

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 2

Campinas, Fevereiro de 1942

N.º 2

TRATAMENTO DE MANDIOCA PELA COLCHICINA

II. FORMAS POLIPLÓIDES OBTIDAS

E. A. Graner (*)

INTRODUÇÃO

Em publicação anterior (4), pudemos constatar, por meio de análise estatística pormenorizada, que plantas de mandioca, tratadas pela colchicina, formaram dois grupos, com relação à média do diâmetro maior dos estômatos: um grupo com a média igual a 30,6 micra e outro com a média igual a 40,7 micra. A média do diâmetro maior dos estômatos nas plantas controles foi igual a 29,2 micra. Adiantamos, então, naquele trabalho (4), que talvez estivéssemos de posse de um grupo de plantas poliplóides produzidas experimentalmente pela colchicina.

Agora, depois do estudo pormenorizado da morfologia das plantas e da determinação do número de cromosômios, apresentamos, além da descrição do método usado, a confirmação daquele fato.

MATERIAL E MÉTODOS

Estacas de mandioca da variedade Vassourinha Paulista foram obtidas da Fazenda Modelo da Escola "Luiz de Queiroz". Infelizmente, não foi possível obter estacas de um só clone e, parece-nos agora, depois dos estudos realizados, que o material fornecido era formado por clones diferentes. As estacas representavam, porém, a variedade Vassourinha, que vem sendo grandemente cultivada em nosso Estado, e com a qual, portanto, pareceria mais razoável iniciarmos as observações sobre o efeito da colchicina na produção de formas poliplóides desta planta, até agora não observadas (2, 5).

(*) Da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

As estacas, medindo cerca de 20 cm, foram plantadas em vasos de barro, de 22 cm de altura por 26 cm de boca.

Estes vasos foram conservados em canteiros de areia, molhados diariamente, e as estacas, após um mês da plantação, possuíam já brotação suficiente para o início do tratamento. Foi sempre deixado o broto principal da estaca (o mais vigoroso) e arrancados os demais. Os vasos foram transportados para laboratório e aí iniciado o tratamento, com soluções de colchicina a 0,5% e 1%, aplicadas na parte terminal do broto, por meio de um pequenino pedaço de algodão, que ficava mantido preso por entre as pequeninas folhas que iniciavam o desenvolvimento. Das plantas tratadas, vinte receberam a solução a 0,5% e vinte a solução a 1%; dez plantas ficaram para controle, cinco das quais receberam um pedacinho de algodão embebido em água. Durante 8 dias, as plantas permaneceram em laboratório, sendo examinadas diariamente. A fim de que o algodão não ficasse muito seco, era sempre molhado com as soluções ou água, duas a três vezes ao dia. Após oito dias de tratamento, o algodão foi retirado e as plantas removidas para a estufa, sendo os vasos novamente enterrados em canteiros de areia. O desenvolvimento após o tratamento foi bastante irregular. As plantas tratadas permaneceram, cerca de um mês, paralisadas, enquanto as plantas controles se desenvolviam rapidamente, como se pode ver nas figuras 1 e 2. Quarenta dias após o tratamento, as plantas controles, bem como algumas tratadas foram removidas para canteiros, fora da estufa: 12 plantas do tratamento 0,5%, 8 do tratamento 1% e 9 plantas controles, uma tendo morrido na estufa. Como já mencionamos em outra publicação (6), as plantas de mandioca são muito sensíveis à redução de luz, não podendo, assim, ser mantidas na estufa senão o tempo necessário para que a probabilidade de perda se tornasse menor. As restantes plantas tratadas apresentaram, na estufa, desenvolvimento muito irregular. Logo que estas se mostravam em condições, eram também removidas para os canteiros. Os pormenores do tratamento podem ser melhor observados no quadro I. Mais ou menos um mês depois de transplantadas para canteiros, foi necessário remover os brotos terminais de quase todas as plantas, tratadas ou não, devido a um forte ataque pelas moscas dos brotos novos, *Lonchaea pendula* Bezzi e *Atherigona excisa* Thom. Esta operação foi repetida durante alguns dias, atrasando, por isso, o desenvolvimento das plantas e fazendo com que a brotação se tornasse bastante irregular. Durante o tratamento, e principalmente durante a permanência das plantas em vasos, na estufa, foi necessário remover diariamente todos os brotos secundários que partiam das estacas, a fim de forçar o desenvolvimento dos brotos tra-

tados. De acordo com o que se observa pelo quadro I, a percentagem de plantas alteradas, em ambas as soluções, foi bastante grande. Todo o resto do ciclo, que é aproximadamente de um ano, as plantas permaneceram nos canteiros, e aí foram feitas todas as demais observações.

QUADRO I

TRATAMENTO DE MANDIOCA PELA COLCHICINA

Concentração em %	Tempo de tratamento (dias)	Número de plantas tratadas	Mortas pelo tratamento	Quebradas	Transplantadas para canteiros	4n	8n	Com quimeras	Normais
0,5	8	20	6	0	14	5	0	8	1
1,0	8	20	8	1	11	3	1	5	2

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CROMOSÔMIOS

Com três meses de permanência em canteiros, as plantas forneceram material para uma análise do tamanho dos estômatos, a cujos resultados já nos referimos anteriormente (4). Com cerca de 6 meses, as plantas possuíam já uma brotação regular, que permitiu a retirada de estacas para uma determinação do número de cromosômios. De cada planta do canteiro foram feitas 3 estacas, que foram plantadas em vasos, e depois fixadas as raízes novas. Das 25 plantas tratadas e transplantadas para canteiros, fizemos uma análise do tamanho dos estômatos em 22 delas, deixando 3 ao lado, por terem tido crescimento muito retardado e permanecido na estufa por muito tempo, não estando, por isso, em condições de ser comparadas com as demais. Das 22 plantas analisadas quanto ao tamanho dos estômatos, eliminamos, antes de proceder à contagem do número de cromosômios, 6 delas, que apresentavam o aspecto evidente de plantas com quimeras, alguns galhos sendo semelhantes às

plantas controles e um ou mais galhos apresentando-se com aspecto alterado. O resultado da determinação do número de cromosômios nas 16 plantas restantes está contido no quadro II, estando ao lado do número de cromosômios o valor em micra do diâmetro maior do estômato e também o aspecto morfológico apresentado pelas plantas.

QUADRO II

NÚMERO DA PLANTA	\bar{v} EM μ DO DIÂMETRO MAIOR DOS ESTÔMATOS	ASPECTO MORFOLÓGICO	NÚMERO DE CROMOSÔMIOS
1/4	31,3	Normal	36
1/8	28,8	Normal	36
05/12	29,8	Normal	36
1/1	39,8	Alterado	72
1/5	44,8	Alterado	72
1/6	42,4	Alterado	72
05/4	40,9	Alterado	72
05/6	41,9	Alterado	72
05/10	40,6	Alterado	72
1/9	37,3	Alterado	144
05/7	40,8	Normal	36
05/9	31,8	Alterado	72
1/3	42,3	Quimera	72
05/1	30,2	Quimera	72
05/8	29,7	Quimera	36
05/11	38,3	Quimera	72

Podemos verificar, de acordo com a separação feita no quadro II, que houve correlação muito pronunciada entre tamanho dos estômatos e número de cromosômios, bem como destes dois com o aspecto apresentado pela planta. As três primeiras plantas (1/4-1/8 e 05/12) tiveram, como tamanho do diâmetro maior do estômato, um valor cuja média não diferiu da do grupo controle; o seu aspecto morfológico foi também idêntico ao das plantas controles e o número de cromosômios não foi

alterado. Às sete plantas seguintes (1/1-1/5-1/6-05/4-05/6-05/10 e 1/9) tinham como média do diâmetro maior dos estômatos 40,7 micra, valor bem maior, portanto, que aquele do grupo de plantas controles; o aspecto morfológico destas plantas era também bastante diferente daquele das plantas controles, conforme minúcias que serão apresentadas a seguir, e o número de cromosômios também se alterou, duplicando nas 6 primeiras e quadruplicando na última. Na parte de baixo do quadro II encontram-se 4 plantas (1/3-05/1-05/8-05/11) que mais tarde se apresentaram também com aspecto quimérico, tornando, por isso, não muito segura a comparação entre tamanho dos estômatos e número de cromosômios. Apesar disso, apenas uma delas, a de n.º 05/1, não correspondeu à correlação encontrada. As plantas n.ºs 05/7 e 05/9, contidas também no quadro II, foram as únicas onde o tamanho do estômato não correspondeu ao número de cromosômios, enquanto o aspecto morfológico das plantas correspondeu perfeitamente. Tendo aparecido tantas plantas com quimeras, estas duas não devem ser tomadas como exceções, mas, sim, incluídas no grupo de plantas com quimera, donde a dificuldade de se analisar essa correlação.

Verificamos, assim, que a separação por nós feita preliminarmente, quanto ao tamanho do diâmetro maior dos estômatos, foi bastante razoável, todas aquelas plantas com um diâmetro maior, estatisticamente igual à média 40,6 micra, excetuando-se as que se apresentaram mais tarde de aspecto quimérico, tendo o número de cromosômios duplicado ou quadruplicado. O tamanho dos estômatos pode, portanto, ser tomado como bom índice da poliploidia, devendo-se, porém, levar em consideração, as complicações que porventura surjam, quando se tratar de plantas quiméricas, umas vezes perceptíveis, outras não.

Nesta experiência, com poucas plantas tratadas, não parece razoável fazer um cálculo da percentagem de alteração obtida, mas podemos dizer que a mandioca responde satisfatoriamente ao tratamento, o número de plantas alteradas, no total, tendo sido bastante grande.

FORMAS POLIPLÓIDES

Do tratamento das plantas de mandioca pela colchicina, cujo método e determinação do número de cromosômios foram atrás relatados, obtivemos formas poliplóides, tetraplóides e octoplóide, além de plantas quiméricas; uma observação, com mais minúcias, dessas plantas, torna-se agora bastante interessante.

I -- Morfologia :

Conforme mencionamos atrás, as plantas que foram tratadas, e se apresentaram com aspecto morfológico modificado, tinham a base subterrânea normal diplóide, uma vez que o tratamento foi aplicado na parte apical de brotos de estacas. Observando-se as figuras 3 e 4, pode-se notar a zona de transição dos dois tecidos. A figura 3 mostra a haste principal de uma planta controle, e a figura 4 a haste principal de uma planta alterada, podendo-se observar, perfeitamente, nesta última figura, um engrossamento, indicado pela flecha e correspondente à troca de tecidos produzida pela duplicação do número de cromossomos.

As folhas das plantas, cujo número de cromossomos ficou alterado, se apresentam bastante diferentes das folhas das plantas controles. A figura 30 mostra uma folha de planta diplóide e a figura 31 uma folha de planta tetraplóide. As folhas das plantas tetraplóides são um pouco menores e os seus lobos são muito mais largos. Qualquer saliência que os lobos possuam no seu contorno se torna muito mais pronunciada nas folhas das plantas alteradas. O alargamento dos lobos, principalmente nas extremidades, faz com que a folha se diferencie muito das folhas das plantas controles, tornando-se, por isso, um caráter ótimo para identificação das plantas alteradas.

A figura 32 mostra uma folha de plantas obtidas do tratamento, e que, a princípio, foram tratadas como formas poliplóides mais complexas. Estas plantas podem ser observadas nas figuras 14 e 15 e, determinado o número de cromossomos, verificamos tratar-se de duplicação, o enrugamento produzido nas folhas sendo produzido provavelmente pela presença de tecidos diplóides, ficando a planta, portanto, quimérica.

Em cortes histológicos, as folhas das plantas tetraplóides são muito mais grossas, conforme dissemos em outra publicação (5).

Aos seis meses, as plantas obtidas do tratamento começaram a florescer, permitindo assim uma comparação entre as flores das plantas alteradas e as flores das plantas controles. A figura 33 mostra a flor feminina. Ao lado esquerdo, está ilustrada a flor de uma planta controle, vista em duas posições. Ao lado direito, vê-se a flor feminina de uma planta tetraplóide. Pode-se observar perfeitamente que a flor feminina da planta tetraplóide é muito maior. Na figura 34 temos uma comparação entre a flor masculina : à esquerda, a da planta controle e à direita, a de planta tetraplóide. O mesmo se pode dizer a respeito do aumento do tamanho, em geral, salientando-se muito o aumento de tamanho das anteras na flor de uma planta tetraplóide.

O florescimento das plantas tetraplóides foi normal em comparação com as plantas controles. Os pormenores sobre florescimento de mandioca podem ser vistos em outra publicação nossa (6). O que foi observado a respeito das folhas e das flores das plantas tetraplóides, em comparação com as plantas diplóides, se aplica praticamente à comparação das folhas e flores de plantas octoplóides.

Ao terminar o primeiro ano, as plantas encontravam-se no fim do seu primeiro ciclo vegetativo. Em vista do ataque pela mosca dos brotos novos, elas se apresentavam ramificadas muito irregularmente. Em plantações comerciais é costume deixar o arrancamento das plantas para depois do segundo ciclo vegetativo, que abrange, ao todo, 18 meses, por se obter assim uma produção muito maior, muitas vezes duplicada, com muita redução dos tratos culturais no segundo ciclo. Para o nosso fim, não havia conveniência em deixar as plantas obtidas para ser arrancadas depois do segundo ciclo, pois, como já dissemos, elas possuíam uma parte aérea tetraplóide e uma base subterrânea diplóide. Era mais interessante, portanto, arrancá-las no final do seu primeiro ciclo vegetativo, a-fim-de se propagar vegetativamente a parte aérea e assim se obterem indivíduos totalmente tetraplóides.

A produção de raízes das plantas quiméricas, obtidas pelo tipo de tratamento empregado, foi ainda satisfatória. As figuras 5 e 6 mostram a produção de duas plantas controles. As figuras 7 e 8 ilustram a produção de duas plantas com a parte aérea tetraplóide e base diplóide, e a figura 9 mostra uma planta cuja parte aérea era octoplóide. Em todos os casos, as raízes se apresentam completamente deformadas, por terem tido um desenvolvimento inicial em vasos. Uma vez que as primeiras raízes emitidas pelas estacas são já as raízes que se comportam como órgãos de reserva, qualquer obstáculo que impeça o seu desenvolvimento normal faz com que elas se tornem deformadas, deformação esta que persiste depois do seu engrossamento. A produção das plantas com parte aérea tetraplóide e raízes diplóides, se bem que inferior àquela das plantas diplóides controles, ainda foi satisfatória, o mesmo não acontecendo com a planta com raízes diplóides e parte aérea octoplóide. O desequilíbrio aqui parece ser tal que não permite mais uma formação razoável de raízes de reserva.

Arrancadas as plantas, foram então preparadas estacas da sua parte aérea, com as quais já tentamos realizar uma experiência preliminar sobre produção de raízes em plantas tetraplóides, se bem que bastante preliminar, pois o número de estacas fornecidas por cada planta tetraplóide obtida pelo tratamento foi muito pequeno. Foi necessário utilizar

quase que todas as ramificações da planta, resultando disso estacas muito irregulares.

As plantas tetraplóides foram também mantidas em canteiros, para manutenção das formas obtidas, e seu desenvolvimento pode ser observado nas figuras 10 a 13. A figura 10 mostra uma planta controle e a figura 11 uma planta tetraplóide, ambas plantadas no mesmo dia. Observa-se, pelas figuras citadas, que o desenvolvimento da planta tetraplóide é um pouco retardado, as diferenças quanto à forma da folha ficando bem acentuadas. A figura 12 também ilustra uma planta tetraplóide plantada dois meses antes que a planta da figura 11 e podemos verificar que só com esta diferença na plantação ela se apresenta mais ou menos em igualdade de porte com a planta controle, mostrada na figura 10. A figura 13 mostra uma planta octoplóide, plantada na mesma ocasião que a planta da figura 12, podendo-se notar assim que o seu crescimento é ainda mais vagaroso.

As figuras 16 a 18 mostram uma comparação entre plantas controles e plantas tetraplóides e octoplóides, aos 6 meses. Na figura 16 encontram-se duas plantas controles, e na figura 17, duas tetraplóides, todas mantidas em canteiro. O aspecto geral das plantas é bastante diferente, apresentando-se as plantas controles com uma vegetação mais abundante que a das plantas tetraplóides. Pode-se observar que a forma das folhas permite uma identificação fácil das plantas tetraplóides, em comparação com as plantas controles. A figura 18 ilustra uma planta octoplóide. Suas folhas são bastante semelhantes às das plantas tetraplóides, sendo, porém, um pouco menores. As figuras 19 e 20 ilustram as mesmas plantas das figuras 16 e 17, no fim do seu primeiro ciclo vegetativo. Enquanto nas plantas controles, figura 19, duas hastes brotaram de cada estaca em cada planta, nas plantas tetraplóides, figura 20, somente uma haste brotou em cada estaca. No geral, as plantas controles têm uma tendência para formar duas hastes principais ao passo que nas tetraplóides esta ocorrência foi até agora mais ou menos rara. As hastes das plantas tetraplóides são um pouco mais grossas que as das diplóides.

Terminado o primeiro ciclo vegetativo das plantas poliplóides obtidas, elas foram arrancadas, a-fim-de dar uma idéia da produção de raízes. As figuras 21, 22 e 23 ilustram a produção de três plantas controles, e as figuras 24, 25 e 26, a produção de três plantas tetraplóides. As raízes mostradas nas figuras 25 e 26 apresentam-se um pouco deformadas, por terem as plantas respectivas permanecido durante algum tempo em vaso, no início do seu desenvolvimento. Como se pode notar nessas figuras, a variação individual é muito grande, fato este bastante

comum a todos que conhecem o cultivo desta planta: Assim, em se tratando de poucos indivíduos e, além disso, cultivados em condições muito especiais em canteiros, não há possibilidade de se avaliar a produção comercial. As raízes das plantas tetraplóides cultivadas em canteiros tiveram uma tendência para engrossamento, como mostra a figura 29. Nesta figura, à esquerda, vê-se a mais grossa raiz encontrada nas plantas controles e, à direita, uma raiz das plantas tetraplóides, dentre as várias que se apresentavam com a mesma grossura. A figura 27 mostra a produção de uma planta octoplóide, e a figura 28 a produção de uma planta quimérica, com folhas muito irregulares, ilustrada nas figuras 14 e 15. A produção de raízes nas plantas tetraplóides é ainda bastante razoável, enquanto que nas outras formas, octoplóides e quiméricas, não é mais satisfatória.

A experiência realizada no campo, com plantas tetraplóides e diplóides, foi também arrancada no fim do seu primeiro ciclo vegetativo e lá não pudemos constatar um engrossamento das raízes, tão pronunciado nas formas tetraplóides cultivadas em canteiro. As plantas da experiência de campo se desenvolveram muito irregularmente, pois fizemos algumas repetições e para isso tivemos que aproveitar toda a brotação de cada planta tetraplóide obtida no tratamento, dando, naturalmente, estacas muito irregulares. O desenvolvimento das plantas tetraplóides no campo foi também retardado, sendo a brotação também menor que a brotação das plantas diplóides; elas apresentaram, por isso, em média, uma produção menor que a produção média dos controles. Os detalhes desta experiência, inclusive uma análise circunstanciada de produção e do conteúdo, em amido, das formas diplóides e tetraplóides, serão dados em uma outra publicação. Possuímos agora um número razoável de estacas das plantas tetraplóides para realizar uma experiência em melhores condições, principalmente no que se refere à uniformidade das estacas a serem empregadas.

II — Citologia :

A citologia das plantas de mandioca não é muito fácil de ser estudada. Tratamos, em outra publicação (6), dos estragos causados na flor masculina pela larva da mosca *Teleocoma crassipes* Aldrich, estragos estes que podem ser de tal natureza a impedir o desenvolvimento completo das flores masculinas, dificultando, assim, muito os trabalhos de cruzamento e também os citológicos, uma vez que o ataque se verifica quando o botão se encontra muito pequeno. As divisões meióticas são

encontradas em botões de cerca de 1,5 mm de diâmetro, sendo necessário retirar as anteras por meio de uma binocular. Ao lado destas dificuldades, o tamanho dos cromosômios é extremamente pequeno, o que muito dificulta a sua observação.

A técnica utilizada foi diferente daquela por nós usada anteriormente (2). Empregamos para estas nossas observações unicamente o método do carmim acético, fixando sempre os botões em três partes de álcool para uma de ácido acético. Em outro trabalho (6) pudemos calcular aproximadamente o número de grãos de polen formados por uma flor masculina e, tomando como base o mesmo número de células-mães presentes em cada saco polínico, isto é, 10 em cada um, teríamos 40 para cada antera e 400 para todo o botão masculino, uma vez que se encontram aí 10 estames. Verificamos, assim, embora aproximadamente, que o número de células-mães produzidas em cada botão é muito pequeno. Como nem todas elas se encontram no mesmo estado da divisão meiótica e, levando-se em conta que, pelo método do carmim acético, muitas são perdidas, ficam muitas vezes numa lâmina apenas algumas células em divisão, nas quais nem sempre se podem encontrar figuras boas para observação. Além disso, as células-mães são alongadas no sentido do eixo do fuso acromático da primeira divisão de modo que, no geral, as células em metafase, que ficam na lâmina, apresentam uma vista lateral desta fase da meiose, o que não permite, então, uma análise dos cromosômios. Esta tem assim que ficar limitada às pouquíssimas células que às vezes apresentam uma metafase em vista mais ou menos polar. A figura 35 ilustra uma metafase-anáfase inicial de uma planta controle diplóide, na qual se podem observar os cromosômios mais em formas de tetrades. O número aí encontrado é 18, 36 sendo o número diplóide de cromosômios das plantas controles. A figura 36 ilustra uma anáfase inicial de uma planta tetraplóide e as figuras 37 e 38, dois focos de uma mesma anáfase inicial em planta tetraplóide. Embora o número dos cromosômios não pudesse ter sido determinado com exatidão, podemos observar a presença de uni-, bi-, tri-, tetra- e polivalentes. Um grupo polivalente muito elevado pode ser verificado no centro da figura 36. Nas figuras 37 e 38 podemos observar, na parte superior, um grupo tetravalente. A figura 39 mostra uma metafase de uma planta octoplóide. Esta foi a única metafase em planta octoplóide na qual conseguimos fazer alguma observação. Mais de trinta unidades podem facilmente ser constatadas na microfoto citada, indicando assim tratar-se de vários grupos polivalentes, uma vez que temos uma metafase de uma planta octoplóide, cuja forma diplóide apresenta 18 unidades na primeira divisão meiótica.

A figura 40 mostra a proporção existente entre os cromosômos e a célula-mãe, que é muito grande, possuindo um diâmetro de cerca de 75 micra. O diâmetro da metafase é aproximadamente 1/5 do diâmetro da célula-mãe.

Uma análise das tetrades formadas após a divisão meiótica encontra-se no quadro III. Três botões examinados em plantas controles mostraram sempre tetrades normais, conforme consta da parte inferior do referido quadro. Três botões de plantas tetraplóides, constantes da parte superior do mesmo quadro, apresentaram, além de tetrades normais, muitas tetrades com 5, 6, 7 e até 8 células, que se caracterizaram por estarem presentes, no geral, 4 células grandes, as demais sendo muito pequenas. O mesmo resultado encontrado nas plantas tetraplóides encontra-se na forma octoplóide, no único botão que foi possível examinar. É interessante notar, sempre que haja mais células do que 4, que as demais são muito pequenas, conforme se pode verificar pela figura 41. Nesta figura estão ilustradas as tetrades normais e algumas das outras formas mais geralmente encontradas nas plantas tetraplóides e octoplóides.

QUADRO III

POLEN

Formas	Normais	Não coloridos e menores	Não coloridos e deformados	Muito pequenos	% de polen normal
4n					
A	139	22	—	7	82,7
B	131	26	3	4	79,9
C	213	55	3	17	74,9
Controle					
A	93	73	3	—	55,0
B	121	77	—	—	61,1
C	203	175	1	—	53,6

As figuras 42 e 43 ilustram os grãos de polen encontrados nas formas controle e tetraplóide, não tendo sido possível proceder-se à sua análise na forma octoplóide, por motivos já citados anteriormente. O grão de polen das plantas tetraplóides é bem maior que o das plantas controles (fig. 42), apresentando também muito mais variação quanto ao tamanho. Correspondentemente às células muito pequenas formadas nas tetrades,

encontramos, nos tetraplóides, grãos de polen muito pequenos, conforme se verifica perfeitamente pela figura 43. Uma análise destes grãos de polen foi feita e encontra-se no quadro IV. Além de grãos de polen que se colorem normalmente, pudemos fazer mais três classes: os que não se colorem perfeitamente e são menores, os que não se colorem e apresentam-se deformados e os muito pequenos. Nas plantas controles, em três botões examinados (parte inferior do referido quadro), pudemos constatar, em média, apenas 50% de grãos de polen que parecem normais. As plantas tetraplóides, conforme o exame também de três botões cujos resultados se encontram na parte superior do quadro IV, apresentam uma média de 70% de grãos de polen do tipo que chamamos normal. Chamamos aqui de normais os grãos de polen que se apresentam bem coloridos e bem formados, nada se sabendo sobre o comportamento dos demais na polinização.

QUADRO IV

NÚMERO DE CÉLULAS NAS TETRADES

Formas	4	5 (4 grandes + 1 pequeno)	6 (4 grandes + 2 pequenos)	7 (4 grandes + 3 pequenos)	8 (4 grandes + 4 pequenos)
4n					
A	24	6	2	2	—
B	16	10	6	7	1
C	39	31	19	4	2
8n					
A	30	18	7	1	1
Controle					
A	85	—	—	—	—
B	97	—	—	—	—
C	109	—	—	—	—

RESUMO E DISCUSSÃO

1 — No presente trabalho apresentamos os resultados obtidos pelo tratamento, com colchicina, de plantas de mandioca Vassourinha Paulista, variedade grandemente cultivada no Estado de São Paulo.

2 — O método aplicado foi descrito em detalhe, tendo sido empregadas duas soluções de colchicina, uma a 0,5% e outra a 1%, ambas produzindo praticamente os mesmos resultados. Um resumo dos resultados pode ser visto no quadro I.

3 — Determinando-se o número de cromosômios das plantas alteradas obtidas, constatou-se a presença de plantas tetraplóides, octoplóides e quiméricas. Uma comparação entre o número de cromosômios e o tamanho do diâmetro maior dos estômatos foi feita, e, apenas com duas exceções, verificou-se que existe uma forte correlação entre o aumento do tamanho do diâmetro maior dos estômatos e o aumento do número de cromosômios. As duas exceções encontradas não parecem ser de muito valor, pois o número de plantas com quimeras, achadas após o tratamento, foi muito grande.

Verifica-se, assim, que o tamanho do estômato pode, também na mandioca, ser tomado como índice da poliploidia, devendo-se, porém, levar em consideração as complicações que podem aparecer quando se tratar de plantas quiméricas, encontradas frequentemente após o tratamento. Os resultados da comparação, inclusive a comparação com a forma da planta, encontram-se no quadro II.

4 — Uma descrição morfológica das plantas tetraplóides, em comparação com as diplóides controles, foi feita. Observou-se que o alargamento dos lobos nas folhas das plantas tetraplóides faz com que estas plantas possam ser identificadas com facilidade.

Em uma segregação obtida na plantação de sementes da mesma variedade que aqui foi tratada pela colchicina (7) obtivemos plantas cujas folhas se aproximam bastante das folhas da forma tetraplóide. Assim, parece possível estabelecer-se um clone, a partir de sementes, cujas folhas sejam bem semelhantes às das plantas tetraplóides obtidas, com os lobos mais largos, saliências na sua parte mediana muito pronunciada e maior alargamento ainda na extremidade dos lobos (fig. 31).

Uma comparação entre flores femininas e masculinas de plantas tetraplóides e controles mostrou que, nas formas tetraplóides, elas ficam aumentadas (figs. 33 e 34).

No que diz respeito às folhas e às flores, o mesmo se aplica praticamente às formas octoplóides, que têm um desenvolvimento muito vago-roso. Formas quiméricas, com folhas muito enrugadas, figura 32, não chegaram ainda a florescer.

Em se tratando de plantas cujo valor comercial reside na produção de raízes, torna-se necessário notar aqui que as plantas obtidas pelo tratamento só são poliplóides com referência à sua parte aérea, as raízes

dos indivíduos tratados permanecendo, porem, diplóides. A produção nestas plantas quiméricas foi ainda possível, conforme mostram as figuras 7, 8 e 9, as plantas com base diplóide e parte aérea tetraplóide produzindo raízes um pouco mais finas que as plantas inteiramente diplóides e controles, e as plantas com base diplóide e parte aérea tetraplóide perdendo muito na sua produção.

Da parte aérea das plantas poliplóides obtidas, foram feitas estacas no fim do primeiro ciclo vegetativo, as quais foram plantadas em canteiros e no campo, a-fim-de fornecerem uma idéia da produção. O desenvolvimento dos indivíduos tetraplóides foi mais lento que o das plantas controles diplóides. A produção das plantas tetraplóides desenvolvidas em canteiros foi satisfatória, mais ou menos igual à das plantas controles diplóides, porem com uma tendência a um engrossamento das raízes. Na produção obtida de plantas tetraplóides do campo já o engrossamento não foi muito notavel, ficando tambem a média de produção abaixada com relação à média de produção das plantas diplóides. Sobre a produção das plantas tetraplóides não podemos, por enquanto, adiantar qualquer conclusão, pois as experiências de campo foram bastante preliminares e tivemos que utilizar lá todas as estacas que nos forneceu cada planta tetraplóide obtida no tratamento. Assim, as estacas foram muito irregulares, pois tivemos que utilizar não só a haste principal, mas tambem todas as demais, até as mais finas, sem o que não teríamos um número suficiente de estacas para realizar a experiência. Não vamos entrar aquí nos detalhes dessa experiência de campo, que serão relatados numa outra publicação, juntamente com os dados da percentagem de amido das formas tetraplóides e diplóides, mas os resultados obtidos não permitem qualquer conclusão a respeito da produção. É muito conhecido o fato de existir uma grande variação individual na produção da mandioca e assim qualquer conclusão tirada de poucos indivíduos não tem grande valor, necessitando-se saber a produção por área. Alem disso, foi observado que a ramificação das plantas diplóides parece ser bem maior que a das plantas tetraplóides. Sendo assim, várias experiências devem ainda ser realizadas, não só quanto à produção individual em média, mas tambem quanto ao espaçamento, pois, sendo as formas tetraplóides menores que as diplóides, uma redução do espaçamento poderá muitas vezes compensar grandemente qualquer perda quanto à produção individual em média, se esta de fato existir.

Após relatar as dificuldades do estudo da citologia nas plantas de mandioca, verificou-se, nas plantas tetraplóides, uma tendência muito grande para a formação de grupos polivalentes na meiose, sendo fre-

quentemente encontrados tri- e tetravalentes, ao lado de grupos polivalentes mais elevados. Esta tendência para formar polivalentes foi aumentada ainda na forma octoplóide, na qual em vez de 72 unidades na primeira metafase meiótica, pudemos constatar apenas pouco mais de 30.

As formas controles formam depois da divisão meiótica tetrades normais, enquanto que as formas poliplóides tem uma tendência para formar tetrades com mais de 4 células, sendo interessante notar que, além das 4 células, que são grandes, se formam outras muito pequeninas, possivelmente oriundas de cromosômios que se perdem durante a divisão. Estas células vão dar também grãos de polen de um tamanho muitíssimo pequeno.

Analisando a formação dos grãos de polen, verificamos que, considerando os que se colorem bem como normais e os restantes como anormais, os controles diplóides da variedade Vassourinha somente apresentam 50% de polen normal, ao passo que esta percentagem fica aumentada para 80% nas formas tetraplóides. Sem mais observações, poderemos somente adiantar que possivelmente a forma diplóide aqui utilizada é um híbrido estrutural, hipótese esta que só após um exame detalhado em muitos indivíduos provenientes de suas sementes poderá ser confirmada.

SUMMARY

The methods used in obtaining polyploid cassava (*Manihot utilissima* Pohl) by colchicine treatment were described in detail. Two solutions of colchicine were tried, one at 0.5% and other at 1.0%, both giving identical results in producing many altered plants.

The chromosome number of the altered plants was determined and a correlation between chromosome duplication and increase of the major diameter of stomata was found. Size of stomata in cassava serves to identify poliploids individuals if the plant produced by treatment is not a chimera, a very frequent event in producing polyploid cassava by colchicine.

It was emphasized that the plants obtained by treatment were a type of chimera, with the aerial part polyploid and the subterranean base diploid. The development of polyploid individuals obtained from the polyploid aerial part of the treated was analyzed. A comparison between the tetraploid and the diploid control plants was made, the octoploid plant being too slow in development.

There are many groups of polivalents in the first meiotic metaphase of the autopolyploid individuals obtained. By an analysis of the polen grains it was assumed that the diploid plant may be a structural hybrid.

The production of the tetraploid plants was computed preliminarily, other detailed experiments involving spacing being necessary for estimating the commercial production, since the diploid produces more branched plants than the tetraploid ones.

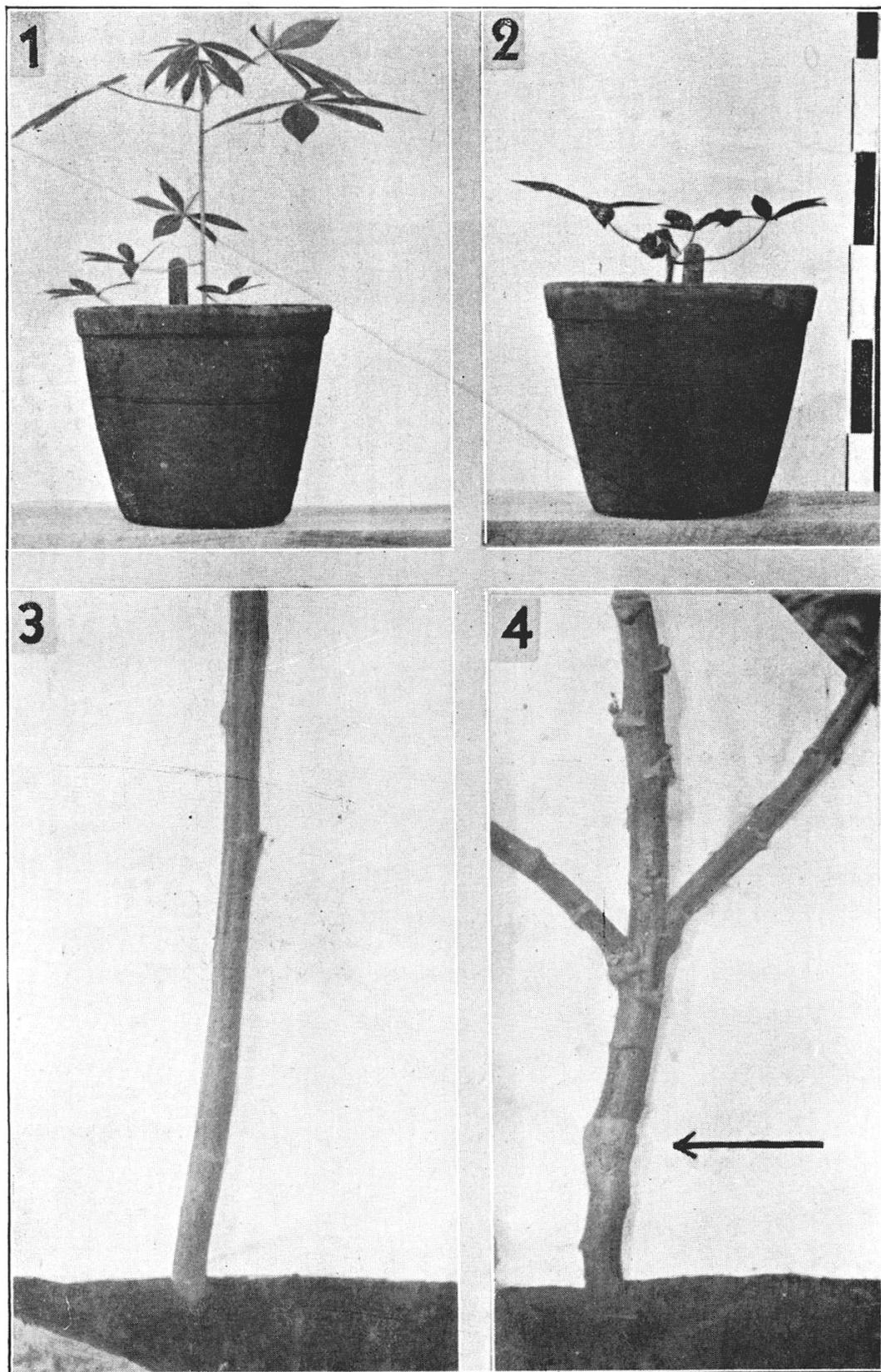
LITERATURA CITADA

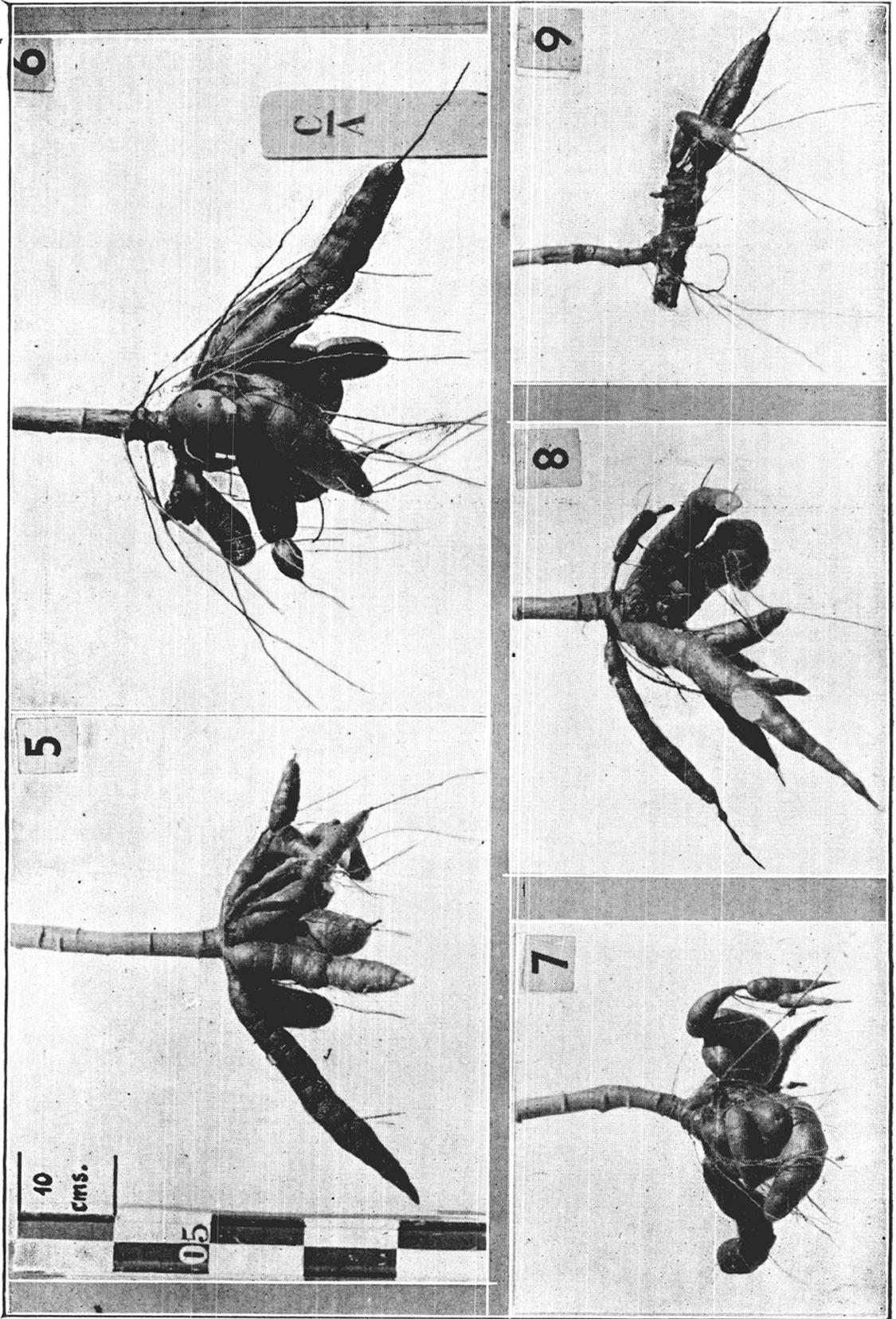
1. **Blakeslee, A. F. e A. G. Avery.** Methods of inducing chromosomes in plants by treatment with colchicine. *Journal of Heredity* 28:393-411. 1937.
2. **Graner, E. A.** Contribuição para o estudo citológico da mandioca. Publicação da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pgs. 128, Figs. 67, Piracicaba, 1935.
3. **Graner, E. A.** Quimera cromosômica na mandioca. Publicação da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pgs. 1-13, Figs. 4, Piracicaba, 1935.
4. **Graner, E. A.** Tratamento de mandioca pela colchicina. I. Nota preliminar sobre poliploidia indicada pela diferença de tamanho dos estômatos. *Jornal de Agronomia*, 3:83-98. 1940.
5. **Graner, E. A.** Polyploid cassava induced by colchicine treatment. *Journal of Heredity* 32:281-288. Fig. 18-24. 1941.
6. **Graner, E. A.** Notas sobre o florescimento e frutificação da mandioca. *Bragantia* 2: 1-8. Fig. 1-6. 1942.
7. **Graner, E. A.** Genética de *Manihot* I. Hereditariedade da forma da folha e da coloração da película externa das raízes em *M. utilissima* Pohl. *Bragantia* 2: 13-19. Fig. 1-6. 1942.

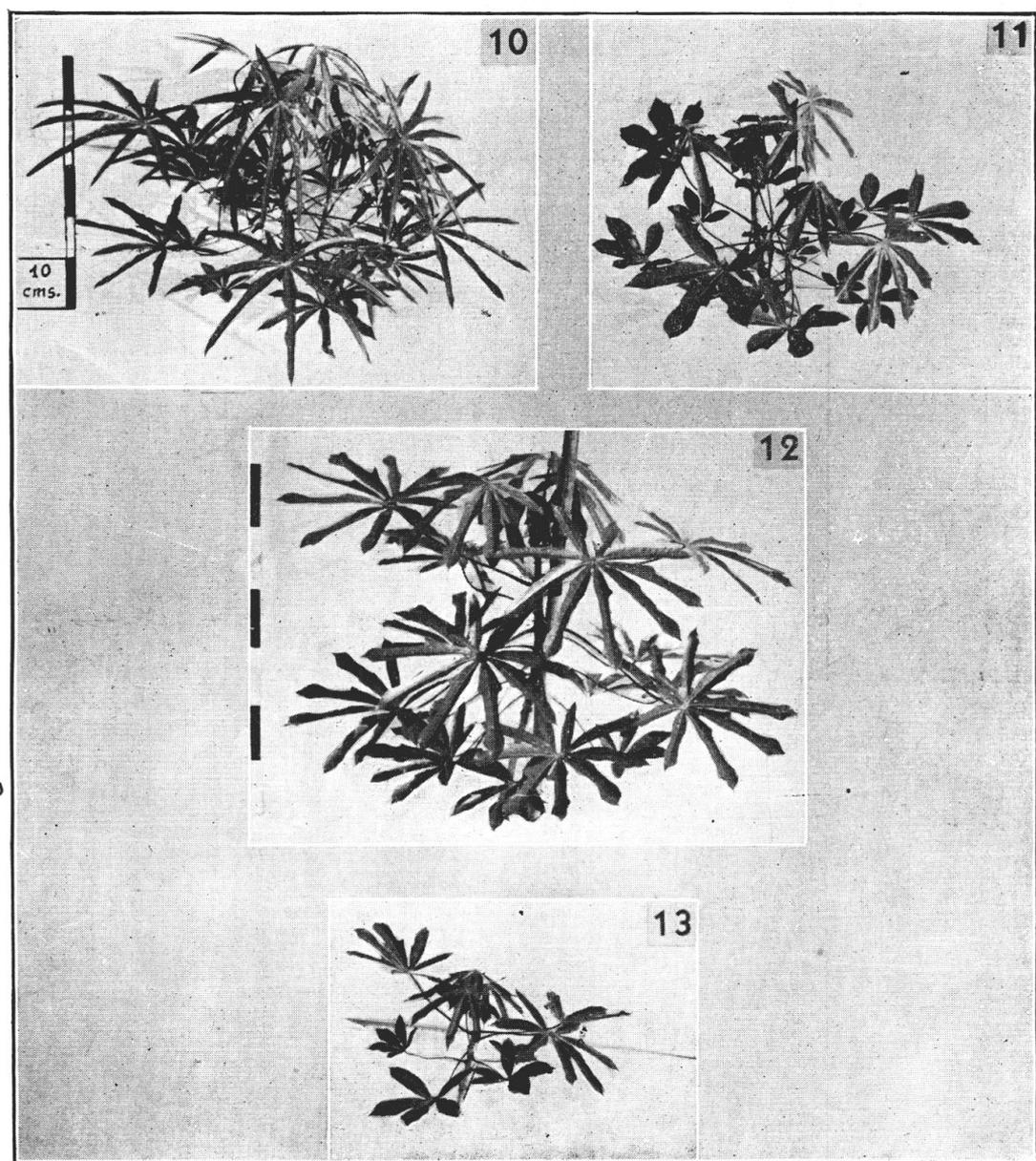
EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

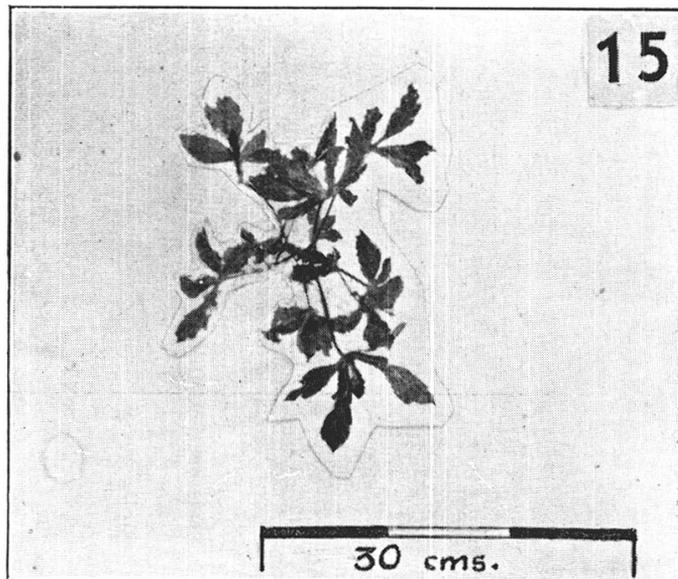
- Figs. 1 e 2 — Pormenores do tratamento pela colchicina. Plantas com um mês depois de terminado o tratamento: fig. 1, controle; fig. 2, planta tratada, com um retardamento muito grande no desenvolvimento.
- Figs. 3 e 4 — Pormenores do tratamento: fig. 3, haste principal de uma planta controle e, fig. 4, haste de uma planta tratada, mostrando a zona de transição entre a parte aérea tetraplóide e a parte basal diplóide.
- Figs. 5 e 6 — Produção de duas plantas controles, ambas com raízes defeituosas, por terem permanecido em vasos durante algum tempo do seu desenvolvimento inicial.
- Figs. 7 e 8 — Produção de duas plantas com parte aérea tetraplóide. Produção um pouco diminuída e presentes os mesmos defeitos apontados acima.
- Fig. 9 — Produção de uma planta com parte aérea octoplóide. Produção quase que impossibilitada pelo desequilíbrio muito grande produzido por interação entre parte aérea octoplóide e parte subterrânea diplóide.
- Fig. 10 — Planta controle.
- Fig. 11 — Planta tetraplóide obtida de estacas tetraplóides e com a mesma idade da planta da fig. 10. Desenvolvimento um pouco retardado.
- Fig. 12 — Planta tetraplóide plantada com 2 meses de antecedência da planta da fig. 11.
- Fig. 13 — Planta octoplóide, plantada na mesma ocasião que a planta da fig. 12. Desenvolvimento muito lento.
- Fig. 14 — Planta quimérica obtida, com folhas muito irregulares e com 72 cromossomos na raiz.
- Fig. 15 — Planta como a da fig. 14, vista por cima.
- Fig. 16 — Duas plantas controles diplóides, aos 6 meses de idade.
- Fig. 17 — Duas plantas tetraplóides, na mesma idade.
- Fig. 18 — Planta octoplóide, também com 6 meses.
- Figs. 19 e 20 — As mesmas plantas das figs. 16 e 17, no fim do seu primeiro ciclo vegetativo (um ano).

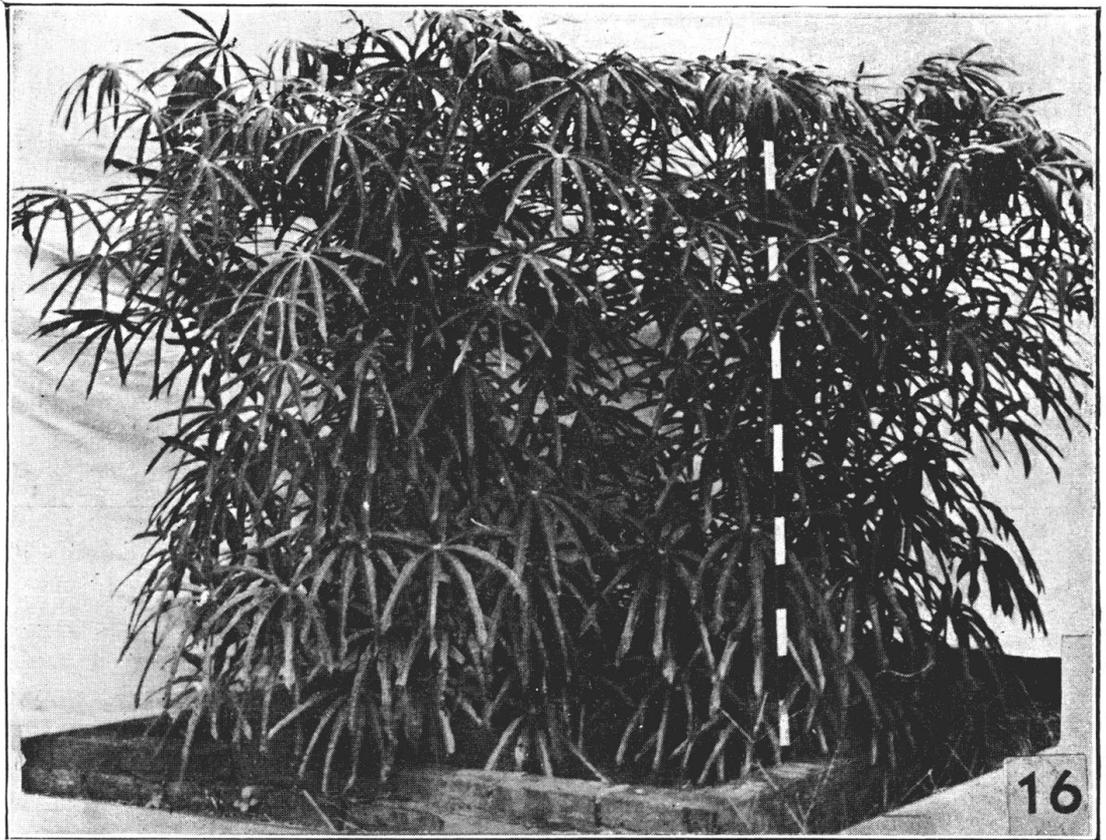
- Figs. 21, 22 e 23 — Produção de plantas controles diplóides, em canteiros.
- Figs. 24, 25 e 26 — Produção de plantas tetraplóides, em canteiros. Defeitos na forma da raiz, por se terem desenvolvido algum tempo em vasos.
- Fig. 27 — Produção de planta octoplóide.
- Fig. 28 — Produção da planta mostrada na fig. 15.
- Fig. 29 — Diferença de engrossamento das raízes em plantas de canteiro. À esquerda, raiz de planta diplóide. À direita, raiz de planta tetraplóide. Este engrossamento foi frequente nos canteiros, mas quase não foi encontrado no campo.
- Fig. 30 — Folha de uma planta controle diplóide. (x 1/7)
- Fig. 31 — Folha de planta tetraplóide. (x 1/7)
- Fig. 32 — Folha de planta ilustrada na fig. 15. (x 1/7)
- Fig. 33 — Flor feminina. À esquerda, vista lateral e polar de flor de uma planta controle diplóide. À direita, as mesmas vistas de flor de planta tetraplóide. (x 1,5)
- Fig. 34 — Flor masculina. À esquerda, vista lateral e polar de planta diplóide. À direita, as mesmas vistas de flor de planta tetraplóide. Notar o aumento de tamanho das anteras. (x 1,5).
- Fig. 35 — Primeira metafase-anafase inicial de planta diplóide controle. (x 2000)
- Fig. 36 — Início da primeira anafase meiótica em planta tetraplóide. Notar os grupos polivalentes, principalmente um muito elevado no centro da figura. (x 2000)
- Figs. 37 e 38 — Duas vistas de uma mesma primeira anafase inicial, mostrando grupos bi-, tri-, e tetravalentes. (x 2000)
- Fig. 39 — Primeira metafase de planta octoplóide. Pouco mais de 30 unidades são visíveis, em vez de 72 que se deveriam formar. (x 2000)
- Fig. 40 — Célula-mãe em início da primeira anafase, mostrando a relação entre os cromossômios e a célula. (x 800)
- Fig. 41 — Tipos de tetrades encontrados nas plantas tetra- e octoplóides. (x 300)
- Fig. 42 — Grãos de polen de planta controle. (x 80)
- Fig. 43 — Grãos de polen de planta tetraplóide. (x 80)
- Fig. 44 — 36 cromossômios de planta diplóide. (x 3000)
- Fig. 45 — 72 cromossômios de planta tetraplóide. (x 3000)
- Fig. 46 — 144 cromossômios de planta octoplóide. (x 3000)

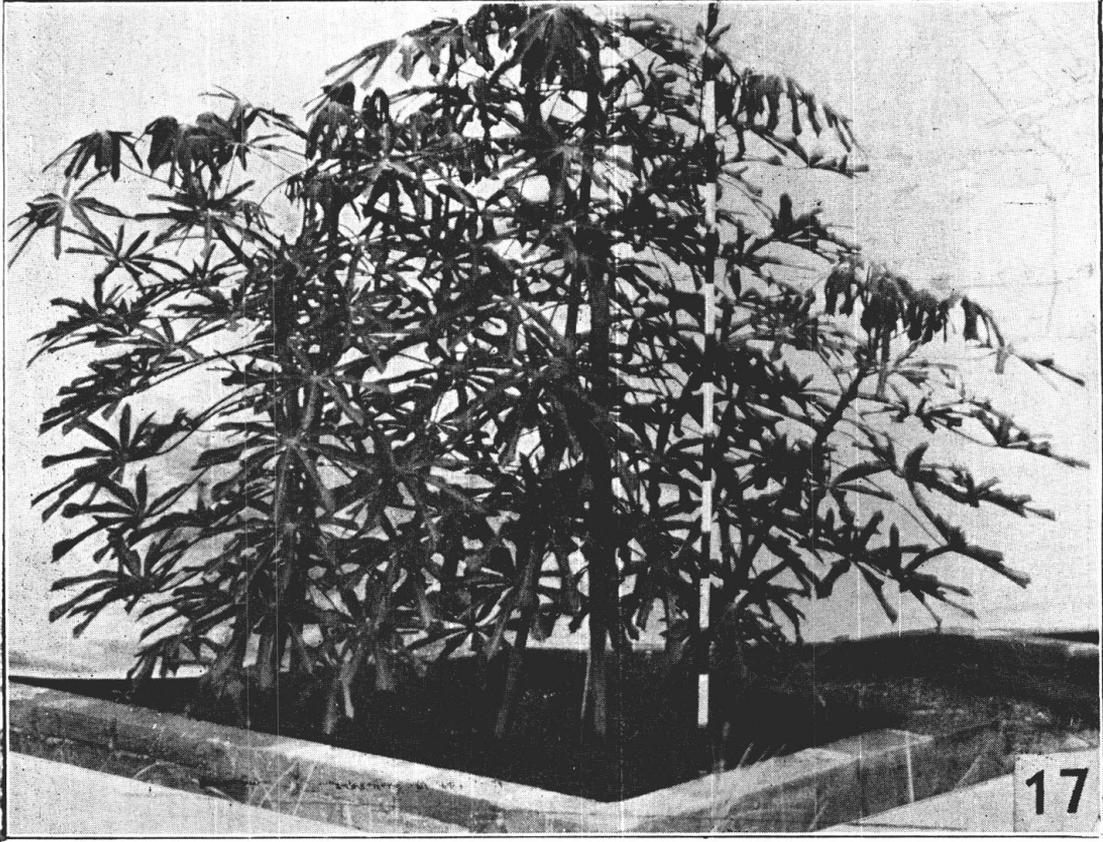


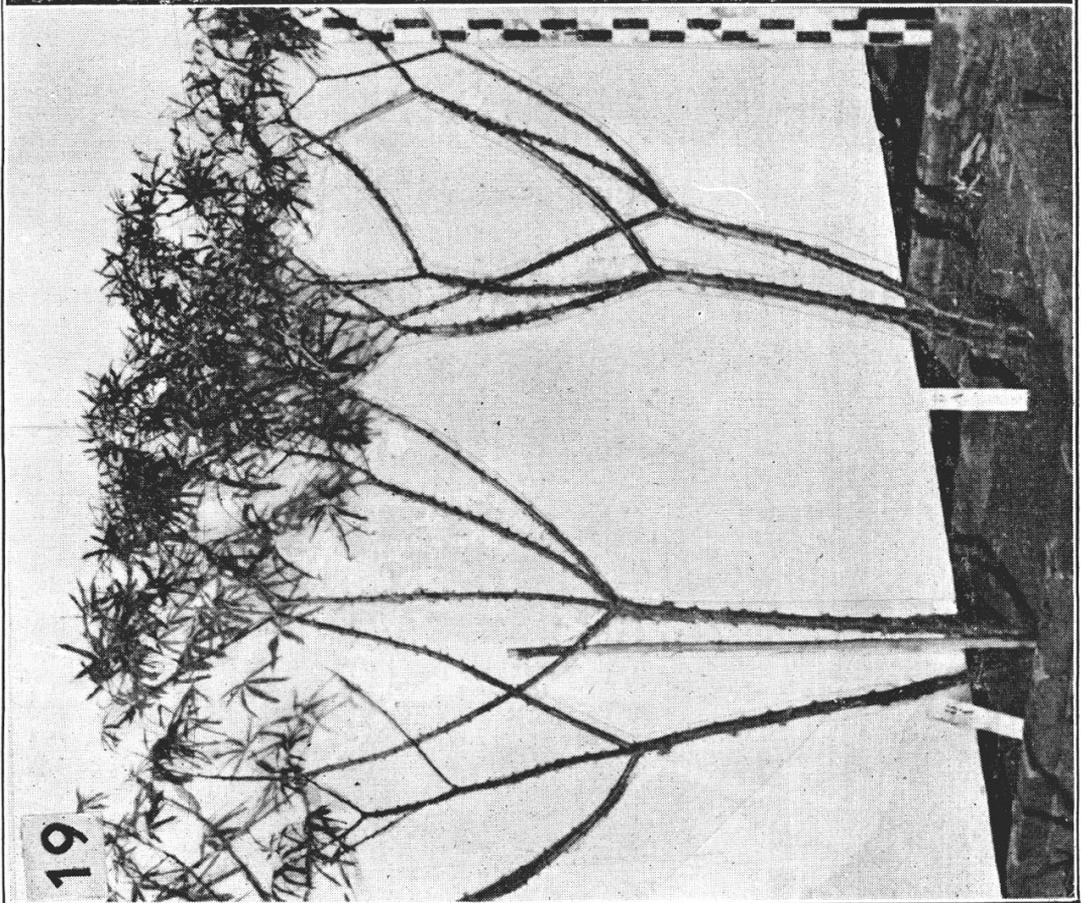
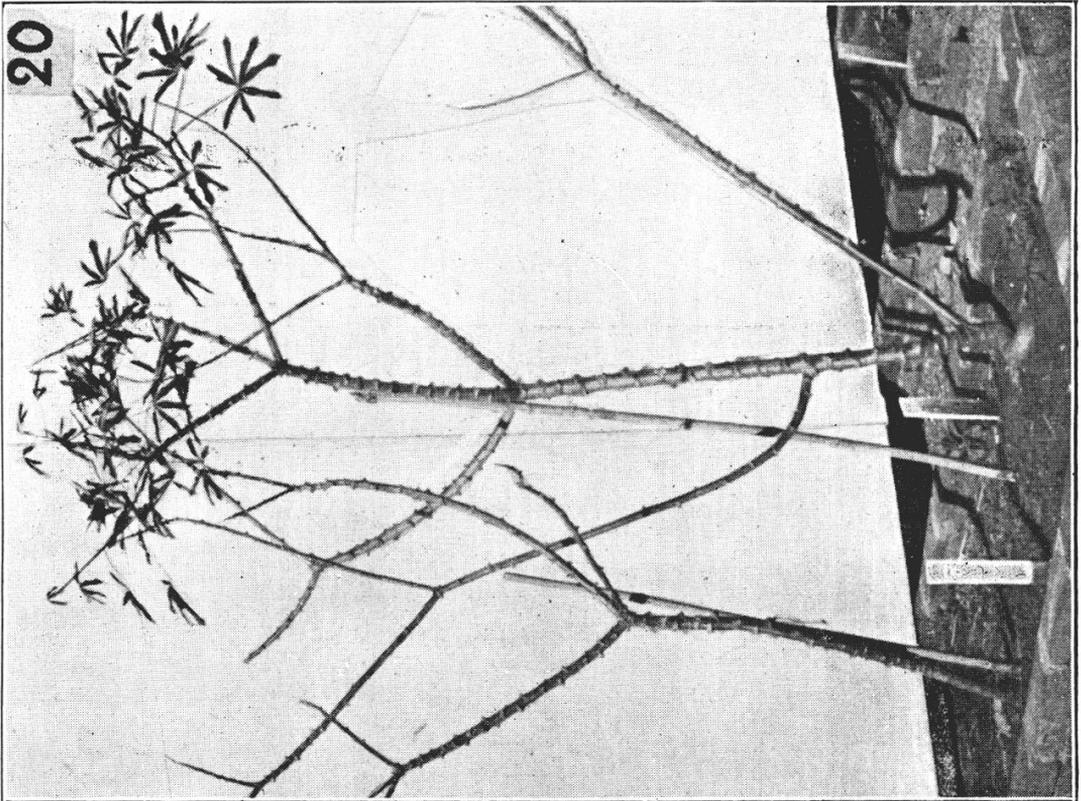


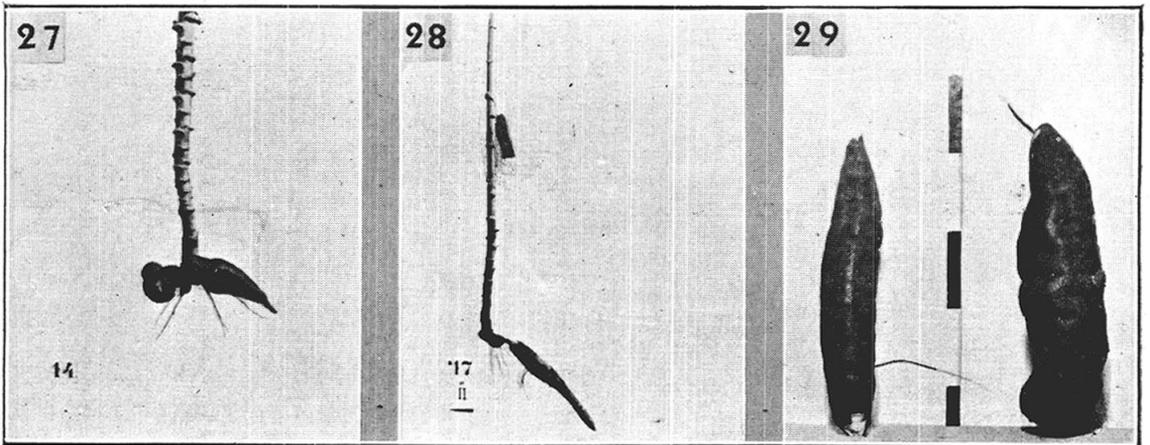
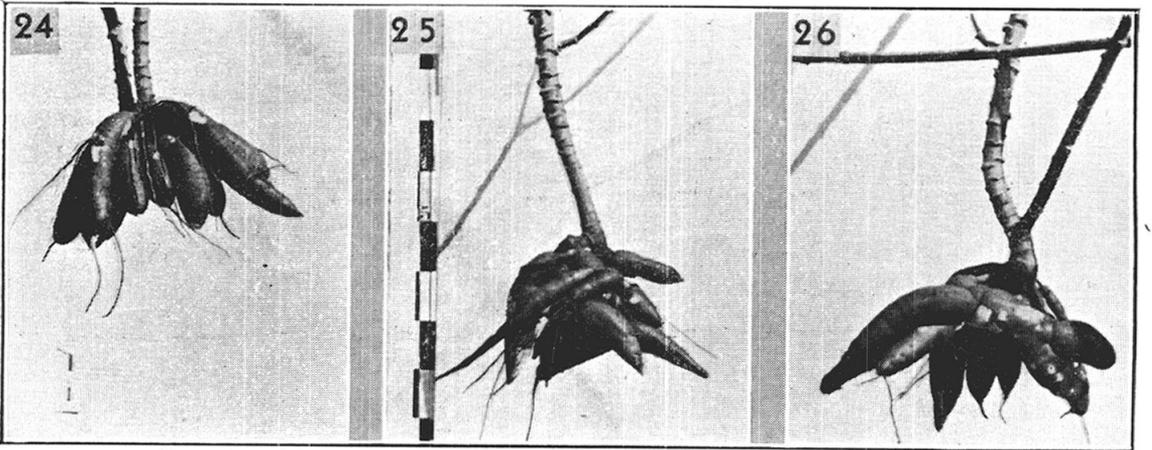
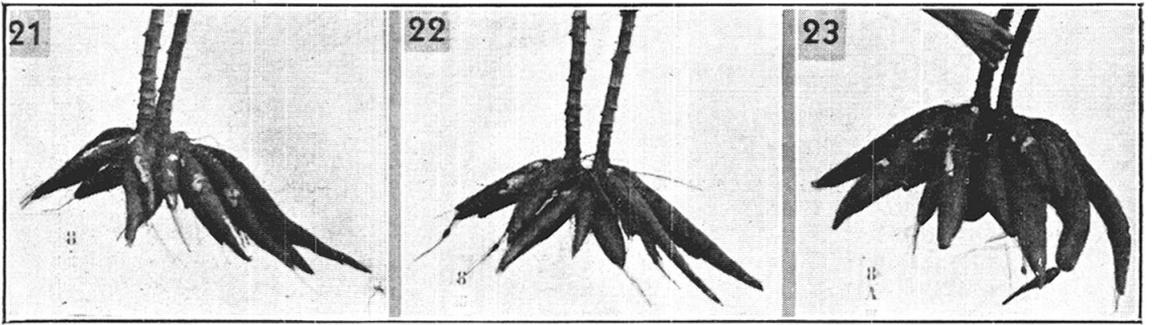


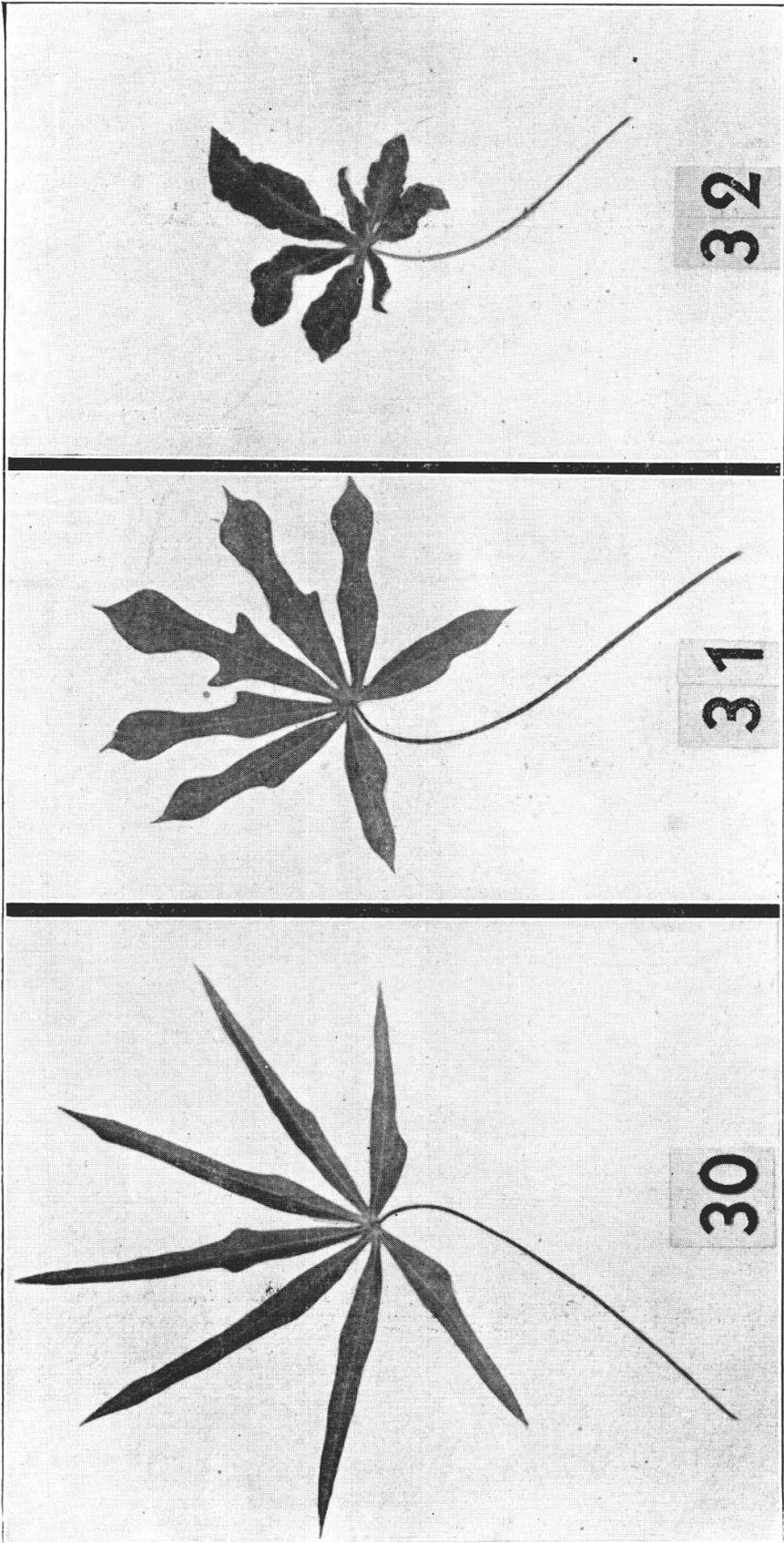


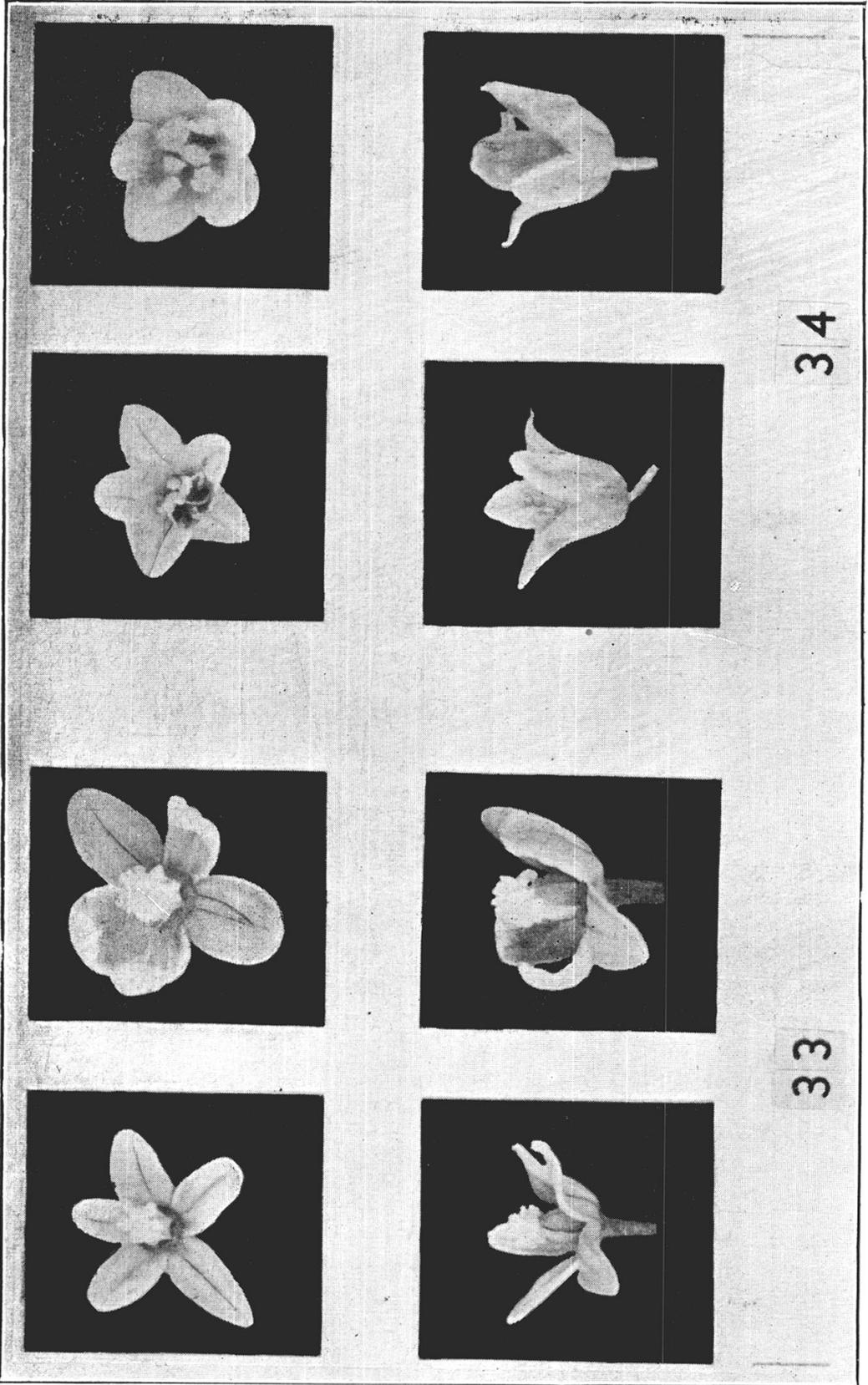


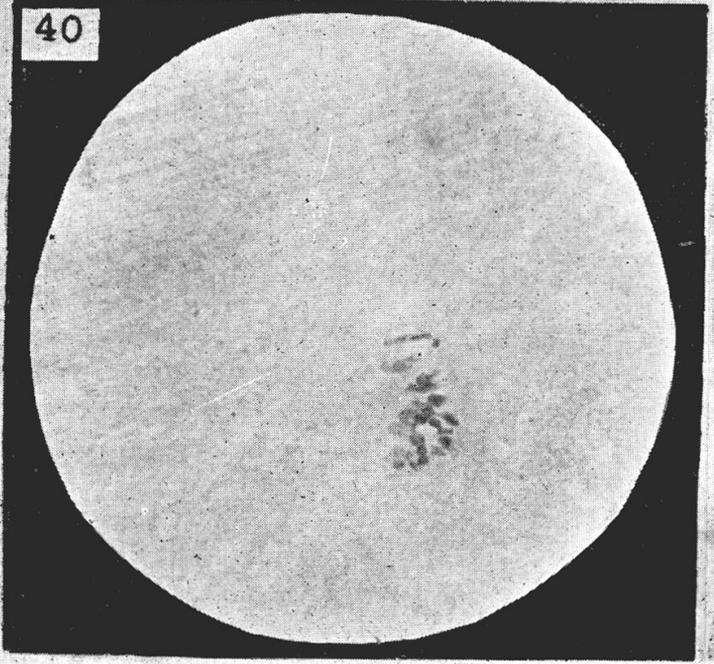
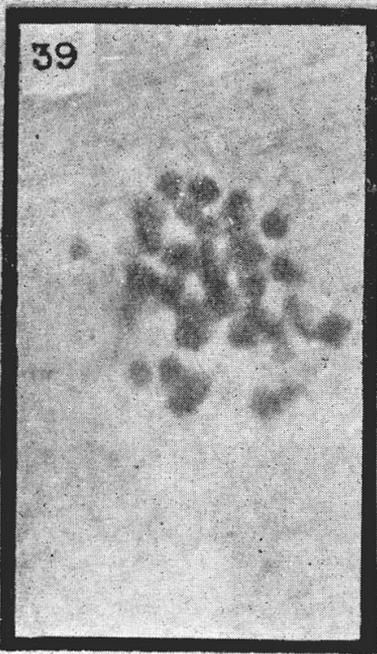
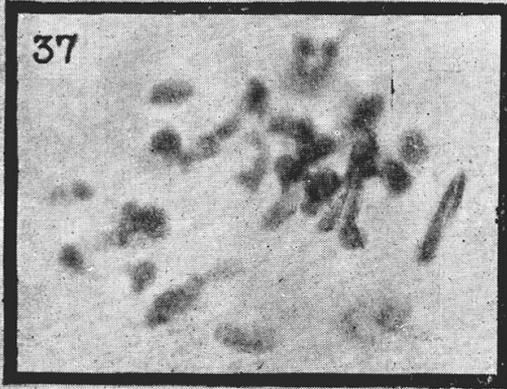
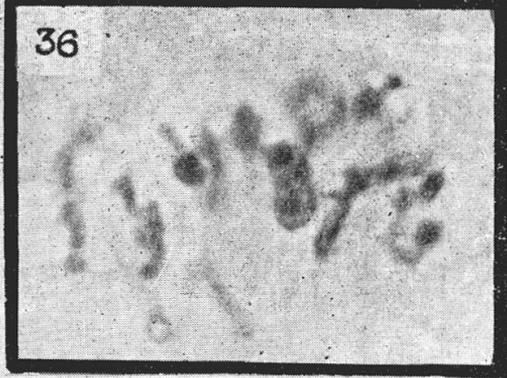
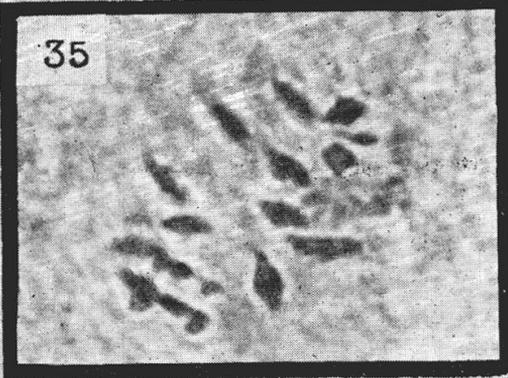




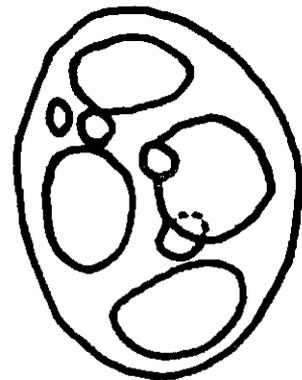
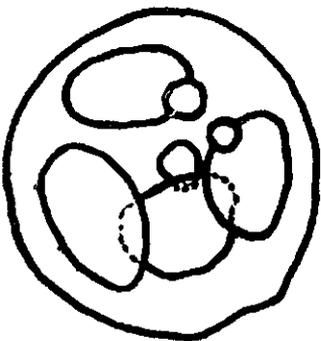
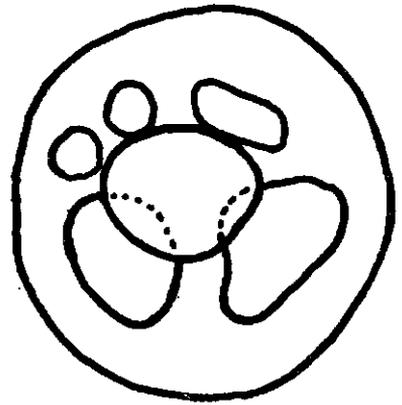
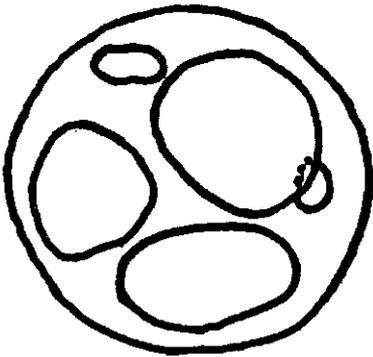
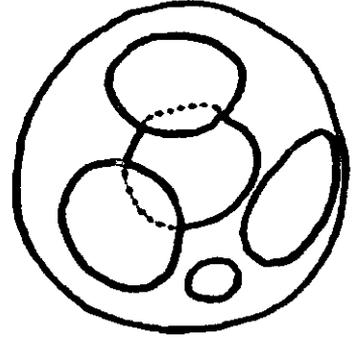
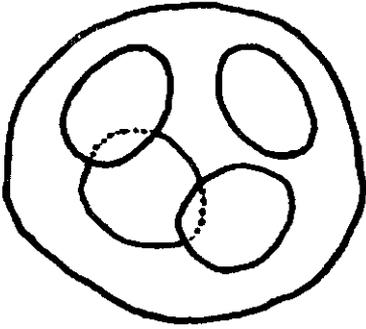


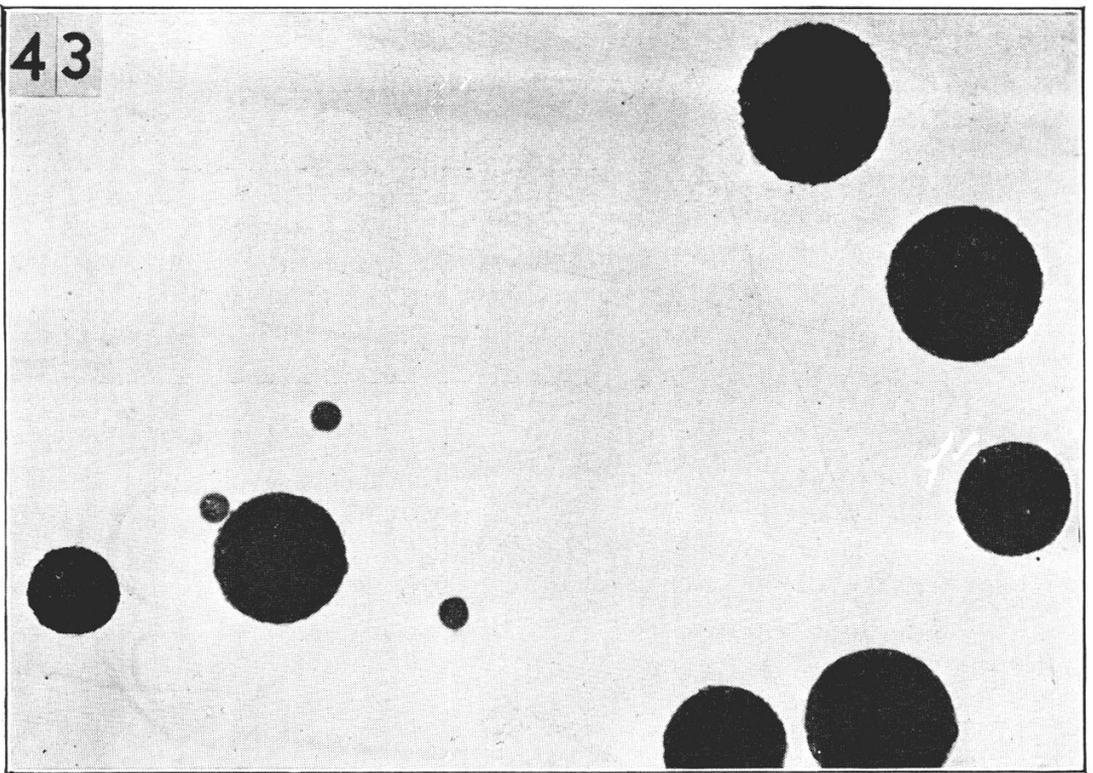
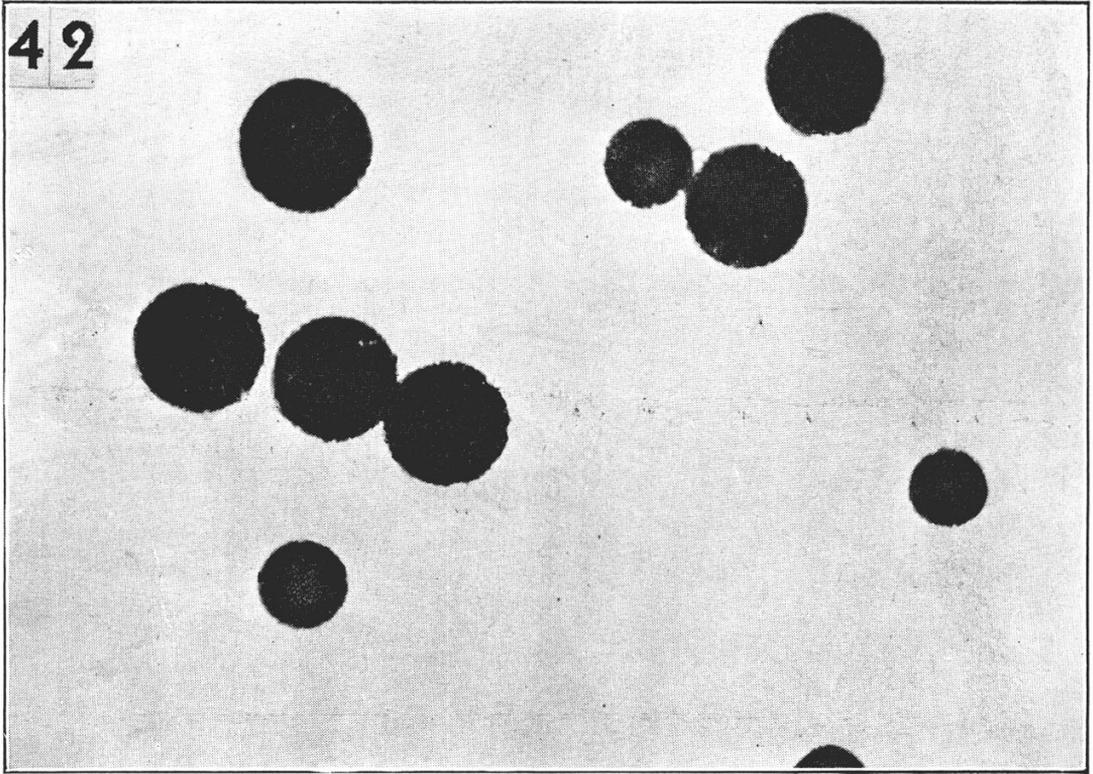






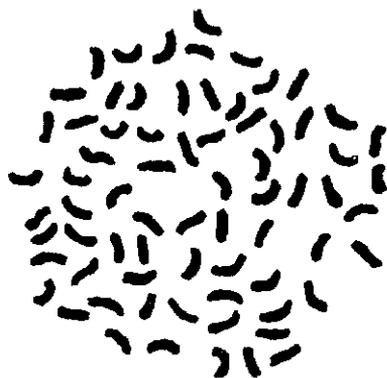
41



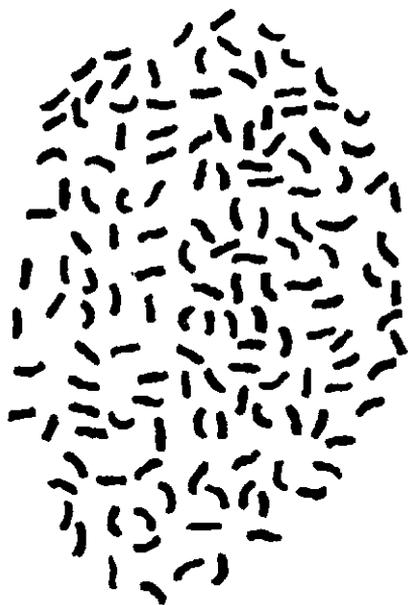




44



45



46