species localities with emphasis on probable origin. *Econ. Bot.*, **32**: 311-320.
8. Nassar, Nagib M. A. 1978b. Interspecific hy bridization between cassava and some Manihot species. *Egypt. J. Genet. & Cyt.*, **8**: 175-179.
9. Nassar, Nagib M. A. 1978c. Some further wild Manihot species of potential value for cassava breeding. *Can J. Plant Sci.*, **58**: 915-916.
10. Nassar, Nagib M. A. e Dorea, G. 1972. protein content in some cassava cultivars and its hybrid with wild Manihot species. *Turrialba*, **32**: 429-432.
11. Nassar, Nagib M. A. e O'Hair, S. 1985. genetic variation of cassva clones in relation to seed germination. *Ind. J. genet. & Plant Breed.* (in press).
12. Pereira, A. S., Lorenzii, J. O., Monteiro, D. A. e Veiga, A. A. 1981. Estudo de uma progenie de autofecundação de mandioca "Guaxupe". *Bragantia* **40**: 217-219.
13. Rogens, D. e Appan, S. 1973. *Manihot, Mannihotoides (Euphorbiaceae)*. *Flora neotropica*. Nova York, Hafner Press.
14. Storey, H. H. e F. W. 1938. Studies of the mosaic of cassava. *Ann. Appl. Biol.*, **25**: 290-806.
15. Swaminathan, N. S., Magoon, M. L. e Mehra, K. L. 1954. A simple propionocarmine PMC smmear method for plants with small chromosomes. *Ind J. Genet. & Plant Breed.*, **14**: 87-88.

(Recebido para publicação em 08/10/1985)