



**INDICAÇÃO DE CORANTE PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE POLÍNICA DE  
*Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae)**

INDICATION OF DYE FOR EVALUATION OF POLLEN VIABILITY *Morinda citrifolia*

MELLO<sup>1</sup>, Vanessa dos Santos de; MIRANDA<sup>2</sup>, Daniel Pereira; VIEIRA<sup>3</sup>, Aleson;  
MIRANDA<sup>3</sup>, Daniel Pereira; DINS<sup>2</sup>, Alumara Teixeira; KARSBURG<sup>4</sup>, Isane Vera.

<sup>1</sup>Acadêmica do curso de Ciências Biológicas, UNEMAT, Alta Floresta, e-mail:nessa.demello@hotmail.com

<sup>2</sup>Acadêmicos do curso de Agronomia, UNEMAT, Alta Floresta,

<sup>3</sup> Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas

<sup>4</sup>Professora adjunta do Departamento de Biologia da UNEMAT, Alta Floresta, e-mail: isane9@yahoo.com.br

**Resumo-** O estudo da viabilidade polínica se constitui em um dos fatores de grande importância no melhoramento de plantas, pois reflete a potencialidade do gameta masculino na eficiência da fecundação e posterior fertilização. O presente trabalho teve por objetivo verificar a diferenciação de coloração entre dois corantes na estimativa da viabilidade do grão de pólen de *Morinda citrifolia*. Botões florais em pré-antese foram coletados e fixados em solução de metanol: ácido acético (3:1). Foram utilizados os corantes: orceína acética 2% e azul de astra. Para esses corantes, a viabilidade foi determinada pela diferenciação de coloração dos grãos de pólen, onde foram considerados viáveis os pólenes que apresentaram tonalidades mais escuras e inviáveis aqueles que apresentaram tonalidades mais claras. O corante azul de astra é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen, pois permite corar de forma diferencial os grãos de pólen viáveis dos inviáveis.

**Palavras-chave:** Azul de astra; Grãos de pólen; Orceína acética.

**Abstract-** The viability study of pollen constitutes one of the major factors in plant breeding because it reflects the potential of the male gamete efficiency of fertilization and subsequent fertilization. This study aimed to verify the differentiation of color between two dyes estimate viability of the pollen grain of *Morinda citrifolia*. Flower buds in pre anthesis were collected and fixed in methanol solution: acetic acid (3:1). Dyes were used: 2% acetic orcein and astra blue. For these dyes, viability was determined by differential staining pollen grains, which were considered viable pollens darker shades show that viable and those with lighter shades. The blue dye astra is the most suitable to estimate pollen viability because it allows blushing differentially viable pollen grains of unviable.

**Keywords:** Astra blue; Pollen grains; Orcein acetic.

## INTRODUÇÃO

A *Morinda citrifolia* L., normalmente conhecida por noni, é uma pequena árvore da família das Rubiaceae, originária do Sudoeste da Ásia, tendo sido difundida pelo homem através da Índia, e do Oceano Pacífico até as ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti. O emprego tradicional do noni pelos polinésios está atribuído aos efeitos relacionados com atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntica, analgésica, antiinflamatória, hipotensora e imunestimulante, usado há mais de 2000 anos (WANG *et al.*, 2002).



A fruta possui uma polpa carnuda e amarga de coloração esbranquiçada, e quando madura exala um cheiro forte e rançoso (MORTON, 1992 citado por CHANBLANCO *et al.*, 2006). É muito comercializado em várias partes do mundo tanto na forma de suco quanto em cápsulas contendo o pó da fruta (SANG *et al.*, 2001).

O estudo da viabilidade polínica se constitui em um dos fatores de grande importância no melhoramento de plantas, pois reflete a potencialidade do gameta masculino na eficiência da fecundação e posterior fertilização (BIONDO & BATTISTIN, 2001).

A viabilidade do pólen pode variar consideravelmente entre indivíduos de uma espécie e entre amostras de um mesmo indivíduo. Segundo SHIVANNA & RANGASWAMY (1992), o período de florescimento, as alterações ambientais e as diferenças genotípicas podem contribuir para tal variabilidade. A perda da viabilidade do pólen em diferentes espécies tem sido correlacionada com a perda de água e a manutenção do estado de desidratação em condições naturais e de laboratório (LISKENS & CRESTI, 1988; NEPI & PACINI, 1993).

O objetivo deste trabalho foi verificar a diferenciação de coloração entre dois corantes na estimativa da viabilidade do grão de pólen de *Morinda citrifolia*.

## METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) Campus de Alta Floresta.

Para avaliação da viabilidade do pólen de *Morinda citrifolia* foram utilizados 40 botões florais em pré-antese fixados em solução contendo ácido acético e metanol (3:1) e armazenadas em refrigerador a 2°C até seu uso. Foi avaliada a estimativa da viabilidade polínica com o uso dos corantes: Orceína acética 2% e Azul de Astra. Para esses corantes, a viabilidade foi determinada pela diferenciação de coloração dos grãos de pólen, onde foram considerados viáveis os pólenes que apresentaram tonalidades mais escuras e inviáveis aqueles que apresentaram tonalidades mais claras.

As lâminas foram confeccionadas pela técnica de esmagamento da antera no corante, com retirada dos resíduos da parede da antera e colocação da lamínula. Foram avaliadas 10 lâminas para cada corante sendo contabilizados até 200 grãos de pólen por lâmina. A análise das lâminas foi realizada utilizando microscópio ótico com aumento de 40X. Com os dados obtidos em cada corante, calculou-se a porcentagem de pólenes.

$$\text{Viabilidade do pólen (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de grãos de pólen corados} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ de grãos pólen total}}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade polínica é de grande importância para o melhoramento genético de plantas, sendo que quanto mais alta for a viabilidade polínica maior será o índice de fertilização (SOUZA *et al.*, 2002).

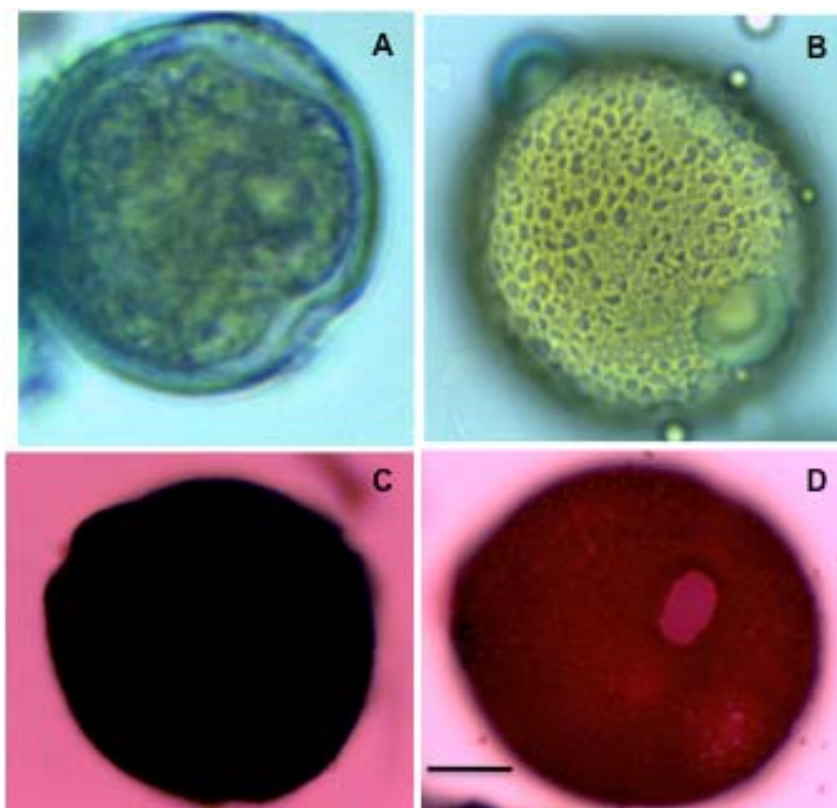
Como pode ser observado na tabela 1 pelo método de coloração com orceína acética 2% observou-se que o percentual de pólen viáveis foi de 14,75%, enquanto que com o uso do azul de astra 90,7%.

De acordo com SOUZA (2002), valores de viabilidade polínica acima de 70% são considerados como alta viabilidade do pólen, de 31 a 69% como média e até 30%, baixa. Com base nessa afirmação, e de acordo com os resultados obtidos, os pólenes corados com azul de astra apresentaram viabilidade alta e com a orceína acética 2% baixa.

**Tabela 1** - Médias da viabilidade polínica de *Morinda citrifolia* com o uso de dois corantes.

Corantes	Pólen Viáveis (%)	Pólen Inviáveis (%)
Orceína Acética 2 %	14,75	85,25
Azul de Astra	90,70	9,30

Com o uso do corante azul de astra, o pólen viável apresentou coloração de verde escuro (FIGURA 1-A) e o inviável ausência de coloração e menor tamanho do pólen em relação ao viável (FIGURA 1-B). O pólen viável, pela orceína acética 2% apresentou coloração de rosa escuro e tamanho maior (FIGURA 1-C), já os inviáveis, coloração rosa com menor intensidade. Os dois corantes utilizados para avaliação da viabilidade polínica em *M. citrifolia* L. foram capazes de distinguir os pólenes viáveis dos inviáveis. O corante azul de astra é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen, pois permite corar de forma diferencial os grãos de pólen viáveis dos inviáveis.





**FIGURA 1** – Grãos de pólen de *Morinda citrifolia*. Coloração com azul de Astra, A) pólen viável, B) pólen inviável. Coloração com orceína acética 2%. C) pólen viável, D) pólen inviável. Barra = 10 µm.

### CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente trabalho são importantes, pois no programa de melhoramento genético, o sucesso dos cruzamentos depende, dentre outros fatores, da escolha de acessos doadores de grão de pólen com alta fertilidade.

Recomenda-se que ao realizar experimentos para estimar a viabilidade polínica de *Morinda citrifolia* L. seja utilizado o corante azul de astra pois ele é mais eficiente, permitindo um resultado satisfatório e mais seguro, em relação a orceína acética 2%.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) G. Don e *Rhynchosia* Lour (Leguminosae – Faboideae), nativas na Região Sul do Brasil. **Bioikos**, Campinas, v.15, n.1, p.39-44, 2001.

CHAN-BLANCO, Y. et al. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 645 – 654, 2006.

LINSKENS, H.F.; CRESTI, M. The effect of temperature, humidity and light on the dehiscence of tobacco anthers. **Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen**, Amsterdam, v. 91, p. 369-375, 1988.

SANG, S. et al. Citrifolinin A, a new unusual iridoid with inhibition of Activator Protein-1 (AP-1) from the leaves of noni (*Morinda citrifolia* L.). **Tetrahedron Letters**, v.42, n.10, p.1823-1825, 2001.

SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The angiosperm pollen**: structure and function. New Delhi: Wiley Eastern Ltd., 1992, 374 p.

SOUZA M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo. **Ciência Agrotécnica**, Lavras. V.26, n.6, p.1209-1217, 2002.

WANG, M. Y. et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.23, p. 1127-1141, 2002.



# I SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Alta Floresta-MT, 23 e 24 de setembro de 2013

---