



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Botânica

Efeito da Enxertia em Mandioca

Nayra Nascimento Bomfim

Brasília,
15 de fevereiro de 2011



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Botânica

Efeito da Enxertia em Mandioca

Nayra Nascimento Bomfim

Dissertação submetida à Universidade de
Brasília como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Nagib Mohammed Abdalla Nassar

Co-orientadora: Dalva Graciano Ribeiro

Brasília
2011

TERMO DE APROVAÇÃO

Efeito da Enxertia em Mandioca

Nayra Nascimento Bomfim

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Botânica, e aprovada em sua forma final pelo programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília.

Nagib Mohammed Abdalla Nassar

Presidente da Banca

Departamento de Genética e Morfologia, UnB

Lourdes Isabel Velho do Amaral

Membro interno

Departamento de Botânica, UnB

Paulo Yoshio Kageyama,

Membro externo

Departamento de ciência florestal, ESALQ/USP

David John Bertioli

Membro suplente

Departamento de Genética e Morfologia, UnB

Data da Defesa: 15 de fevereiro de 2011

DEDICATÓRIA

Dedico a minha mãe, minha amiga.

A minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que através da minha família, amigos e colegas me ajudou, apoiou e patrocinou. Nestes amigos e colegas, também estão incluídos todos os meus professores, tios, irmãos, primos e colaboradores: equipe do laboratório de melhoramento da mandioca na Estação Experimental de Biologia e do laboratório de anatomia vegetal da UnB.

Muito obrigada.

Efeito da Enxertia em Mandioca

(BOMFIM, N.N.; Mestrado em Botânica)

Enxertos de duas espécies silvestres (*M. glaziovii* e *M. fortalezensis*) sobre *M. esculenta*, mandioca, foram estudados morfológicamente, anatomicamente e citogeneticamente e a fim de se avaliar possíveis efeitos devido à interação entre enxerto e porta-enxerto. Foram feitas análises anatômicas das raízes dos porta-enxertos UnB 201 e UnB 122 (variedades de *M. esculenta*), em comparação com as variedades não enxertadas. Analisou-se a meiose em enxerto da espécie *M. glaziovii* que apresentava morfologia do caule semelhante à *M. esculenta* e comparou-se a um híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*. No enxerto *M. glaziovii* a morfologia do caule foi semelhante à encontrada no porta-enxerto (*M. esculenta*), isto é, nós salientes e entrenós curtos. Esta característica é controlada por um gene dominante e distingue *M. esculenta* das demais espécies do gênero. Os estudos anatômicos dos dois porta-enxertos mostraram características similares ao enxerto - vasos mais largos - ou intermediárias entre enxerto e porta-enxerto: menor quantidade de fibras pericíclicas e menor frequência de vasos e de tilose. O estudo citogenético mostrou comportamento cromossômico do enxerto *M. glaziovii* semelhante ao do híbrido natural de *M. esculenta* com *M. glaziovii*. O enxerto *M. glaziovii* apresentou frequência de 13 bivalentes e 10 univalentes, enquanto o híbrido apresentou 12 bivalentes e 12 univalentes, uma frequência de bivalentes baixa que evidencia meiose irregular. Sugere-se que esta baixa frequência foi causada pela transferência genética do porta-enxerto ao enxerto, o que poderia modificar a homologia entre cromossomos causando falta de pareamento. Estes resultados sugerem a ocorrência de efeitos genéticos do enxerto sobre o porta-enxerto (e vice-versa) agindo sobre a morfologia, anatomia e citogenética.

Palavras-chave: anatomia de porta-enxerto, citogenética de plantas enxertadas, efeitos genéticos.

Graft Effect in Cassava

(BOMFIM, N.N.; Masters in Botany)

Grafts of two wild *Manihot* species (*M. glaziovii* and *M. fortalezensis*) onto *M. esculenta*, cassava, were studied morphologically, anatomically and cytogenetically in order to assess possible effects due to the interaction between scion and rootstock. Anatomical analysis from the roots of the rootstocks UnB 201 and UnB 122 (varieties of *M. esculenta*) were compared with ungrafted varieties. We analyzed meiosis in scion of the species *M. glaziovii*, which showed stem morphology similar to *M. esculenta*, and compared to a natural hybrid between *M. esculenta* and *M. glaziovii*. In the scion *M. glaziovii* the stem morphology was similar to the one found in rootstock (*M. esculenta*), i.e., enlarged nodes and short internodes. This feature is controlled by dominant gene and distinguishes *M. esculenta* from other species. The anatomical studies of the rootstocks showed similar characteristic to the scion - larger vessels - or intermediate characteristics between scion and rootstock: fewer pericyclic fibers and lower frequency of vessels and tylosis. The cytogenetic study showed chromosome behavior of scion *M. glaziovii* similar to the natural hybrid of *M. esculenta* with *M. glaziovii*. The scion *M. glaziovii* showed frequency of 13 bivalents and 10 univalents, while the hybrid showed 12 bivalents and 12 univalents, a low frequency of bivalents evidencing irregular meiosis. It suggests this low frequency was caused by genetic transference from rootstock to scion, which could modify the homology between chromosomes causing lack of pairing. These results suggest the occurrence of genetic effects of the scion on the rootstock (and vice versa) acting on the morphology, anatomy and cytogenetics.

Key-words: rootstock anatomy, cytogenetic of grafted plants, genetic effects.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Características morfológicas das espécies utilizadas como enxerto e porta-enxertos: porte e morfologia foliar	14
Figura 2 Características morfológicas das espécies utilizadas como enxerto e porta-enxerto: inflorescência, fruto e caule.	15
Figura 3 Enxertia do tipo garfagem: componentes do enxerto.....	16
Figura 4 Enxerto <i>M. glaziovii</i> apresentando morfologia do caule distinta.....	19
Figura 5 Esquemas da brotação dos enxertos de <i>M. fortalezensis</i> sobre <i>M. esculenta</i>	20
Figura 6 Crescimento vegetativo dos porta-enxertos UnB 201 e UnB 122.	21
Figura 7 Gráfico: Período de florescimento das plantas enxertadas e não enxertadas de outubro de 2009 a junho de 2010.....	22
Figura 8 Características dos tipos celulares das raízes utilizadas como enxerto e porta-enxerto.....	26
Figura 9 Diferenças anatômicas encontradas nos porta-enxertos: cortex e xilema.....	27
Figura 10 Metáfase I do híbrido de <i>M. esculenta</i> com <i>M. glaziovii</i> : 36 cromossomos.....	28
Figura 11 Metáfase I do enxerto <i>M. glaziovii</i> e do híbrido entre <i>M. esculenta</i> e <i>M. glaziovii</i> : 36 cromossomos; Díade e tétrade.	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características quantitativas dos vasos do xilema das variedades enxertadas e não enxertadas e de <i>M. fortalezensis</i>	25
--	----

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. O gênero <i>Manihot</i>	3
2.1.1. Aspectos anatômicos de raízes de mandioca	4
2.1.2. Aspectos citogenéticos da mandioca	5
2.2. Enxertia	6
2.3. Breve histórico de hibridação por enxertia	8
3. OBJETIVOS	10
3.1. Objetivo geral	10
3.2. Objetivos específicos:.....	10
4. HIPÓTESES.....	10
5. MATERIAL E MÉTODOS	11
5.1. Material.....	11
5.1.1. Descrição morfológica das espécies utilizadas	11
5.1.1.1. <i>Manihot glaziovii</i> (ROGERS; APPAN, 1973).....	11
5.1.1.2. <i>Manihot fortalezensis</i>	12
5.1.1.3. Híbrido entre <i>M. esculenta</i> e <i>M. glaziovii</i>	12
5.1.1.4. <i>Manihot esculenta</i> variedade UnB 122	13
5.1.1.5. <i>Manihot esculenta</i> variedade UnB 201	13
5.2. Métodos.....	16
5.2.1. Enxertia.....	16
5.2.2. Anatomia da Raiz.....	16
5.2.3. Estudo Citogenético da Meiose.....	17
5.2.4. Observação morfológica	17
6. RESULTADOS	18
6.1. Morfologia do caule de espécie enxertada.....	18
6.2. Crescimento vegetativo	20
6.3. Florescimento.....	22
6.4. Anatomia da raiz em crescimento secundário.....	23
6.4.1. Diferenças anatômicas nos porta-enxertos	25
6.5. Estudo Cromossômico Meiótico.....	28
7. DISCUSSÃO	30
7.1. Efeito da enxertia sobre a morfologia.....	30
7.1.1. Efeito da enxertia sobre morfologia do caule.....	30
7.1.2. Crescimento vegetativo.....	30
7.1.3. Crescimento reprodutivo	32
7.2. Efeito da enxertia sobre a anatomia da raiz em crescimento secundário.....	34
7.3. Análise meiótica do efeito da enxertia.....	37
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Manihot* engloba a mandioca, *M. esculenta*, que é usada como alimento em todo o mundo. No Brasil, 60 milhões de pessoas no nordeste e grande parte da população brasileira em outros estados no Centro Oeste, Sudeste e Sul, sobrevivem com alimentos obtidos a partir dela (IBGE, 2009). *M. esculenta* é a única espécie cultivada do gênero *Manihot* (ROGERS; APPAN, 1973, NASSAR; ORTIZ, 2010). Dentre as espécies silvestres se encontram espécies arbóreas como *M. glaziovii* Muller, e a arbustiva *M. fortalezensis* Nassar, Ribeiro, Bomfim et Gomes. Estas espécies foram utilizadas como enxerto para estimular o crescimento de raízes da *M. esculenta* em até 5 vezes (BRUJIN; DHARMAPUTRA, 1974, NASSAR, 1980). Este sistema de propagação por enxertia foi muito utilizado por agricultores indonésios na década de 50, e foi chamado de sistema Mukibat (BRUJIN; DHARMAPUTRA, 1974; MUDGE *et al.*, 2009).

A enxertia – que é um processo muito comum na horticultura – é usada com frequência em várias espécies para superar a dificuldade de propagação e a susceptibilidade de certos cultivares a insetos e condições do solo (FACHINELLO *et al.*, 2000, FERREIRA *et al.*, 2009). Ela tem sido praticada desde o início da civilização humana e confere vantagens ao cultivo de diversas espécies de importância agrícola (MUDGE *et al.*, 2009). Apesar do tradicional uso deste método e da previsão de boa parte dos efeitos, há evidências de efeitos genéticos herdáveis pouco conhecidos e também negligenciados pela corrente genética mais tradicional, o mendelismo. Estes efeitos foram atribuídos a translocação genética entre enxerto e porta-enxerto (OHTA; CHUONG, 1975, LIU, 2006, STEGEMANN; BOCK, 2009). Evidências de que enxerto e o porta-enxerto não mantêm sua integridade genética levaram alguns horticultores a acreditar que a enxertia pode produzir variedades (LIU, 2006). Este pensamento sugere que a enxertia pode ser um método de transferência horizontal de genes e poderia ter ainda maior utilidade na produção agrícola.

Apesar do certo conhecimento a respeito de efeitos comumente previstos e da possibilidade de translocação genética ainda são necessários estudos em diferentes espécies que avaliem a extensão destas possíveis transformações genéticas e suas implicações sobre a produção vegetal.

O aumento da produção de raízes de porta-enxerto de *M. esculenta* enxertada com a espécie silvestre *M. fortalezensis* (BRUJIN; DHARMAPUTRA, 1974) despertou o nosso interesse em estudar plantas enxertadas para saber qual é a natureza e o limite destas possíveis mudanças.

Em mandioca, o aumento da formação de raízes foi estudada a partir de parâmetros fisiológicos (PELLET; EL-SHARKAWY, 1994), os quais revelaram que o incremento da assimilação de carbono (pelo enxerto) pode aumentar a capacidade de reserva. Entretanto estes estudos não se referem à anatomia, a qual ajudaria a esclarecer os mecanismos

envolvidos no aumento das raízes. Enquanto os estudos citogenéticos meióticos em plantas enxertadas podem ajudar ainda a esclarecer a natureza hereditária de transformações genéticas, uma vez que avalia elementos diretamente envolvidos com a reprodução sexual, que são os cromossomos. Além disso, estes estudos podem avaliar a ocorrência de transformação em sítios distantes da região de fusão entre enxerto e porta-enxerto, isto é em raízes e flores; visto que a translocação de DNA entre enxertos foi relatada ocorrendo apenas próximo à referida região (STEGEMANN; BOCK, 2009).

Este estudo avaliou a anatomia da raiz em porta-enxertos de *M. esculenta* e o pareamento cromossômico meiótico em enxertos de *M. glaziovii* a fim de estudar os efeitos decorrentes da enxertia de duas espécies silvestres *M. fortalezensis* e *M. glaziovii* sobre a espécie *M. esculenta* (mandioca).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O gênero *Manihot*

O gênero *Manihot* é o quinto maior gênero da família Euphorbiaceae. A família possui distribuição mundial e é uma das maiores famílias no Brasil (JUDD *et al.*, 2009). O gênero possui cerca de 100 espécies, sendo nativo das Américas (ROGERS; APPAN, 1973, NASSAR, 1985, NASSAR *et al.* 2010b). Ele possui espécies arbóreas, arbustos e lianas, as quais produzem látex contendo glicosídeos cianogênicos em concentrações variadas. Algumas espécies produzem raízes tuberosas. Cerca de 80 espécies são sulamericanas e nativas do Brasil. A região nordeste brasileira é uma das regiões mais densas em espécies e abriga as espécies arbóreas do gênero. As espécies arbóreas constituem um importante grupo e formam a secção Glaziovianae, a qual engloba oito espécies, entre elas *M. glaziovii* (ROGERS; APPAN, 1973) e *M. fortalezensis* (NASSAR *et al.*, 2010b). *M. glaziovii*, é uma espécie produtora de borracha e por isso foi difundida pelo mundo para extração comercial de látex, principalmente em tempos de guerra. Ela é caracterizada por chegar a 20 m de altura em ambiente natural, tronco largo, 20-30 cm, e folhas grandes, maiores que 25 cm de largura, lobadas com três e cinco lobos. Esta espécie foi identificada pelos indonésios como enxerto no sistema Mukibat e tem sido citada como resistente a insetos, à seca e a vírus (STOREY; NICHOLS, 1938; AMBANG *et al.*, 2009; NASSAR *et al.*, 2010a). Além de possuir genes para a apomixia, a qual permite a produção de progênes idênticas à planta mãe (NASSAR; COLLEVATI, 2005).

Outra espécie que merece destaque nesta secção é *M. fortalezensis*. Esta espécie foi identificada por Nassar na década de 70 como sendo a mesma utilizada pelos indonésios. Sua origem provavelmente é híbrida entre *M. glaziovii* e *M. esculenta* e apresenta características intermediárias entre estas duas espécies (NASSAR *et al.*, 2010b). Ela é um arbusto alto com até 5 m, apresenta tronco estreito, 5-10 cm, e folhas grandes, maiores que 20 cm de largura, lobadas com cinco a sete lobos.

A espécie mais cultivada e importante do gênero é *M. esculenta*, conhecida como mandioca. Ela possui grande valor devido a formar raízes tuberosas ricas em amido. Seu principal uso é como alimento, cozida ou em forma de farinha, mas seu amido tem várias aplicações na indústria de fecularia, para o fabrico de povilhos, bebidas e materiais sintéticos.

No Brasil há pelo menos 140 variedades da espécie (FARALDO *et al.*, 2000), que foi domesticada por índios simultaneamente em diversas regiões. Esta grande variabilidade dentro da espécie deve-se a múltiplas introgressões, que ocorrem frequentemente entre *M. esculenta* e outras espécies do gênero (NASSAR, 1986, CHACÓN *et al.*, 2008)

A mandioca é uma espécie bem difundida pelo mundo, principalmente em pequenos cultivos, devido a ser relativamente rústica e sintetizar grande quantidade de carboidratos, menor apenas que na cana-de-açúcar (OKIGBO, 1980). Entretanto suas raízes apresentam valor nutricional relativamente pobre em proteínas, gorduras e minerais como ferro e zinco (MONTAGNAC *et al.*, 2009, NASSAR *et al.* 2010) e também baixa produtividade média, 14 T/ha no Brasil (IBGE, 2009) com potencial para atingir 90 T/ha (COCK *et al.*, 1979).

O potencial de melhorar a produção e qualidade nutricional da mandioca é muito relevante devido à importância desta espécie, base da alimentação, e principal fonte de calorias para milhões de pessoas em muitos países (FAO, 2007, NASSAR; ORTIZ, 2010). Aparentemente a enxertia pode contribuir para a melhoria dessas características.

2.1.1. Aspectos anatômicos de raízes de mandioca

A mandioca é uma espécie propagada principalmente vegetativamente. A propagação é feita com estacas semi-lenhosas de onde saem raízes adventícias que começam a tuberizar cerca de um mês após o plantio. A tuberização das raízes ocorre com o acúmulo de amido principalmente no xilema, logo após o início do crescimento secundário (INDIRA; KURIAN, 1977, MORAES-DALAQUA; COSTA, 2002). Nem todas as raízes tuberizam (PELLET; EL-SHARKAWY, 1994). Estas se tornam fibrosas e têm papel primordial na produção de raízes tuberosas devido a sua função em suprir as necessidades de água e nutrientes da planta.

Raízes com um maior número de elementos de vaso, parênquima mais denso, compacto e espesso são desejáveis, pois contribuem para uma maior reserva de amido e translocação de água e nutrientes, com implicações na tolerância à seca (NASSAR *et al.*, 2008). Além de essas características estarem relacionadas à resistência a patógenos, uma vez que tecidos mais compactos e espessos oferecem uma barreira mecânica para microorganismos (PHILIP *et al.*, 1991).

Há pouca literatura a respeito de anatomia de espécies do gênero *Manihot* (NASSAR *et al.*, 2010a). Esta carência de informação fortalece a necessidade de estudos anatômicos a respeito de espécies do gênero.

2.1.2. Aspectos citogenéticos da mandioca

A mandioca e todas as espécies do gênero já estudadas são alopoliplóides com comportamento diploide ($2n=36$), formação de 18 bivalentes e número básico $x=9$ (CRUZ, 1968, MAGOON *et al.*, 1970, NASSAR, 1978). A divisão meiótica regular apresenta formação de 18 bivalentes e tétrades normais, mas há baixa fertilidade nas variedades, particularmente nas variedades indígenas. É comum a fertilidade nas flores masculinas em mandioca ser de 50%. Este grau de fertilidade é em grande parte atribuído à falta de pareamento entre cromossomos, causada pela falta de homologia entre estes. Esta por sua vez, ocorre devido a cruzamentos recorrentes entre *M. esculenta* e outras espécies do gênero. A ocorrência freqüente de mutações devido à reprodução vegetativa também diminui a fertilidade (NASSAR, 1978).

2.2. Enxertia

A palavra enxertia vem do latim e significa inserir, sendo o processo de conexão de tecidos vivos de maneira que eles se unam e se desenvolvam como um só indivíduo composto. Pode ocorrer naturalmente no reino vegetal, quando o caule ou as raízes entram em contato, na mesma planta ou entre espécies diferentes (GRAHAM; BORMANN, 1966, BEDDIE, 1942).

Como método de propagação vegetal é praticada há pelo menos 1400 anos antes de Cristo pelos chineses, principalmente em espécies de difícil propagação por estacas e por sementes (MUDGE *et al.*, 2009). Na produção agrícola, espécies menores, maduras ou mais férteis são utilizadas como enxerto para obtenção de plantas de menor porte e que produzam mais flores e frutos. A enxertia pode ainda servir para reparar plantas danificadas e para superar a dificuldade de produção de espécies susceptíveis a insetos, patógenos e fatores abióticos presentes no solo (FACHINELLO *et al.*, 2000; FERREIRA *et al.*, 2009, MUDGE *et al.*, 2009). É comum ser utilizada na formação de árvores com múltiplas variedades e também para formar esculturas (MUDGE *et al.*, 2009).

A enxertia é uma ferramenta útil nos estudos fisiológicos a respeito da transferência de elementos móveis por toda a planta, tais como água, nutrientes, metabólitos, proteínas e também de patógenos (CORBESIER *et al.* 2007, FASSIO *et al.*, 2008, MUDGE *et al.*, 2009).

Em alguns estudos foram relatados a transferência de informação genética entre enxerto e porta-enxerto e afirmam a indução de mudanças herdáveis (MOLNAR *et al.*, 2010, MOSHER *et al.*, 2009, STEGEMANN; BOCK, 2009). Em alguns, esta transferência ocorre em forma de pequenos RNAs móveis e são ditos epigênicos, pois nas células em que chegam são capazes de silenciar genes e conseqüentemente inibir sua expressão (MOLNAR *et al.*, 2010, MOSHER *et al.*, 2009). Outro recente estudo relata a transferência de fragmentos de DNA ou de genomas de plastídios com transmissão de características à progênie (STEGEMANN; BOCK, 2009).

Apesar de ser uma prática antiga, pouco se conhece sobre os efeitos genéticos da interação entre os componentes do enxerto. Entretanto, há fortes evidências de que a translocação genética que ocorre entre enxerto e porta-enxerto cause alterações em ambos os componentes, com conseqüências herdáveis (OHTA; CHUONG, 1975, TALLER, 1999, LIU *et al.*, 2006, GAHAN, 2003, STEGEMANN; BOCK, 2009).

As evidências de que enxerto e porta-enxerto não mantenham sua integridade genética levaram alguns horticultores a acreditar que a enxertia pode produzir híbridos (MICHURIN, 1949 *apud* LIU, 2006, OHTA; CHUONG, 1975). Por isso, foi sugerida como método para obtenção de enxertos-híbridos. O método se baseia na ação do componente mais antigo e maduro sobre o mais juvenil, efeito denominado “efeito-mentor”. Células vegetais imaturas, ou seja, células de calo, germinativas, embriônicas e somáticas de plantas juvenis teriam a capacidade de se mutarem por genes estrangeiros (LIU, 2006). Mas para que este fenômeno fosse usado para produzir modificações era necessário a adoção de critérios na obtenção do enxerto (MICHURIN, 1949 *apud* LIU, 2006). Os critérios são: o componente do enxerto híbrido deve estar no estágio juvenil, enquanto o componente de onde se quer adquirir os genes deve ser maduro e antigo. A direção de fluxo de material genético do componente mais velho para o mais jovem é afetada pela remoção de folhas do componente mais jovem, por isso as folhas do componente jovem devem ser retiradas e as flores devem ser isoladas para evitar polinização cruzada acidental, pois geralmente é na progênie que se produzem várias combinações de características do enxerto e do porta-enxerto (OHTA; CHUONG, 1975, TALLER, 1999).

Dentre os exemplos relatados na literatura, em *Euphorbia pulcherrima* (Euphorbiaceae), enxertos (CR) produziram uma planta muito similar a variedade porta-enxerto (BD) em número de nós e comprimento das brotações axilares (DOLE; WILKINS, 1991). Estes mesmos enxertos também apresentaram um padrão de ramificação e morfologia foliar diferentes dos encontrados nos auto-enxertos controle CR/CR (CR enxertado sobre CR) e produziram duas vezes mais inflorescências axilares que BD/CR, BD/BD e CR/CR. Estas características mantiveram-se estáveis após duas gerações de propagação vegetativa e foram consideradas permanentes.

Em pimentão (*Capsicum annum* L.-Solanaceae) foram obtidos enxertos com alguns frutos com características do porta-enxerto, após enxertias sucessivas e seleção para a característica encontrada no porta-enxerto. As variações produzidas nos enxertos foram herdadas de forma estável por pelo menos 27 gerações por propagação por semente e aumentaram nestas plantas quando voltaram a ser enxertadas sobre a variedade porta-enxerto (TALLER *et al.* 1999).

2.3. Breve histórico de hibridação por enxertia

Algumas diferenças observadas em plantas enxertadas comparadas às plantas não enxertadas foram relatadas por Darwin e ele chamou de 'graft hybrids' (1893). Winkler (1907 *apud* LIU, 2006) na tentativa de obter modificações devido à enxertia, isto é híbridos, fez enxertos de tomate (*Solanum lycopersicum*- *Solanaceae*) sobre *S. nigrum* e observou nessas plantas a produção de frutos de três tipos, alguns idênticos aos de tomate, outros idênticos aos de *S. nigrum* e frutos com características de ambas as espécies. Alguns brotos nestas plantas foram originados do calo entre as duas espécies, formando um eixo principal composto pelo tecido das duas espécies, um adjacente ao outro. A partir dessas observações chegou à conclusão de que os híbridos podem ser sexuais ou de enxerto, e este último pode ser de três tipos: (i) híbridos de fusão de enxerto, que surgem da fusão de duas células somáticas derivadas de duas diferentes espécies; (ii) híbridos influenciados por enxerto e (iii) quimera, na qual células dos dois componentes do enxerto crescem uma adjacente a outra para formar um novo indivíduo (WINKLER, 1907 *apud* LIU, 2006). Ele explicou os dois tipos de frutos observados com estas conclusões.

Nos anos seguintes outros horticultores famosos por conhecerem bem a prática da enxertia relataram alguns casos de modificações induzidas por um dos componentes do enxerto. Estes horticultores descreveram modificações herdáveis com características que não estavam presentes nem no enxerto e nem no porta-enxerto e também demonstraram que em certos casos a enxertia é um forte agente de formação de novas variedades (LIU, 2006).

Então Michurin (1949 *apud* LIU, 2006), um horticultor russo, conhecido por haver produzido diversas variedades entre elas *Reinette Bergamotte*, publicou que havia produzido ou melhorado diversas variedades a partir da enxertia, a qual poderia influenciar plantas imaturas. O princípio de Michurin afirmava que mudanças no ambiente agindo sobre os estágios iniciais de desenvolvimento das plantas podem mudar a hereditariedade das características. Este fenômeno foi estudado e denominado por ele, de efeito-mentor.

Michurin (1949 *apud* LIU, 2006) cita que estes fatos não ignoram as leis mendelianas, mas que apenas as leis não explicariam o fenômeno observado, pois o material hereditário é resultado do cruzamento entre plantas, na fecundação, e também da transferência genética do porta-enxerto (ou do enxerto), através do efeito-mentor sobre o enxerto (ou porta-enxerto). Michurin ressalta que os estudos de Mendel foram feitos em plantas anuais e não enxertadas enquanto seus estudos utilizaram plantas perenes e enxertadas.

Na última metade do século diversos trabalhos avaliando efeitos da enxertia foram publicados principalmente em espécies hortícolas, geralmente herbáceas, como tomate (*S. lycopersicum* L.- *Solanaceae*) (SACHS, 1951), petúnia (*Petunia hybrida* Vilm.- *Solanaceae*) (FRANKEL, 1962, 1971), berinjela (*Solanum melongena* L.) (STROUN *et al.*, 1963), beterraba (*Beta vulgaris* L.) (CURTIS, 1967), pimentão (OHTA; CHUONG, 1975; TALLER *et al.*, 1999) e alfafa (*Medicago sativa* L.- *Fabaceae* – *Faboideae*) (THOMPSON; AXTELL, 1978). Estes trabalhos baseavam-se principalmente no método sugerido por Michurin, que utilizava o efeito-mentor sobre a variedade mais jovem para induzir alterações nas espécies. Mesmo com certa quantidade de trabalhos que demonstravam o possível efeito genético da enxertia, este conceito ainda não é difundido entre os geneticistas e horticultores, e muitos efeitos ainda são negligenciados.

Em mandioca, os estudos feitos nos últimos anos sobre enxertia avaliaram parâmetros fisiológicos tais como área foliar, taxa fotossintética, capacidade de assimilação das raízes (PELLET; EL-SHARKAWY, 1994) e resistência a doenças sobre a produção de raízes (AMBANG *et al.*, 2009). Estes trabalhos mostraram que a enxertia é favorável a produção de mandioca.

Estudos dos efeitos da enxertia sobre a morfologia e fisiologia podem ser melhor entendidos a partir da análise anatômica, pois também podem ajudar a esclarecer os mecanismos envolvidos nas mudanças morfológicas observadas.

A investigação dos efeitos da enxertia sobre a divisão meiótica ajudarão a compreender como essas modificações podem ser usadas efetivamente como caminho para a transferência horizontal de genes, uma vez que analisam elementos ligados a transferência hereditária, os cromossomos.

Resultados de trabalhos conhecidos apontam que a enxertia de espécies silvestres sobre a *M. esculenta* pode contribuir para o aumento da produção de raízes (BRUJIN; DHARMAPUTRA, 1974, PELLET; EL-SHARKAWY, 1994), da resistência a doença (AMBANG *et al.*, 2009) e servir como meio para transferência de genes (STEGEMANN; BOCK, 2009). Estes trabalhos nos incentivaram a estudar se há transferência de genes e expressão deles em caracteres morfológicos, anatômicos e citogenéticos, uma vez que levanta a possibilidade de melhoria de características como resistência à seca, a patógenos e a ataques de insetos na espécie *M. esculenta*.

Além disso, espécies silvestres, geralmente de difícil propagação por sementes e estacas poderiam ser conservadas como enxerto, aumentando assim sua distribuição, uma vez que a ocorrência de muitas está ameaçada de extinção pela ocupação humana (NASSAR, 1980, NASSAR, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Verificar se a enxertia das espécies silvestres *Manihot glaziovii* e *M. fortalezensis* influem em características morfológicas, anatômicas e citogenéticas do enxerto e do porta-enxerto (*M. esculenta* Crantz).

3.2. Objetivos específicos:

Comparar as raízes das plantas enxertadas e não enxertadas da mesma variedade quanto a características anatômicas.

Verificar se há influência da enxertia no pareamento cromossômico meiótico e na formação de tétrades nas espécies utilizadas.

Verificar se ocorrem alterações morfológicas em plantas enxertadas quanto a vigor, altura e florescimento.

4. HIPÓTESES

4.1. Devido à enxertia, há transferência de genes entre enxerto e porta-enxerto às células meristemáticas dos órgãos reprodutivos e das raízes após um longo período. Essa translocação é capaz de causar mudanças morfológicas, anatômicas e citogenéticas.

4.2. A enxertia não causa mudanças morfológicas, anatômicas e citogenéticas devido a transferência genética.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material

Trinta enxertos de *Manihot glaziovii* e *M. fortalezensis* sobre algumas variedades de mandioca foram distribuídos e plantados por agricultores, participantes do projeto 'Mandioca para aumentar o bem estar dos pequenos agricultores do DF' de iniciativa da UnB em colaboração com a Emater-DF. Após a colheita estes enxertos foram replantados na Estação Experimental de Biologia da UnB (EEB-UnB) em outubro de 2008. Entre os enxertos replantados três se mostraram bem estabelecidos com folhas vistosas em abril de 2009, e por isso foram utilizados nos estudos de anatomia da raiz. Estes enxertos eram de *M. fortalezensis* sobre *M. esculenta*.

Em outubro de 2009 novos enxertos foram obtidos, dentre os quais um enxerto foi estudado citogeneticamente por haver apresentado características morfológicas intermediárias entre *M. glaziovii* e *M. esculenta*. Este enxerto foi feito a partir da espécie *M. glaziovii*. As análises citogenéticas deste enxerto foram comparadas às análises de um híbrido natural (de *M. esculenta* com *M. glaziovii*) não enxertado.

M. glaziovii (Fig.1A, E e 2C, G) e *M. fortalezensis* (Fig. 1A, E e 2A, H) foram obtidas em coletas feitas em Fortaleza e em Pentecostes, no estado do Ceará na década de 1980 por Nagib Nassar e plantadas por sementes na EEB-UnB, onde são mantidas.

Para porta-enxerto (parte inferior) (Fig.3) foram utilizadas duas variedades de mandioca: a variedade UnB 201 (Fig. 1D), e a variedade UnB 122 (Fig. 1C). A variedade UnB 201 foi selecionada e melhorada a partir de uma variedade cultivada na região. E a variedade UnB 122 é a segunda geração de um híbrido natural entre *M. anomala* Pohl e *M. esculenta*, obtida e propagada vegetativamente na EEB-UnB.

5.1.1. Descrição morfológica das espécies utilizadas

5.1.1.1. *Manihot glaziovii* (ROGERS; APPAN, 1973)

Árvore com até 20m (Fig. 1A), tronco com 20-30 cm de diâmetro, com látex abundante. Caules jovens e maduros glabros, caules jovens com cor azulada, caules maduros com casca marrom brilhante (Fig. 2G), ramificado com poucas ramificações. Folhas membranáceas a coriáceas, alternadas, palmadas, três ou cinco lobos obovados (Fig.1E), margens inteiras a levemente onduladas, lobos nunca panduriformes, inserção do pecíolo peltada com 1 cm e 3 cm entre o ponto médio do pecíolo e a borda basal da lâmina, face adaxial verde brilhante a levemente marrom, face abaxial azulada e clara, lobos inferiores um pouco menores, não simétricos. Estípulas filiformes caducas com até 1cm, nós não salientes e cicatrizes foliares grandes. Inflorescência em panícula terminal, muito ramificada com 2 flores femininas na base

da inflorescência. Flores pistiladas cônicas verdes a roxas, dialitétalas com 5 tépalas levemente intumescidas, ovário trilocular uniovulado com estigma séssil. Flores estaminadas esféricas verdes a roxas, com 10 estames em 2 verticilos. Brácteas e bractéolas filiformes caducas. Frutos globosos sem asas externas entre os lóculos (Fig. 2C).

5.1.1.2. *Manihot fortalezensis*

Arbusto alto, até 5,5m (Fig.1A), tronco com 5-10 cm de diâmetro, com látex abundante. Caules jovens e maduros glabros, caules jovens com cor levemente azulada (Fig. 2H), caules maduros com casca marrom brilhante, geralmente sem ramificação, ou quando ramificado com poucas ramificações. Folhas membranáceas a pouco coriáceas, alternadas, palmadas, cinco (Fig.1E), seis e sete lobos obovados com ápice agudo, margens inteiras a levemente onduladas, lobos nunca panduriformes, inserção do pecíolo pouco peltada com menos de 1 cm entre o ponto médio do pecíolo e a borda basal da lâmina, face adaxial verde brilhante a levemente marrom, face abaxial azulada e clara, lobos inferiores um pouco menores, não simétricos. Estípulas filiformes caducas com até 1cm, nós pouco salientes e cicatrizes foliares grandes. Inflorescência em panícula terminal, muito ramificada com 2 flores femininas na base da inflorescência (Fig.2A). Flores pistiladas cônicas verdes a roxas, dialitétalas com 5 tépalas levemente intumescidas, ovário trilocular uniovulado com estigma séssil. Flores estaminadas esféricas verdes a roxas, com 10 estames em 2 verticilos. Brácteas e bractéolas filiformes caducas. Não foram encontrados frutos.

5.1.1.3. Híbrido entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*

Arbusto alto, até 4 m (Fig.1B), tronco com 5-10 cm de diâmetro, com látex abundante. Caules jovens e maduros glabros, caules jovens com verde, caules maduros com casca marrom levemente brilhante (Fig. 2I), ramificado. Folhas membranáceas a pouco coriáceas, alternadas, palmadas, com três, quatro e cinco lobos obovados (Fig.1F), margens inteiras a levemente onduladas, inserção do pecíolo pouco peltada com menos de 1 cm entre o ponto médio do pecíolo e a borda basal da lâmina, face adaxial verde brilhante a levemente marrom, face abaxial verde clara, lobos inferiores um pouco menores, não simétricos estípulas filiformes caducas com até 1cm, nós salientes e cicatrizes foliares grandes. Inflorescência em panícula terminal, muito ramificada com 2 flores femininas na base da inflorescência. Flores pistiladas cônicas verdes a roxas, dialitétalas com 5 tépalas levemente intumescidas, ovário trilocular uniovulado com estigma séssil. Flores estaminadas esféricas verdes a roxas, com 10 estames em 2 verticilos. Brácteas e bractéolas filiformes caducas. Frutos com asa muito pequena (Fig. 2D).

5.1.1.4. *Manihot esculenta* variedade UnB 122

Arbusto com até 1,50 m ramificado, semi-ereto a procumbente (Fig. 1C), tronco com 5-10 cm de diâmetro, com látex. Caules jovens e maduros glabros, caules jovens verdes acinzentados (Fig. 2J), caules maduros com casca marrom grossa, geralmente ramificando-se em três ramos. Folhas membranáceas, alternas, palmadas, simples ou com três ou cinco lobos ovóides com ápice agudo (Fig. 1G), margens inteiras a levemente onduladas, com nervuras actinódroma e inserção do pecíolo basal, face adaxial verde brilhante, face abaxial levemente clara, estípulas filiformes caducas com até 1cm, nós salientes e cicatrizes foliares pequenas. Inflorescência em panícula terminal, muito ramificada com 2 flores femininas na base da inflorescência (Fig. 2B). Flores pistiladas cônicas amareladas pigmentadas de roxo, dialitétalas com 5 tépalas levemente intumescidas, ovário trilocular uniovulado com estigma séssil, com estames rudimentares e disco laranja (Fig. 2F). Flores estaminadas esféricas verdes amareladas com pigmentos roxos, com 10 estames em 2 verticilos e discos vermelhos. Brácteas e bractéolas filiformes caducas. Frutos esféricos com pequena asa pigmentada de roxo, e ápice deslocado lateralmente, pedúnculo verde (Fig. 2F). Raízes com formato predominantemente cilíndrico

5.1.1.5. *Manihot esculenta* variedade UnB 201

Arbusto ereto com até 2 m ramificado, ereto (Fig. 1D), tronco com 5-10 cm de diâmetro, com látex. Caules jovens e maduros glabros, caules jovens marrom arroxeados, caules maduros marrom com casca grossa (Fig. 2K), geralmente ramificando-se em 2 ramos. Folhas membranáceas, alternas, palmadas, 7 lobadas (Fig. 1G), raramente simples, lobos lanceolados com ápice agudo, com nervura broquidódroma, margens inteiras a levemente onduladas, inserção do pecíolo basal, face adaxial verde brilhante, face abaxial levemente clara, estípulas filiformes caducas com margem inteira, nós muito salientes e cicatrizes foliares médias. Inflorescência em panícula terminal, muito ramificada com 2 flores femininas na base da inflorescência. Flores pistiladas cônicas amareladas pigmentadas de roxo, dialitétalas com 5 tépalas levemente intumescidas, ovário trilocular uniovulado com estigma séssil e disco laranja. Flores estaminadas esféricas verdes amareladas com pigmentos roxos, com 10 estames em 2 verticilos e discos vermelhos. Brácteas e bractéolas filiformes caducas. Frutos esféricos com pequena asa e pedúnculo vermelho a roxo (Fig. 2E). Raízes com formato predominantemente cônico.



Figura 1 Características morfológicas das espécies utilizadas como enxerto e porta-enxertos; A: *M. glaziovii* (seta ao fundo), árvore e *M. fortalezensis*. Arbusto alto com 5 m; B: Híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*. Arbusto alto com 3,5 m; C: Variedade UnB 122, arbusto ramificado espalhado, 1,5m; D:Variedade UnB 201. Arbusto ereto, 1,5 m; E: Folhas de *M. fortalezensis* e *M. glaziovii*; F: Folha do híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*; G: Folhas das variedades UnB 122 (folhas com 5, 3 lobos e simples; à esquerda) e UnB 201 (folha com 7 lobos; à direita). Barra: 10 cm. Régua: 30cm.

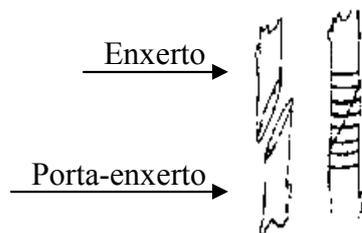


Figura 2 Características morfológicas das espécies utilizadas como enxerto e porta-enxerto. A: Inflorescência jovem de *M. fortalezensis*, com detalhe a esquerda; B: Inflorescência da variedade UnB 122. Flores pistiladas maduras e flores estaminadas em desenvolvimento; C: Fruto globoso e sem assas de *M. glaziovii*; D: Fruto do híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*, com asas muito pequenas; E e F: Frutos, ovários e flores estaminadas das variedades; E: UnB 201. Flor pistilada no detalhe; F: UnB 122, Flor pistilada com estames rudimentares (detalhe); G-K: Caules. G: *M. glaziovii*, nós não salientes, cicatrizes foliares grandes; H: *M. fortalezensis*, nós pouco salientes e cicatrizes foliares grandes; I: Híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*. Nós salientes e cicatrizes grandes; J: Variedade UnB 122. Nós salientes e cicatrizes foliares pequenas; K: Variedade UnB 201. Nós muito salientes e cicatrizes foliares médias. Seta dupla: 1 cm.

5.2. Métodos

5.2.1. Enxertia

Os enxertos foram obtidos justapondo-se as pontas, cortadas em um ângulo de 45°, de estacas com 5 cm de diâmetro da espécie enxerto e das variedades porta-enxerto. Todos foram plantados em canteiros e estão expostos as mesmas condições de solo, irrigação e adubação.



Fonte: www.fruticultura.iciag.ufu.br

Figura 3 Enxertia do tipo garfagem: componentes do enxerto.

5.2.2. Anatomia da Raiz

Para estudo anatômico foram coletadas raízes com 0,3 a 1,5 cm de diâmetro de 2 e 40 cm de distância do caule de porta-enxertos UnB 201 e UnB 122. Para comparação foram utilizados indivíduos não enxertados das mesmas variedades, UnB 201 e UnB 122 e da espécie enxerto *M. fortalezensis* nos meses de setembro de 2009. A amostragem foi de três raízes por indivíduo conforme a disponibilidade de raízes. Selecionou-se os 10 melhores cortes de raízes fibrosas, isto é não tuberizadas, para observação dos tipos celulares, diâmetro e quantidade dos elementos de vaso presentes.

O material coletado foi fixado em solução de FAA 70% por 24h, seguido de conservação em álcool 70% (JOHANSEN, 1940) e cortadas a mão livre em seções transversais e longitudinais em micrótomo de mesa com navalhas Leica descartáveis. As seções foram clarificadas em solução comercial de hipoclorito de sódio a 20% (KRAUS; ARDUIN, 1997) por 1 h, coradas em solução de azul de alcian 1% e safranina 1% na proporção 1:5 (LUQUE *et al.*, 1996) e desidratadas em série etílica (70% à 100%) seguido de série em acetato de butila para serem montados em resina sintética (PAIVA *et al.*, 2006).

Como parte dos estudos anatômicos foram realizados testes histoquímicos para detecção dos tipos de cristais, dos grãos de amido, suberina, látex e lignina. Os cortes transversais foram feitos a mão livre e submetidos aos ácidos sulfúrico a 10% e acético glacial para detecção da composição química dos cristais (MAC LEAN; COOK, 1958), ao Lugol (LANGERON, 1949 *apud* KRAUS; ARDUIN, 1997) para evidenciação do amido, ao Sudan III e

Sudan IV (SASS, 1951) para detecção de suberina e látex, e à floroglucinol acidificado (KRAUS; ARDUIN, 1997) para detecção de lignina.

As fotomicrografias foram feitas em microscópio ótico Axioskop Zeiss, no qual está acoplado máquina fotográfica Motic, com auxílio do programa Motic Images Version 2.0.

As medições dos diâmetros e da quantidade de vasos foram realizadas com auxílio do programa de análise de imagens Image-pro® Plus Versão 4.5 (Média Cybernetics – Silver Spring, EUA) e seguiram as orientações de Richter; Dallwitz (2009). Estimou-se a área de condução com base nos valores médios de diâmetro e frequência de vasos. Para verificar se houve diferença entre os tamanhos, frequências e áreas dos vasos foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan com intervalo de confiança de 5%.

5.2.3. Estudo Citogenético da Meiose

Para estudo citogenético da meiose foram utilizados o enxerto *M. glaziovii* – que mostrou morfologia do caule semelhante à *M. esculenta* – e o híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*. O referido híbrido foi obtido anteriormente pelo professor Nagib Nassar. Para estudo meiótico foram coletados botões florais masculinos dos híbridos. Os botões coletados apresentavam cerca de 8 dias do início da emissão do ápice caulinar e tinham aproximadamente 0,2 cm de diâmetro. Os botões foram coletados entre 7 e 8h da manhã (horário de verão) e fixados em solução de álcool etílico absoluto e ácido acético glacial na proporção 3:1 (líquido de Carnoy) por no mínimo 24 horas em temperatura ambiente e conservados em álcool 70% sob refrigeração. Para preparo das lâminas, as anteras retiradas dos botões florais foram esmagadas e coradas com acetocarmina a 1% (SWAMINATHAN *et al.*, 1954) e as lâminas foram montadas em ácido acético 45% e glicerina 10% (FENNY DANE; TSUCHIYA, 1979).

Para estudo da microsporogênese, foram analisadas as configurações cromossômicas de pelo menos 2 células na metáfase I meiótica e a formação de tétrades em cada espécie. O pareamento regular em metáfase I apresenta a formação de 18 bivalentes (NASSAR, 1986). Díades, tríades e micronúcleos foram consideradas anormais. A porcentagem do número de tétrades normais pelo número total de tétrades, díades, tríades e grupos de micronúcleos foi calculada e porcentagens acima de 85% foram consideradas microsporogênese normal.

5.2.4. Observação morfológica

Características morfológicas distintivas entre as espécies foram observadas nos enxertos obtidos em outubro de 2009 e nas espécies utilizadas como enxerto e porta-enxerto para comparação.

6. RESULTADOS

6.1. Morfologia do caule de espécie enxertada

Dentre as características morfológicas observadas, a morfologia dos nós do caule do enxerto de *M. glaziovii* mostrou-se diferente da encontrada no caule da espécie *M. glaziovii* (não enxertada).

Os enxertos de *M. glaziovii* sobre *M. esculenta* apresentaram nós e cicatrizes foliares de tamanhos e formatos semelhantes aos encontrados na espécie *M. esculenta*. Em *M. glaziovii* os nós não são salientes, as cicatrizes foliares são grandes, entre-nós longos. Enquanto em *M. esculenta* encontra-se características opostas. O caule que brotou da espécie enxerto *M. glaziovii* produziu apenas cicatrizes salientes e com entrenós curtos, tais como as encontradas na espécie porta-enxerto *M. esculenta* (Fig. 4).

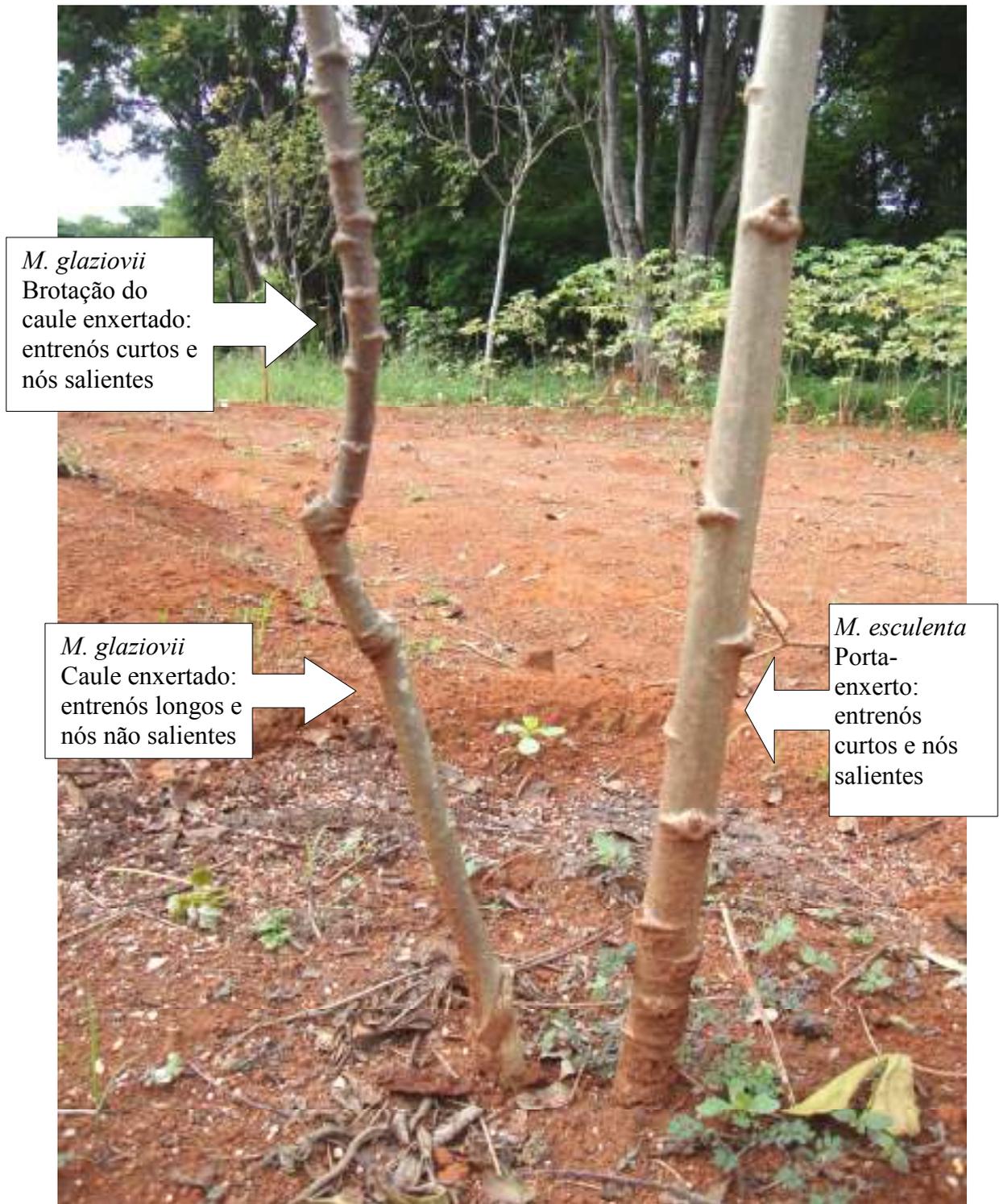


Figura 4 Enxerto *M. glaziovii* e porta-enxerto *M. esculenta*. Nós salientes e entrenós curtos na brotação de *M. glaziovii* semelhantes às que ocorrem em *M. esculenta*.

6.2. Crescimento vegetativo

Dentre os enxertos *M. fortalezensis* sobre os porta-enxertos UnB 201 e UnB 122 apenas 3 cresceram e emitiram brotações ainda no verão entre 2008 e 2009. Estes enxertos brotaram dando origem a plantas como demonstrado na Fig. 5A.

O conjunto enxerto/porta-enxerto: *M. fortalezensis* sobre UnB 122 apresentou crescimento aéreo superior ao conjunto *M. fortalezensis* sobre UnB 201 e equiparável a *M. fortalezensis* (espécie não enxertada). Mas no porta-enxerto UnB 122 houve menor formação de raízes que no porta-enxerto UnB 201 (Fig.6 D).



Figura 5 A: Esquema da brotação dos enxertos: *M. fortalezensis* sobre a variedade UnB 201 e sobre a variedade UnB 122.

M. fortalezensis sobre
Variedade UnB 201



M. fortalezensis sobre
Variedade UnB 122

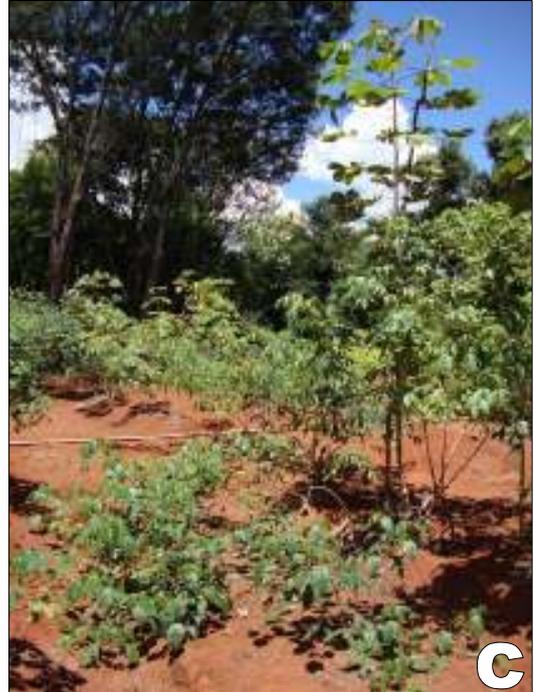


Figura 6 Crescimento vegetativo dos porta-enxertos UnB 201 e UnB 122. A e B: Enxerto de *M. fortalezensis* sobre variedade UnB 201; B: Raízes tuberosas do porta-enxerto UnB 201 em junho de 2010; C e D: Enxerto de *M. fortalezensis* sobre a variedade UnB 122; D: Raízes pouco tuberosas em junho de 2010. Seta: raiz tuberosa. Plaquinhas brancas e lápis verde: 15 cm

6.3. Florescimento

Dentre as espécies estudadas floresceram: o porta-enxerto UnB 122 e as variedades UnB 122 e UnB 201. O porta enxerto UnB 122 exibiu grande período de florescimento e abundância de flores, em quantidade superior a variedade UnB 122. Enquanto a variedade UnB 201 iniciou seu florescimento na segunda semana de janeiro, o porta-enxerto UnB 201 e seu enxerto *M. fortalezensis* só iniciaram em junho, mas cessaram o florescimento após 3 semanas devido à perda de folhas em função das condições climáticas (Fig.7).

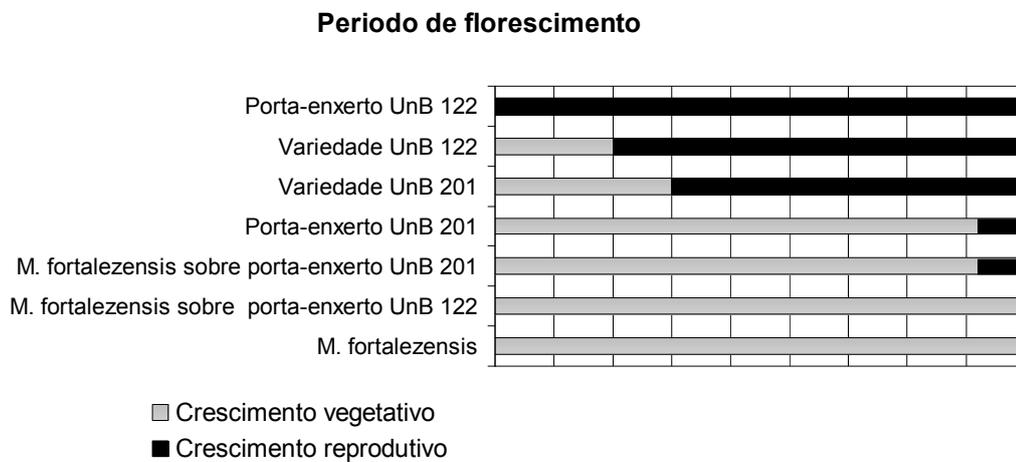


Figura 7 Gráfico: Período de florescimento das plantas enxertadas e não enxertadas de outubro de 2009 a junho de 2010

6.4. Anatomia da raiz em crescimento secundário

As raízes de todas as espécies analisadas (*M. fortalezensis*, e as variedades e porta-enxertos UnB 201 e UnB 122) apresentam crescimento secundário e 3 a 5 mm de diâmetro. Em corte transversal as raízes de todas as variedades apresentam formato circular, e em *M. fortalezensis* além desse, ocorre o formato oblongo. Em todas as espécies estudadas nota-se periderme estratificada, partida em alguns pontos, com 10 a 73 camadas de felema de células tabulares lignificadas com paredes finas (Fig. 8A), geralmente com as camadas mais externas estreitas, mortas e/ou desprendidas. O felogênio apresentou células tabulares e o córtex até três camadas de células parenquimáticas, grandes de formato isodiamétrico a oblongo, podendo conter muitas drusas de oxalato de cálcio. Entretanto, em raízes com mais de 8 mm observa-se córtex com cerca de dez camadas em algumas regiões de *M. fortalezensis* e desenvolvimento de raízes laterais na variedade UnB 122.

As raízes amostradas das duas espécies, *M. fortalezensis* e *M. esculenta* (UnB 201 e UnB 122), apresentam fibras pericíclicas com formato circular a poligonal com 3 a 5 lados, tamanhos variados, e diferentes espessuras de paredes lignificadas na mesma raiz. Em *M. fortalezensis* as fibras pericíclicas são raras (Fig. 9A), mas em raízes com mais de 1 cm de diâmetros há fibras dispostas em grupos de 5-14 células e em maior quantidade próximo a regiões com injúria ou com maior desenvolvimento do córtex. As variedades UnB 201 (Fig. 9C) e UnB 122 (Fig. 9E) apresentam fibras pericíclicas dispostas em arcos próximos entre si com até dez células, que se unem formando grandes arcos quando em raízes com mais de 8 mm de diâmetro. No porta-enxerto UnB 201 as fibras pericíclicas estão ausentes (Fig. 9B) e no porta-enxerto UnB 122 estão dispostas em arcos de até nove células (Fig. 9D).

O floema secundário das raízes analisadas é formado por elementos de tubo crivado com uma ou duas células companheiras, parênquima radial com amido e laticíferos. Os tubos crivados com placas crivadas compostas (Fig. 8B) e células companheiras estão presentes em maior quantidade nas camadas mais internas. Observou-se resquícios de floema primário colapsados próximos da periferia da raiz. No parênquima radial do floema há células isodiamétricas e oblongas contendo amido em quantidade variável e às vezes, muitas drusas de oxalato de cálcio. Algumas células apresentam 2 a 3 vezes o tamanho das adjacentes nos raios dilatados encontrados com maior frequência em *M. fortalezensis*. O parênquima axial apresenta células isodiamétricas e contém menos amido que no radial. O floema secundário das raízes ocupa uma proporção relativamente grande da raiz quando comparado ao xilema, em todas as raízes.

Os laticíferos são articulados anastomosados, isto é uniam-se pela dissolução das paredes formando canais (Fig. 8C). Suas células, em corte transversal, são poligonais a isodiamétricas dispostas em fileiras de até doze células com paredes levemente espessadas (Fig. 8D). *M. fortalezensis* e a variedade UnB 201 apresentam até oito fileiras paralelas concêntricas e descontínuas de laticíferos. A variedades UnB 122 e o porta-enxerto UnB 201 apresentam até cinco fileiras paralelas concêntricas e descontínuas, enquanto no porta-enxerto UnB 122 ocorre até três fileiras paralelas concêntricas e descontínuas de células.

No xilema secundário notaram-se elementos de vaso, células parenquimáticas com amido, fibras libriformes e fibras gelatinosas. Estão presentes elementos de vaso geminados e solitários, de tamanho variável, com paredes celulares pontuadas, reticuladas e escalariformes, dispersos pelo cilindro, na mesma secção da raiz (Fig. 8E). Segundo Richter e Dallwitz (2009), os vasos de todas as espécies estudadas pertencem à classe de tamanho médio (tamanho entre 50 e 100µm) e frequência de vasos pertencente à classe moderadamente freqüente (entre 20 e 40 vasos por mm²), exceto a variedade UnB 201 que apresenta vasos que pertencem à classe freqüente (entre 40 e 100 vasos por mm²). A média de diâmetro, freqüência de vaso e estimativa de área total de condução por mm² estão apresentados na tabela 1 e o xilema secundário está ilustrado nas figuras 9 F, G, H, I e J. Apenas nas variedades enxertadas observa-se, raramente, tilose com amido nos elementos de vasos.

No xilema os raios apresentam células parenquimáticas poligonais com 4-6 lados, menores que as encontradas no floema secundário, totalmente ocupadas por grãos de amido (Fig.8F). Todas as raízes apresentaram grande quantidade de fibras libriformes, com pequena variação de espessura das paredes. As raízes também apresentam fibras gelatinosas no xilema. Em *M. fortalezensis*, no porta-enxerto UnB 201 e na variedade UnB 201 há maior quantidade de fibras gelatinosas (Fig.8G).

Muito mais pronunciado que nas variedades, *M. fortalezensis* apresenta pequenas regiões contendo apenas parênquima rico em amido (Fig.8H).

Nas duas variedades e na espécie *M. fortalezensis* observou-se que diferentes amostras de raiz da mesma planta, com o mesmo diâmetro apresentam estruturas diferentes. Estas raízes podem apresentar xilema lignificado (raízes fibrosas) (Fig.8I) ou xilema composto basicamente de células parenquimáticas com elementos de vasos e fibras apenas no centro do cilindro vascular (raízes tuberizadas). Na variedade UnB 122, nota-se elementos de vaso um pouco maiores e mais dispersos pelo cilindro vascular que na variedade UnB 201. Não se observaram raízes tuberosas em *M. fortalezensis* tais como nas variedades. Entretanto, nota-se grande conteúdo de amido nos raios (Fig. 8F), formação de regiões (ilhas) de parênquima no xilema secundário (Fig.8H) e grande quantidade de fibras gelatinosas.

O diâmetro e a frequência dos vasos de todas as raízes amostradas foram medidos e mostraram diferenças em relação às classes de largura e de frequência (Tabela 1). Houve diferença significativa entre os diâmetros da variedade UnB 201 e as demais amostras. Este dado evidencia que o diâmetro dos vasos desta variedade difere do diâmetro dos vasos do porta-enxerto UnB 201 e também mostra que há semelhança entre os vasos deste porta-enxerto e os vasos da espécie utilizada como enxerto (*M. fortalezensis*).

Quanto à frequência dos vasos houve diferença significativa entre os porta-enxertos, UnB 201 e UnB 122, e suas respectivas variedades não enxertadas. Ambos os porta-enxertos apresentaram menor frequência de vasos. Chama-se atenção para o porta-enxerto UnB 122 o qual apresentou metade da frequência de vasos da variedade não enxertada. Esta frequência é também inferior a encontrada na espécie utilizada como enxerto (*M. fortalezensis*).

As áreas totais de condução foram estimadas para observar qual é o resultado conjunto das mudanças nas larguras e frequências dos vasos. Estes dados evidenciam que apesar de haver menor frequência de vasos no porta-enxerto UnB 201, ocorreu uma área total de condução maior quando comparada à variedade não enxertada, resultado associado à ocorrência de vasos mais largos. Enquanto no porta-enxerto UnB 122 a ocorrência de menor frequência de vasos fez com que ocorresse uma área total de condução menor.

Tabela 1 Características quantitativas dos vasos do xilema das variedades enxertadas e não enxertadas e de *M. fortalezensis*

Espécies	Diâmetro médio do vaso do xilema (μm)	Frequência média (numero de vasos/ mm^2)	Área total de condução/ mm^2 estimada
<i>M. fortalezensis</i>	86,82 \pm 34,81 a	34,16 \pm 14,09 b	0,204 \pm 0,029 c
Variedade UnB 201	69,71 \pm 22,83 b	50,3 \pm 5,74 a	0,2 \pm 0,028 d
Variedade UnB 122	92,43 \pm 37,28 a	43,61 \pm 15,58 a	0,294 \pm 0,071 a
Porta-enxerto UnB 201	92,17 \pm 37,94 a	33,05 \pm 2,453 c	0,223 \pm 0,038 b
Porta-enxerto UnB 122	85,67 \pm 20,23 a	22,22 \pm 2,721 d	0,129 \pm 0,009 e

Letras diferentes indicam diferença significativa entre as médias de acordo com o teste de Duncan de amplitudes múltiplas com $P \leq 0,05$.

6.4.1. Diferenças anatômicas nos porta-enxertos

Os porta-enxertos diferiram das variedades em relação à quantidade de fibras pericíclicas, diâmetro, frequência e conteúdo de vasos. Os porta-enxertos UnB 201 e UnB 122 apresentaram menor quantidade de fibras pericíclicas e menor frequência de vasos e de tilose. Enquanto, o porta-enxerto UnB 201 apresentou vasos mais largos que na variedade UnB 201 e similares a espécie *M. fortalezensis*. Já no porta-enxerto UnB 122 os vasos apresentaram diâmetro similar à variedade UnB 122, mas apenas a metade da frequência de vasos da variedade não enxertada.

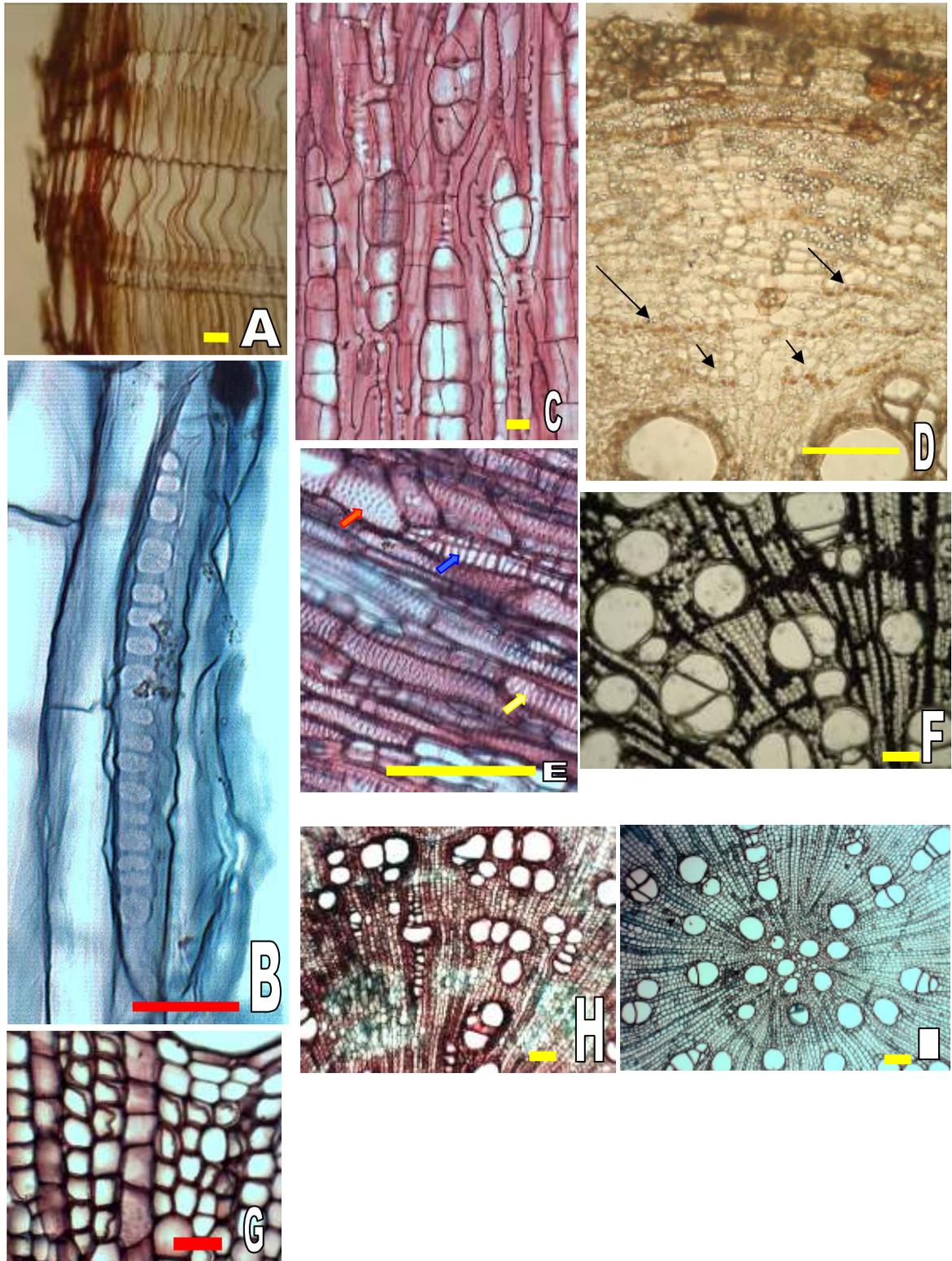


Figura 8 Características dos tipos celulares das raízes das espécies utilizadas como enxerto e porta-enxerto. A: Periderme estratificada com células tabulares com paredes lignificadas finas coradas em vermelho com Floroglucinol; B: Placa crivada composta; C: Laticíferos articulados e ramificados formando canais (corte longitudinal); D: Laticíferos dispostos em fileiras paralelas concêntricas e descontínuas. Látex corado em laranja; E: Paredes secundárias dos elementos de vaso mostrando parede pontuada (seta vermelha), reticulada (seta amarela) e escalariforme (seta azul); F: Grande concentração de amido nas células do raio em *M. fortalezensis*; G: Fibras gelatinosas em *M. fortalezensis*; H: Regiões de parênquima com amido em *M. fortalezensis*; I: Xilema secundário em raiz fibrosa da variedade UnB 122: xilema mais lignificado que em raiz tuberosa. Barra amarela: 150 µm Barra vermelha: 30 µm Fotos: A, F, G e H: *M. fortalezensis*. B, C, I: *M. esculenta* variedade UnB 122. D, E: *M. esculenta* variedade UnB 201

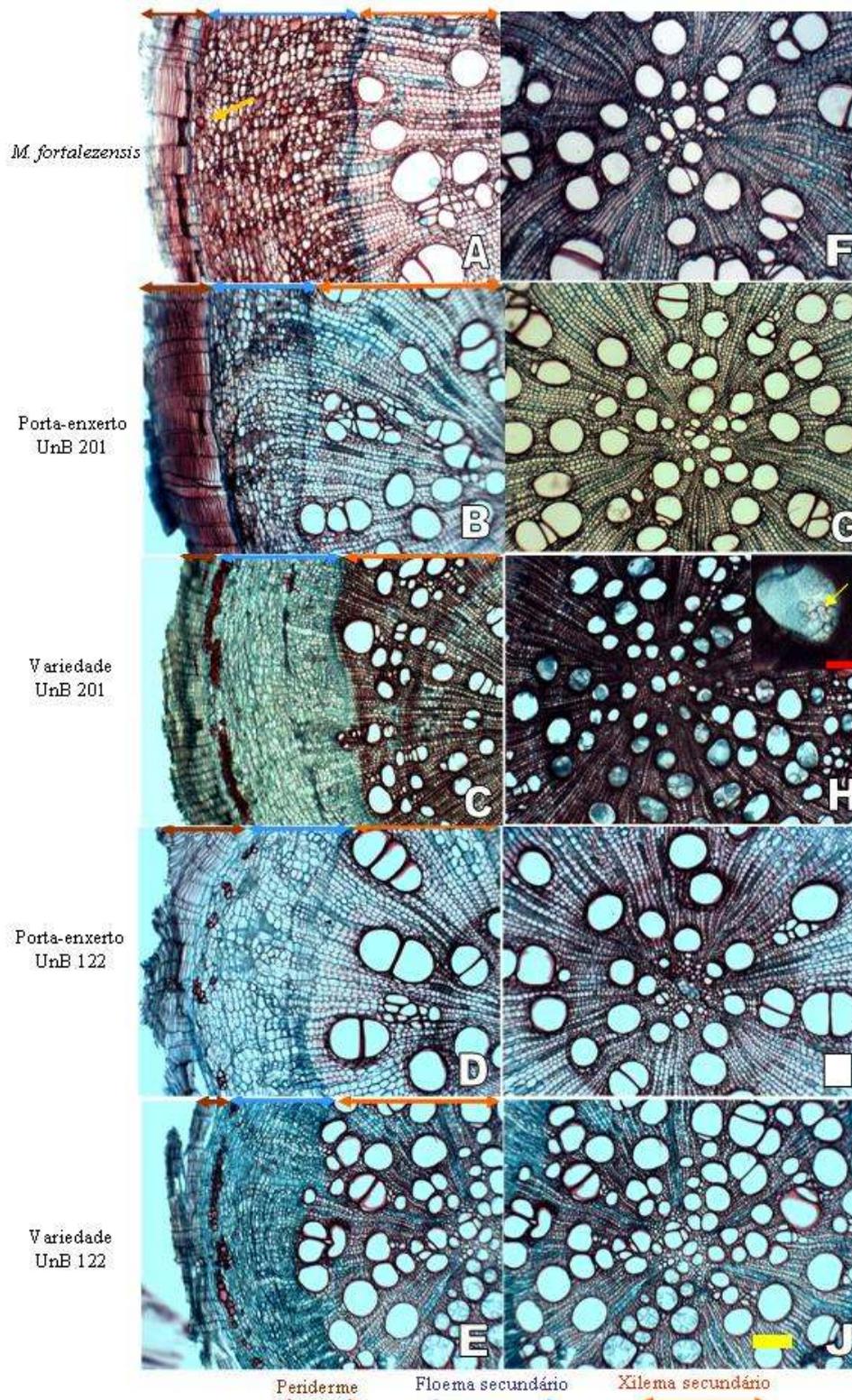


Figura 9 Diferenças anatômicas encontradas nos porta-enxertos. A-E: CórTEX. A: *M. fortalezensis*. Presença rara de fibras pericíclicas (seta); B: Porta-enxerto UnB 201. Ausência de fibras pericíclicas; C: Variedade UnB 201. Grande quantidade de fibras pericíclicas; D: Porta-enxerto UnB 122. Fibras pericíclicas em pequenos grupos; E: Variedade UnB 122. Fibras pericíclicas em grupos grandes formando arcos próximos; F-J: Detalhe do xilema secundário. F: *M. fortalezensis*; G: Porta-enxerto UnB 201. Menor frequência de vasos e vasos mais largos que na variedade UnB 201. Ausência de tiloses; H: Variedade UnB 201. Tilose com amido (seta) muito frequente; I: Porta-enxerto UnB 122. Poucos vasos, diâmetro semelhante aos de *M. fortalezensis* e ausência de tilose; J: Variedade UnB 122. Tilose com amido frequente. Barra amarela: 150 µm. Barra vermelha: 30 µm

6.5. Estudo Cromossômico Meiótico

Foram estudados *M. glaziovii* enxertado sobre *M. esculenta* e um híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii*. O estudo da metáfase I do enxerto *M. glaziovii* e do híbrido natural mostraram comportamento citogenético semelhante. Os materiais estudados mostraram pareamento irregular, o enxerto *M. glaziovii* mostrou freqüência de 13 bivalentes e 10 univalentes (Fig. 11A, C), enquanto o híbrido natural mostrou freqüência média de 12 bivalentes e 12 univalentes (Fig.11 B, D). Identificou-se a ocorrência de 36 cromossomos no híbrido natural (Fig. 10).

A irregularidade observada no pareamento cromossômico pôde ser constatada no exame das tétrades formadas. O enxerto *M. glaziovii* apresentou 48 % de tétrades normais, enquanto o híbrido natural apresentou 92 % de tétrades normais (Fig. 11F). No enxerto *M. glaziovii* foi possível observar díades (Fig. 11E), tríades e micronúcleos.

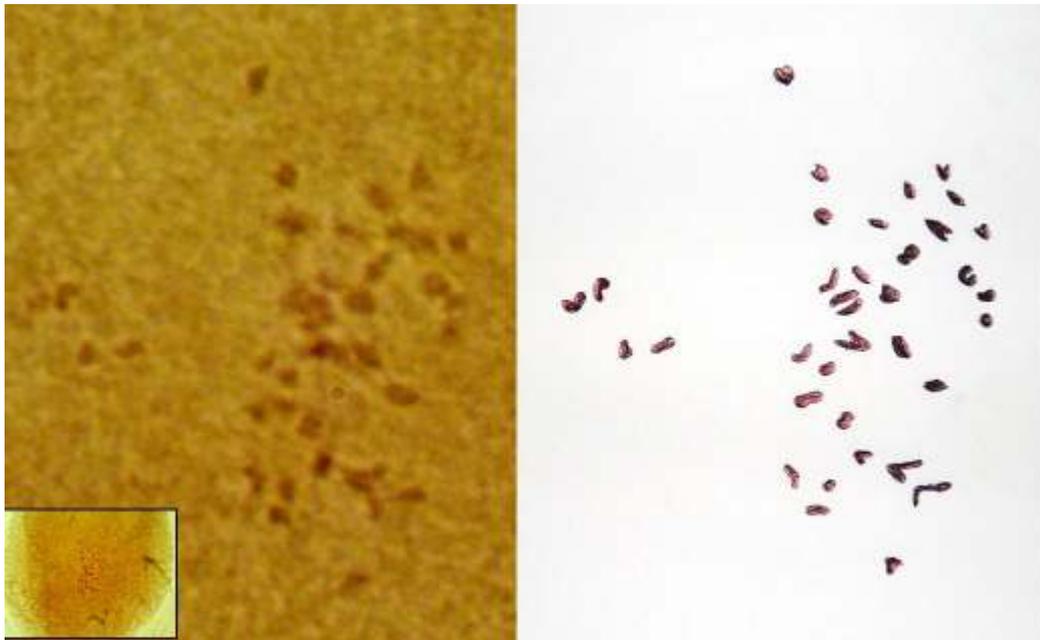


Figura 10 Metáfase I do híbrido de *M. esculenta* com *M. glaziovii*: 36 cromossomos

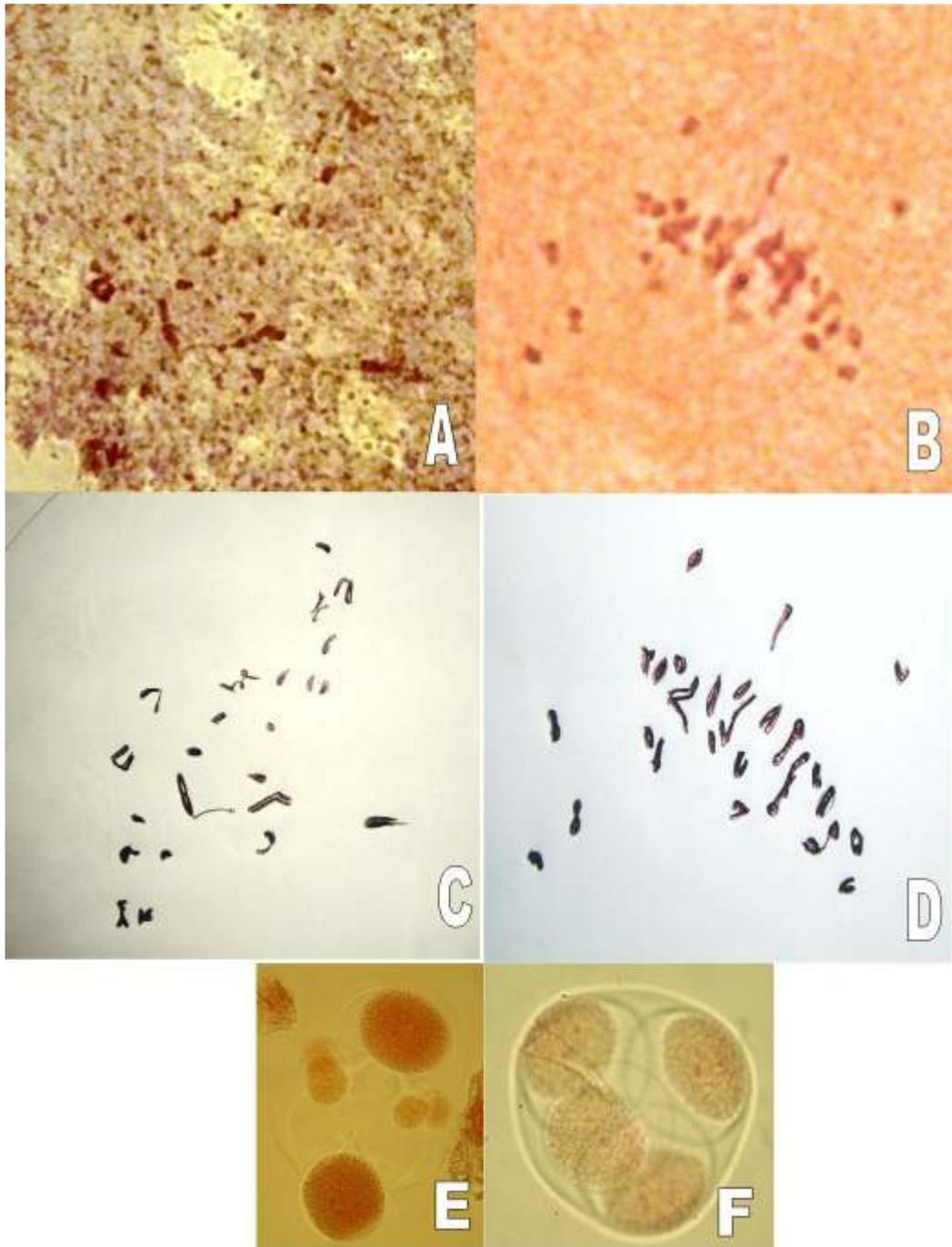


Figura 11 A e B: Metáfase I. A: Enxerto *M. glaziovii* com 13 bivalentes e 10 univalentes; B: Híbrido entre *M. esculenta* e *M. glaziovii* com 10 bivalentes e 16 univalentes, C: Desenho esquemático dos cromossomos referente ao enxerto *M. glaziovii* (correspondente a Fig. 11A); D: Desenho esquemático dos cromossomos referente ao híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii* (correspondente a Fig. 11B); E: Enxerto *M. glaziovii*. Díade com 4 micronúcleos. F: Tétrade normal.

7. DISCUSSÃO

7.1. Efeito da enxertia sobre a morfologia

7.1.1. Efeito da enxertia sobre morfologia do caule

Dentre os enxertos obtidos, um deles mostrou caule com características diferentes da espécie *M. glaziovii*. O caule do enxerto *M. glaziovii* sobre *M. esculenta* apresentou nós proeminentes, cicatrizes foliares pequenas e entrenós curtos (Fig. 4), características semelhantes às da espécie *M. esculenta*, não enxertada. Esta característica parece ter sido induzida pelo porta-enxerto *M. esculenta*, pois ela é controlada por um gene dominante desta espécie, sendo utilizada para distinguir mandioca das demais espécies do gênero (NASSAR, 2003, ROGERS; APPAN, 1973).

A ocorrência de uma característica controlada por gene dominante, sugere uma possível ação genética do porta-enxerto (*M. esculenta*) sobre o enxerto *M. glaziovii*. Em *Euphorbia pulcherrima* também foram relatadas diferenças quanto a características dos nós no enxerto (DOLE; WILKINS, 1991). Os enxertos apresentaram uma planta muito similar ao porta-enxerto em relação ao número de nós e comprimento das brotações.

Esta mudança nas características do caule pode ser uma evidência de que há troca de material genético entre enxerto e porta-enxerto capaz de causar mudanças em características morfológicas.

7.1.2. Crescimento vegetativo

O enxerto *M. fortalezensis* apresentou diferentes alturas quando enxertado sobre os dois porta-enxertos, UnB 201 e UnB 122, provavelmente devido ao efeito de interação entre os componentes do enxerto. O enxerto *M. fortalezensis* sobre a variedade UnB 122 apresentou maior crescimento, o que pode ser explicado em parte pelo maior crescimento da parte aérea do porta-enxerto, UnB 122, o qual pode ter contribuído para um aumento da assimilação de carbono por apresentar grande vigor e grande quantidade de folhas. Este porta-enxerto também pode ter contribuído para o aumento da eficiência de transporte de água, por apresentar área de condução significativamente maior, com vasos mais frequentes que na espécie enxerto. O enxerto *M. fortalezensis* sobre UnB 122 apresentou grande vigor, pois alcançou altura equiparável a *M. fortalezensis* não enxertada mesmo tendo sido podado em setembro de 2009, quando já apresentava 3,5 m, o que sugere uma grande contribuição do porta-enxerto UnB 122 para o enxerto. Por outro lado este porta-enxerto não produziu muitas raízes, o que é esperado já que as plantas mantêm um balanço entre parte subterrânea e parte aérea (LOCKARD; SCHNEIDER, 1981). Este balanço ajuda a explicar também o crescimento

aéreo menos vigoroso do conjunto *M. fortalezensis* sobre UnB 201 (Fig. 6A, B), neste a produção de raízes foi superior que no porta-enxerto UnB 122 (Fig. 6C, D) .

Apesar de a variedade UnB 201 parecer ter maior potencial de produção de raízes devido a enxertia, a variedade UnB 122 pode ter um potencial equiparável, pois a baixa produção de raízes foi prejudicada pela poda sofrida em setembro de 2009. Desta forma, não é possível indicar a variedade mais produtiva. Mas ambos os porta-enxertos apresentaram vigor equiparável ou maior que suas respectivas variedades (não-enxertadas), o que fortalece a prática da enxertia, pois através desta pode-se combinar um enxerto com um índice de área foliar mais adequado para altas taxas de assimilação de carbono e um porta-enxerto com grande capacidade de reserva. Cock *et al.* (1979) determinou que para o máximo crescimento de mandioca, o índice de área foliar ideal deve estar entre 3 e 3,5; enquanto que para o porta-enxerto, é desejável que forme mais de nove raízes tuberosas por planta (PELLET; EL-SHARKAWY, 1994). Pois a capacidade de produção pode ser limitada quando as plantas apresentam menos de nove raízes por planta; visto que a relação entre o número e o tamanho/peso, ou seja, a produção tende a decrescer (PELLET; EL-SHARKAWY, 1994).

7.1.3. Crescimento reprodutivo

No porta-enxerto UnB 122 observou-se relação diretamente proporcional entre a ocorrência de menor frequência de vasos e aumento do florescimento. Este porta-enxerto apresentou florescimento intenso e precoce e uma frequência de vasos menor que na variedade UnB 122. Precocidade e aumento do florescimento estão relacionados a vasos menores e em menor quantidade, quando com uma proporção floema/xilema alta (BEAKBANE, 1953, ATKINSON *et al.* 2003, FASSIO *et al.*, 2008). Logo, os resultados encontrados estão de acordo com literatura.

Apesar da menor frequência de vasos, a ocorrência de vasos de maior diâmetro contribui para uma maior disponibilidade de água (FASSIO *et al.*, 2008), a qual é necessária para um bom florescimento (WANG *et al.*, 1994). A maior área de condução observada no porta-enxerto UnB 122 (Tab. 1), aparentemente o caracteriza como um porta-enxerto vigorizante para o enxerto *M. fortalezensis*. Pois vasos maiores e em maior quantidade estão associados a porta-enxertos vigorosos (BEAKBANE, 1953, ATKINSON *et al.* 2003, FASSIO *et al.*, 2008). Esta característica provavelmente contribuiu para o aumento do vigor vegetativo do conjunto (*M. fortalezensis* sobre UnB 122) com consequência sobre o florescimento, assim como descrito por Mitani *et al.* (2008) onde os resultados indicaram que o vigor, da parte aérea, favorece a florescimento, acelerando-o.

Enquanto na variedade UnB 201, o menor diâmetro dos vasos e menor área de condução (Tab. 1) parecem caracterizar-lo como um porta-enxerto desvigorizante para o enxerto *M. fortalezensis*. Porta-enxertos desvigorizantes geralmente são utilizados por conferir precocidade no florescimento em espécies produtoras de frutos comercializados como *Malus pumila* Mill. (maçã), *Prunus persicae* L. Batsch (pêssego), *Persea americana* Mill. (abacate) (BEAKBANE, 1953, ATKINSON *et al.* 2003, FASSIO *et al.*, 2008), mas no porta-enxerto UnB 201 observou-se o efeito inverso, isto é um grande atraso no florescimento. Este não florescimento parece estar associado a formação de raízes tuberosas, as quais competem pelos carboidratos e foram formadas no período em que o porta-enxerto UnB 122 floresceu. Em *M. esculenta* a atividade de reserva em raízes parece ser muito mais intensa que nas espécies produtoras de frutos comercializados citadas e por isso poderia atrasar o florescimento, em condições semelhantes as referidas espécies.

Além disso, a formação de raízes de reserva e não florescimento, e vice-versa, pode ser determinada geneticamente assim como em beterraba onde a determinação genética dos órgãos de reserva parece ser o fator dominante no balanço entre parte aérea e parte subterrânea (RAPOPORT; LOOMIS, 1985).

O florescimento é controlado por diversos fatores endógenos e exógenos. Dentre os endógenos estão o balanço de hormônios, fase de maturidade e ritmo circadiano, os quais interagem entre si e são estimulados ambientalmente pelo comprimento do dia, temperatura, disponibilidade de nutrientes e radiação luminosa (TAIZ; ZEIGER, 2003). A enxertia pode

influenciar o fator hormonal devido a diferenças fisiológicas entre as espécies enxertadas e também devido à interrupção parcial que ocorre na junção entre os componentes do enxerto que podem causar menor transporte de fitormônios e carboidratos por toda a planta (SCHMID; FEUCHT, 1981). Um menor transporte de fitormônios também pode ter contribuído para o atraso do florescimento no porta-enxerto UnB 201 e no enxerto *M. fortalezensis*, que formaram flores que após 3 semanas caíram. Já em *M. fortalezensis* (não enxertada), algum fator foi mais limitante nas plantas não enxertadas e por isso não permitiu o florescimento.

7.2. Efeito da enxertia sobre a anatomia da raiz em crescimento secundário

Nos porta-enxertos observou-se quatro diferenças em relação às respectivas variedades utilizadas. Estas diferenças ocorreram quanto ao diâmetro, frequência e conteúdo do vasos e quantidade de fibras pericíclicas. Estas diferenças parecem estar associadas à interação genética entre o enxerto e o porta-enxerto, pois os porta-enxertos apresentaram características similares às encontradas em *M. fortalezensis* (enxerto) ou intermediárias entre enxerto e porta-enxerto. O porta-enxerto UnB 201 apresentou vasos com diâmetros semelhantes ao enxerto, enquanto o porta-enxerto UnB 122 apresentou uma menor quantidade de fibras pericíclicas e menor frequência de vasos, esta última menor que no próprio enxerto.

Considerando-se que células germinativas e somáticas de plantas juvenis podem ser modificadas por genes de plantas antigas ou maduras (Liu *et al.*, 2006; Stegemann and Bock, 2009), estes resultados sugerem que as diferenças anatômicas encontradas ocorreram devido a ação genética de *M. fortalezensis* sobre os porta-enxertos, pois todo o crescimento de raízes nos porta-enxertos ocorreu após a enxertia e por isso foi resultado da interação entre enxerto e porta-enxerto.

A principal diferença observada nos porta-enxertos foi a ocorrência de vasos de largura semelhante à encontrada na espécie enxerto *M. fortalezensis*. No porta-enxerto UnB 201 os vasos encontrados eram estatisticamente semelhantes aos encontrados no enxerto e também estatisticamente maiores que os presentes na variedade UnB 201 não enxertada. Esta possível alteração pode resultar em uma melhor atividade vascular e em um aumento na produção de raízes porque a ocorrência de vasos mais largos melhorariam o abastecimento de água, visto que vasos mais largos facilitam o transporte de grandes quantidades de água por unidade de tempo, até em plantas com uma área total de condução menor (FASSIO *et al.*, 2008). Em abacate porta-enxertos com vasos maiores e em menor quantidade, tiveram fluxo de seiva 29% maior que em porta-enxertos com área total de condução maior, mas formada por vasos menores e em maior quantidade (FASSIO *et al.*, 2008).

Um melhor abastecimento de água promove maior crescimento assim como associado ao vigor e a precocidade no florescimento (Solari *et al.*, 2006; Mitani *et al.*, 2008), tal como observado no porta-enxerto UnB 201 - isto é, maior formação de raízes e menor crescimento aéreo - e no porta-enxerto UnB 122, maior crescimento e florescimento, apesar de menor formação de raízes. Estes dados demonstram o balanço entre parte aérea e parte subterrânea, assim como entre crescimento vegetativo e reprodutivo (LOCKARD; SCHNEIDER, 1981).

Diferenças quanto à frequência e conteúdo dos vasos também foram observadas nos porta-enxertos. Neles se observou menor frequência e menor conteúdo nos vasos. Estas características parecem estar relacionados aos vasos mais largos encontrados nos porta-enxertos como resultado de um redirecionamento da relação entre a frequência e a área dos vasos para manter um balanço da área de condução total requerida pelo conjunto enxerto/porta-enxerto. Sugere-se que a variedade UnB 122, que apresentava uma área total de condução maior que em *M. fortalezensis*, sofreu uma diminuição em sua área total de condução como uma tentativa de adequar-se à espécie enxerto *M. fortalezensis*. Enquanto, o porta-enxerto UnB 201 que apresentou um aumento significativo da área de condução também parece ter se modificado em direção à área de condução apresentada pela espécie enxerto, a qual é maior que na variedade UnB 201. Entretanto algumas falhas e interrupções na junção entre os enxertos também podem diminuir a frequência de vasos devido a reduzir o transporte de carboidratos e fitormônios como auxina, que é responsável pela diferenciação celular (HUSSEIN; MACFARLAND, 1994, SCHMID; FEUCHT, 1981).

A menor ocorrência de tilose nos vasos dos porta-enxertos também parece ser uma consequência de vasos mais largos, pois as tiloses, que são projeções das paredes de células parenquimáticas vizinhas, ocorrem com grande frequência em condições de déficit de água e uma menor ocorrência de tilose pode representar um melhor fluxo de seiva, pois os vasos ficam livres para a passagem de água (RICKARD; GAHAN, 1983).

A última diferença entre os porta-enxertos e as variedades não enxertadas foi a menor quantidade de fibras pericíclicas nas raízes dos porta-enxertos. Esta diferença parece ser reflexo de um metabolismo direcionado à produção de metabólitos primários em lugar de investimento em lignina, que é um metabólito secundário complexo presente nas fibras (TAIZ; ZEIGER, 2004). Pois a maior quantidade de raízes observada no porta-enxerto UnB 201 e o intenso florescimento observado no porta-enxerto UnB 122 requerem uma grande quantidade de carboidratos. Esta associação também foi notada em porta-enxertos de kiwi que mostrou menor quantidade de fibras em plantas de florescimento precoce (WANG *et al.*, 1994). Além disso, a deposição de lignina, presente nas fibras, pode aumentar em condições de déficit de água (FAN *et al.*, 2006; YOSHIMURA *et al.*, 2008), o que serve para apoiar a idéia de que a enxertia da *M. fortalezensis* sobre os porta-enxerto UnB 201 e UnB 122, contribuiu para um melhor abastecimento de água.

Estes resultados fortalecem a idéia de que vasos maiores estão associados a vigor aéreo (SOLARI *et al.*, 2006) e também sugerem que vasos mais estreitos estão associados a variedades que formam mais raízes tuberosas, comparando-se os porta-enxertos às respectivas variedades UnB 201 e UnB 122.

As diferenças observadas podem resultar em uma melhor atividade vascular e em um aumento da produção de raízes. Pois pode haver melhoria do abastecimento de água devido à ocorrência de vasos mais largos (Fassio *et al.*, 2008). Um bom abastecimento de água favorece o crescimento vegetativo com consequência sobre o crescimento reprodutivo (SOLARI *et al.*, 2006; MITANI *et al.*, 2008).

Entre as espécies estudadas observou-se uma interessante associação. A maior quantidade de fibras gelatinosas na variedade UnB 201 parece estar relacionada à ocorrência de vasos mais estreitos, como um mecanismo de compensação para tolerância à seca. Pois as fibras gelatinosas estão geralmente associadas à retenção de água (BAILEY; KERR, 1937, PAVIANI, 1973, NASSAR *et al.*, 2010a) e na variedade UnB 201 ocorrem vasos mais estreitos e maior quantidade de fibras gelatinosas que na variedade UnB 122, onde ocorre uma relação inversa.

Em *M. fortalezensis* a presença de grande quantidade de fibras gelatinosas é provavelmente uma característica de adaptação desta espécie ao ambiente seco. Pois as fibras gelatinosas têm sido relacionadas ao armazenamento de água, uma vez que suas paredes são altamente higroscópicas, porosas e com alto teor de celulose, e ao lenho de tensão que se forma na parte adaxial dos caules inclinados (BAILEY; KERR, 1937, PAVIANI, 1973, NASSAR *et al.*; 2010). Esta espécie além de ser nativa da Caatinga, possui porte muito alto para um caule estreito, o que demonstra sua relativa flexibilidade.

Outra característica importante encontrada em todas as espécies estudadas foi a presença de drusas de oxalato de cálcio no parênquima cortical. Esta característica é relatada como defesa contra herbivoria e mecanismo de ampliação do aproveitamento da luz em tecidos sub-epidermais em folhas de locais sombreados (MOLANO-FLORES, 2001). Esta característica provavelmente contribui para a relativa rusticidade das espécies do gênero *Manihot*.

As raízes consideradas para comparação foram selecionadas a partir das características anatômicas que sugeriam uma maior habilidade para condução de água e minerais, pois esta é sua função primária e representa uma participação direta no suprimento de elementos necessários (água e nutrientes) para crescimento aéreo na fase de desenvolvimento estudada. Contrapondo-se a este tipo de raiz estão as raízes tuberosas, as quais neste estágio estavam se formando e só participarão fornecendo elementos necessários (carboidratos) no período seco, junho, julho e agosto quando já estiverem formadas.

7.3. Análise meiótica do efeito da enxertia

O estudo cromossômico meiótico do enxerto *M. glaziovii* e do híbrido natural entre *M. esculenta* e *M. glaziovii* mostrou comportamento citogenético semelhante e um pareamento irregular, considerando que o pareamento regular em espécies do gênero *Manihot* forma 18 bivalentes na metáfase I (CRUZ, 1968, MAGOON *et al.*, 1970, NASSAR, 1978).

No enxerto *M. glaziovii* a frequência de 13 bivalentes e 10 univalentes mostra um aumento significativo na frequência de univalentes quando comparada à espécie *M. glaziovii*. No híbrido natural a frequência de 12 bivalentes e 12 univalentes é justificada por sua natureza híbrida, a qual geralmente apresenta um pareamento irregular devido à falta de homologia entre cromossomos (MAGOON *et al.*, 1970, NASSAR, 1978). Mas no enxerto *M. glaziovii* este pareamento irregular parece ter sido efeito do porta-enxerto *M. esculenta* sobre o enxerto *M. glaziovii*. Por isso, sugere-se que o aumento da frequência de univalentes no enxerto *M. glaziovii* tenha ocorrido devido à uma possível transferência genética do porta-enxerto (*M. esculenta*) para o enxerto (*M. glaziovii*), a qual também afetaria a homologia entre cromossomos com conseqüente dificuldade de pareamento.

Os fatores estudados pelos pesquisadores da hibridização por enxertia possuem o componente genético como premissa. Esta idéia é justificável também por haver respostas dos seres vivos a estímulos do ambiente que podem ser sinalizadas geneticamente por RNA. Por exemplo, certas respostas ao estresse, transições reprodutivas e a integridade do genoma de embriões em desenvolvimento podem ser afetados por pequenos RNAs (MOSHER *et al.*, 2009, CHITWOOD; TIMMERMANS, 2010). Este efeito é dito epigênico e estas modificações foram relatadas como hereditárias. Liu (2006) propôs que o principal mecanismo para a hibridização por enxertia ocorria através de moléculas de RNA que nas células de destino voltavam a ser transcritas para cDNA, o qual podia ser integrado ao genoma de células imaturas. Enquanto Stegemann e Bock (2009) relataram a transferência de fragmentos do próprio DNA e de genoma de plastídios. Estas evidências fazem ainda mais provável ter havido uma real influência do porta-enxerto (*M. esculenta*) sobre o enxerto *M. glaziovii*. E podem ser esclarecidos com maior investigação citogenética e molecular no doutorado.

Estudos moleculares do genoma das células gaméticas poderiam esclarecer uma possível transformação causada pela interação entre componentes do enxerto. Além disso, o estudo da segunda geração de plantas enxertadas pode fornecer evidência mais clara, devido ao acúmulo dos possíveis efeitos. O uso de enxertos ainda mais jovens e mantidos há mais tempo em interação com os porta-enxertos também pode apresentar efeitos mais evidentes.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou haver diferenças na anatomia dos porta-enxertos de *M. esculenta*, UnB 201 e UnB 122, devido ao enxerto *M. fortalezensis*. Nestes porta-enxertos observou-se características intermediárias entre enxerto e porta-enxerto: menor quantidade de fibras pericíclicas, menor frequência de vasos e tilose. E no porta enxerto UnB 201, ocorrência de vasos similares ao enxerto *M. fortalezensis*, isto é, vasos mais largos. Estas características podem ser indicadoras da ação genética do enxerto sobre os porta-enxertos.

Alguns enxertos da espécie *M. glaziovii* sobre *M. esculenta* apresentaram caule com características dos nós e das cicatrizes foliares similares à espécie porta-enxerto, isto é com nós proeminentes e cicatrizes foliares grandes. Esta característica é controlado por um gene dominante e pode ser utilizada para diferenciar *M. esculenta* das demais espécies do gênero. Por isso sugere-se que esta mudança na morfologia do caule tenha sido causada por uma possível transferência genética do porta-enxerto ao enxerto.

O estudo do comportamento citogenético do enxerto *M. glaziovii* sobre mandioca mostrou aumento notável na frequência de univalentes indicando falta de homologia entre seus cromossomos e evidenciando possível modificação devido à transferência genética do porta-enxerto ao enxerto

Conclui-se deste estudo que há transferência genética notável na estrutura anatômica, na estrutura morfológica e no comportamento meiótico de plantas enxertadas. Para a espécie *M. esculenta*, estes resultados são os primeiros que relatam diferenças anatômicas e citogenéticas devido a enxertia e evidenciam que a enxertia é uma importante ferramenta para estudos de interação genética entre espécies diferentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBANG Z., AMOUGOU A., NDONGO, B., NANTIA, J., CHEWACHONG, G.M. Résistance à la mosaïque virale de *Manihot glaziovii* par greffage sur *M. esculenta*. **Tropicultura** 27: 1, 8-14. 2009.
- ATKINSON, C. J; ELSE, M; TAYLOR A. L.; DOVER, C. J. Root and stem hydraulic conductivity as determinants of growth potential in grafted trees of apple (*Malus pumila* Mill.). **Journal of Experimental Botany** 54: 1221-1229. 2003.
- BAILEY, I.W.; KERR, T. The structural variability of the secondary wall as revealed by 'lignin' residues. **Arnold Arboretum Journal** 18: 261-272. 1937.
- BEAKBANE, A.B. Anatomical structure in relation to rootstock behavior. **Proceedings of XIIIth International Horticultural Congress** 1: 152-158. 1953.
- BEDDIE, A. D. Natural root grafts in New Zealand trees. **Transactions and proceedings of the Royal Society of New Zealand** 71: 199-203. 1942.
- BRUJIN, G. H.; DHARMAPUTRA, T.S. The Mukibat system, a high-yielding method of cassava production in Indonésia. **Netherlands Journal of Agricultural Science** 22: 89-100. 1974.
- CHACÓN, J.; MADRIÑÁN, S.; DEBOUCK, D.; RODRIGUEZ, F; TOHME, J. Phylogenetic patterns in the genus *Manihot* (Euphorbiaceae) inferred from analyses of nuclear and chloroplast DNA regions. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 49: 260–267. 2008.
- CHITWOOD, D. H.; TIMMERMANS, M.C.P. Small RNAs are on the move. **Nature** 467: 415-419. 2010.
- CORBESIER, L., VINCENT, C., JANG, S., FORNARA, F., FAN, Q., SEARLE, I.; GIAKOUNTIS, A., FARRONA, S., GISSOT, L., TURNBULL, C., COUPLAND, G. FT Protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. **Science** 316: 1030 – 1033. 2007
- COCK, J.H., FRANKLIN, D., SANDOVAL, G.; JURI, P. The ideal cassava plant for maximum yield. **Crop Science** 19: 271-279. 1979.
- CRUZ, N.D. Citologia do gênero *Manihot* Adans. 1. Determinação do número de cromossomos em algumas espécies. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 40: 91-95. 1968.
- CURTIS, G.J.; Graft-transmission of male sterility in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). **Euphytica** 16: 419-424. 1967.
- DARWIN, C. Chapter XI: On Bud-variation, and on certain anomalous nodes of reproduction and variation. In: **The variation of animals and plants under domestication**. New York, D. Appleton; Co. 1883.
- DOLE, J. M.; WILKINS, H.F. Vegetative and reproductive characteristics of *Poinsetia* altered by a graft-transmissible agent. **Journal American of Society Horticultural Science**, 116: 307-311. 1991.
- FACHINELLO, J.C.; SILVA, C.A.P.; SPERANDIO, C.; RODRIGUES, A.C.; STRELOW, E.Z. Resistência de porta-enxertos para pessegueiro e ameixeira aos nematóides causadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) **Ciência Rural** 30: 69-72. 2000.

- FAN, L.; LINKER, R.; GEPSTEIN, S.; TANIMOTO, E.; YAMAMOTO, R.; NEUMANN, P.M. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stellar accumulation of wall phenolics. **Plant Physiology** 140: 603-612, 2006
- FAO; **Production Yearbook**. Rome; 2007.
- FARALDO, M. I. F., SILVA, R. M., ANDO, A., MARTINS, P.S. Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca em regiões geográficas do Brasil. **Scientia Agricola**. 57:499-505. 2000.
- FASSIO, C.; HEATH, R.; ARPAIA, M.L.; CASTRO, M. Sap flow in 'Hass' avocado trees on two clonal rootstock in relation to xylem anatomy. **Scientia horticulturae**, 120: 8-13. 2008.
- FENNY DANE; TSUCHIYA, T. Meiotic chromosome and pollen morphological studies of polyploidy *Cucumis* species. **Euphytica** 28: 563-567. 1979.
- FERREIRA-SILVA, S.L.; VOIGTE, L.; VIÉGAS, R.A., PAIVA, J.R.; SILVEIRA, J.A.G. Influência de porta-enxertos na resistência de mudas de cajueiro ao estresse salino. **Pesquisa agropecuária brasileira** 44: 361-367. 2009
- FRANKEL, R. Further evidence on graft induced transmission to progeny of cytoplasmic male sterility in *Petunia*. **Genetics** 47: 641-646. 1962.
- FRANKEL, R. Genetical evidence on alternative maternal and mendelian hereditary elements in *Petunia hybrida*, **Heredity** 26: 107-119. 1971.
- GAHAN, P.B. Messenger DNA in higher plants. **Cell biochemistry and function** 21: 207-209. 2003.
- GRAHAM, B. F., Jr., BORMANN, F. H. Natural root grafts. **Botanical Review**. 32: 255-92. 1966.
- GRANER, E.A. Notas sobre o florescimento e frutificação da mandioca. **Bragantia**.2: 1-8. 1942.
- HUSSEIN, L. A.; MACFARLAND, M.J. Rootstock induced differences in sap flow of 'Granny smith' apple. **Horticultural Science** 29: 1120-1123. 1994.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Indicadores 2009**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/defaulttab.shtm>>. Acesso em: 8 jun 2009.
- INDIRA, P.; KURIAN, T. A study on the comparative anatomical changes undergoing tuberization in the roots of cassava and sweet potato. **Journal of Root Crops** 3: 29-32. 1977.
- JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. **Mc Graw Hill Book**. New York. 1940.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A. & STEENS, P.F. **Plant Systematics – a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. 2009
- KRAUS, L.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. EDUR. Rio de Janeiro, 1997.
- LIU, Y.S. Historical and modern genetics of plant graft hybridization. **Advances in genetics** 5: 101-129. 2006.
- LOCKARD, R.G.; SCHNEIDER, G.W. Stock and scion growth relationships and the dwarfing mechanism in apple. **Horticultural reviews**, 315-375. 1981.

LUQUE, R.; SOUSA, H.C.; KRAUS, J.E. Métodos de coloração de Roeser (1972)- modificado – Kropp (1972) visando a substituição do azul de Astra por azul de alcião 8gs ou 8gx. **Acta Botanica Brasílica**, 10: 199-212. 1996.

MAC LEAN, R.C.; IVEMEY-COOK, W.R. Textbook of practical botany. London, **Longmans Greenands Co.** 5ªed.. 476. 1952.

MAGOON, M.L., KRISHNAN, R. AND VIJAYABAI, K. Cytogenetics of the F1. hybrid between cassava and ceara rubber and its back crosses. **Genetica** 41: 3-12. 1970.

MITANI, N., MATSUMOTO R., YOSHIOKA, T., KUNIGA T. Citrus hybrid seedlings reduce initial time to flower when grafted onto shiikuwasha rootstock. **Scientia Horticulturae** 116: 452–455. 2008.

MOLANO-FLORES, B. “Herbivory and concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae)”. **Annals of Botany** 88: 387391. 2001.

MOLNAR, A.; MELNYK, C.W.; BASSETT, A.; HARDCASTLE, T.J.; DUNN, R.;BAULCOMBE, D.C. Small silencing RNAs in plants are mobile and direct epigenetic modification in recipient cells. **Science** 328: 872-875. 2010

MORAES-DALAUQUA, M.A de., CORAL, D.J. Morfo-anatomia. In: CEREDA, M. P. (Coord.). Agricultura: tuberosas amiláceas latino-americanas. São Paulo: **Fundação Cargill**, p. 540. 2002.

MOSHER, R.A., MELNYK, C.W., KELLY K.A., DUNN, R.M., STUDHOLME D.J., BAULCOMBE, D.C. Uniparental expression of PolIV-dependent siRNAs in developing endosperm of Arabidopsis. **Nature** 460: 283-287, 2009

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: 181 – 194. 2009.

MUDGE, K.; JANICK, J.; SCOFIELD S.; GOLDSCHMIDT, E. A History of grafting. **Horticultural Reviews** 35: 437-493. 2009.

NASSAR, N.M.A. Genetic resources of cassava: Chromosome behavior in some *Manihot* species. **Indian Journal of Genetics. Plant Breeding** 38: 135-137. 1978.

NASSAR, N.M.A. Interspecific *Manihot* Grafting: a way to maintain wild cassavas, *Manihot* spp. in living collections. **Ciência e cultura** 33: 414-415. 1980.

NASSAR, N. M. A. *Manihot neusana* Nassar: a new species native to Brazil and its potencial for cassava improvement. **Field Crops Research** 13: 177-184, 1985.

NASSAR, NMA; SILVA, JR; VIEIRA, C. Hibridação interespecífica entre mandioca e espécies silvestres de *Manihot*. **Ciência e Cultura** 38: 1050-1053. 1986.

NASSAR, N.M.A. keeping options alive and threat of extinction: a survey of wild cassava survival in its natural habitat. **Geneconserve** 1: 5-8. 2002.

NASSAR, N.M.A. Gene flow between cassava, *Manihot esculenta* Crantz, and wild relatives. **Genetics and Molecular Research**. 2: 334-347. 2003.

NASSAR, NMA; COLLEVATTI, RG. Breeding cassava for apomixis; **Genetics and Molecular Research** 4: 710-715. 2005.

- NASSAR, N.M.A.; GRACIANO-RIBEIRO, D.& FERNANDES, S.D. Anatomical alteration due to polyploidy in cassava, *Manihot esculenta*. **Genetics and Molecular Research** 07: 276-283. 2008.
- NASSAR, N.M.A., ABREU, L.F.A., TEODORO, D.A.P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Drought tolerant stem anatomy characteristics in *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) and a wild relative. **Genetics and Molecular Research**. 9: 1023-1031. 2010a.
- NASSAR, NMA, GRACIANO-RIBEIRO, D.; BOMFIM, N.N.; GOMES, P.T.C. *Manihot fortalezensis* Nassar, Ribeiro, Bomfim et Gomes: An interesting new species native to Ceará, Brazil. Genetic Resources and Crop Evolution (Print). **Genetic Resources and Crop Evolution** (Print), v. 57, p. 000-000, 2010b.
- 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. 2010c.
- NASSAR, N.M.A.; E ORTIZ, R. Breeding cassava to feed the poor, **Scientific American** 145: 163-171. 2010.
- OHTA, Y.; CHUONG, P. V. Hereditary changes in *Capsicum annum* L. I. induced by ordinary grafting. **Euphytica** 24: 355-368. 1975.
- 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. 1980.
- PAIVA, J.G.A; FANK-DE-CARVALHO, S.M., MAGALHÃES, M.P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz vitral 500*: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botanica Brasílica** 20: 257-264. 2006.
- PAVIANI, T.I. Sobre a ocorrência de fibras gelatinosas em *Plathymania reticulata* Benth. **Ciência e cultura** 26: 783-786. 1973.
- PELLET, D., EL-SHARKAWY, M.A. Sink-source relations in cassava: effects of reciprocal grafting on yield and leaf photosynthesis. **Experimental agriculture** 30:359-367. 1994
- PHILIP, T; GOVINDAIAH, C.; SENGUP, A.K; NAIK, V. N. Anatomical nature of resistance in mulberry genotypes against *Cerotelium fici* causing leaf rust. **Indian Phytopathology** 44: 249-251. 1991.
- RAPOPORT, H.F.& LOOMIS, R.S. Interaction of storage root and shoot in grafted sugarbeet and chard. **Crop Science** 25: 1079-1084. 1985.
- RICHTER, H.G., AND DALLWITZ, M.J. Onwards. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, Portuguese, and Spanish. Version: 25th June 2009. disponível em <<http://delta-intkey.com>> 2000 Acesso em 29 julho 2010
- RICKARD, J. E.; GAHAN, P. B. The Development of Occlusions in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Root Xylem Vessels. **Annals of Botany** 52: 811-821. 1983.
- ROGERS, D.J; APPAN, S. *Manihot, Manihotoides*. **Flora Neotropica**. New York, Hafner Press. (monografia nº 13). 1973.
- SACHS, L.; "Vegetative hybridization" in the tomato. **Nature** 167: 282-283. 1951.
- SASS, J. E. **Botanical Microtechnique**. The Iowa State college Press. Ames. 1951.

- SCHMID, P.P., FEUCHT, W. Differentiation of sieve tubes in compatible and incompatible *Prunus* graftings. **Scientia Horticulturae** 15: 349-354. 1981.
- SOLARI, L.I., JOHNSON, S., DEJONG T.M. Relationship of water status to vegetative growth and leaf exchange of peach (*Prunus persica*) trees on different rootstock. **Tree Physiology** 26: 1333-1341. 2006.
- STOREY, H.H., NICHOLS, R.F.W. Studies on the mosaic disease of cassava. **Annals of Applied Biology** 25:790-806, 1938.
- STEGEMANN, S.; BOCK, R. Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. **Science** 324: 649-651. 2009.
- STROUN, M.; MARTON; C.C., STROUN, J.; Modifications transmitted to the offspring provoked by heterograft in *Solanum melongena*. **Archeological Science** 16: 225-245. 1963.
- SWAMINATHAN, N.S.; MAGOON,M.L.; EARA, K.L.A. Simple propionocarmine PMC smear method for plants with small chromosomes. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, 14, 87-88. 1954.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant physiology**. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., Redwood City. 1998.
- TALLER, J., YAGISHITA, N., HIRATA, Y.; Graft-induced variants as a source of novel characteristics in the breeding of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Euphytica** 108: 73-78. 1999.
- THOMPSON, T.E., AXTELL, J.D. Graft-induced transmission of cytoplasmic male sterility in alfalfa. **The journal of Heredity** 69: 159-164. 1978.
- WANG, Z.Y. , GOULD, K.S., PATTERSON, K.J. Comparative root anatomy of Five *Actinidia* species in relation to rootstock effects on kiwifruit flowering. **Annals of Botany** 73: 403-414. 1994.
- YOSHIMURA K, MASUDA A, KUWANO M, YOKOTA A, AKASHI K. Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C-3 xerophyte (wild watermelon) under water deficits. **Plant and Cell Physiology** 49: 226-241. 2008