



POTENCIAL DE TESTES COLORIMÉTRICOS NA ESTIMATIVA DA VIABILIDADE POLÍNICA EM POPULAÇÕES NATIVAS DE CAJAZEIRA

SILVA¹, Bruna Mezzalira da; MORENO¹, Eliane Cristina; LIMA¹ Joameson dos Santos; ROSSI¹, Ana Aparecida Bandini; SOUZA¹, Sergio Alessandro Machado

¹Universidade do Estado do Mato Grosso, Alta Floresta, MT. e-mail: bruna_mezzalira@hotmail.com

Seção temática: Genética e Melhoramento vegetal

Resumo: Neste estudo objetivou avaliar o potencial de testes colorimétricos para estimar a viabilidade polínica de *S. mombin* em três populações nativas, localizadas no Norte do Estado de MT. De cada população utilizou-se um mix de grãos de pólen. Foram utilizados os corantes: reativo de Alexander, carmim acético 2%, lugol 1% e sudan IV. Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os corantes utilizados foram eficientes em diferenciar os pólenes viáveis dos inviáveis. Todas as populações apresentaram percentual médio de viabilidade polínica acima de 97%, independente do corante utilizado. O reativo de Alexander revelou a maior média de pólenes viáveis (98,56%), porém não diferiu estatisticamente do percentual médio revelado pelo corante sudan IV (98,45%). O carmim acético revelou a menor média (96,43%). Os quatro testes colorimétricos avaliados apresentam alto potencial para estimar a viabilidade polínica de *S. Mombin*.

Palavras-chave: *Spondias mombin*; cajá; pólen.

COLORIMETRIC TEST POTENTIAL IN ESTIMATE POLLEN VIABILITY IN NATIVE POPULATION OF Cajazeira

Abstract: This study aimed to evaluate the potential for colorimetric tests to estimate pollen viability of *S. mombin* in three native populations, located in the north of MT. From each population was used a mix of pollen grains. Was using the dyes: Alexander reactive Acetic Carmine 2%, Lugol 1% and sudan IV. The data were submitted to ANOVA and means compared by Tukey test at 5% probability. The dyes used were effective in differentiating viable pollen of the unviable. All populations showed average percentage of pollen viability above 97%, regardless of the dye used. The Alexander reactive revealed the highest average of viable pollen (98.56%), though not significantly different from the average percentage revealed by the dye sudan IV (98.45%). Acetic carmine showed the lowest (96.43%). The four colorimetric tests evaluated have a high potential to estimate pollen viability of *S. mombin*.

Keywords: *Spondias mombin*; cajá; pollen.



INTRODUÇÃO

A cajazeira (*Spondias mombin* L.) é uma espécie frutífera pertencente à família das Anacardiáceas, cujo gênero inclui espécies como a cirigueleira, cajaraneira e umbuzeiro. A espécie encontra-se dispersa nas regiões tropicais da América, África e Ásia, sendo no Brasil encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Os frutos recebem diferentes denominações sendo conhecidos como: cajá, cajá verdadeiro, cajá-mirim ou taperebá. São utilizados no preparo de polpas, sucos, picolé, sorvetes, néctares e geléias. A madeira é bastante utilizada em serviços de marcenaria e partes da planta, casca e folha, são utilizadas com finalidades medicinais (SACRAMENTO e SOUZA, 2000).

Apesar de sua importância, a cajazeira tem sido pouca estudada, principalmente no que tange aos aspectos reprodutivos, Estudos da viabilidade polínica, que visam a estimativa do potencial de reprodução masculina de espécies, também são muito importantes para caracterização de recursos genéticos e para viabilizar os trabalhos de melhoramento genético (KUHN, 2015).

A avaliação da viabilidade polínica pode ser realizada por meio de métodos colorimétricos que utilizam corantes químicos específicos que reagem com componentes celulares presentes nos grãos de pólen maduro (PAGLIARINI e POZZOBON, 2004). A determinação da viabilidade do pólen é fundamental na investigação das causas da infertilidade das plantas, assim como para o conhecimento do potencial de reprodução de uma população e dos problemas de fertilidade que possam ocorrer (PEÑALOZA, 1995).

Neste contexto o objetivo do estudo foi avaliar o potencial de quatro testes colorimétricos para estimar a viabilidade polínica de *S. mombin* em três populações nativas, localizadas no Norte do Estado de Mato Grosso.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular do Campus Universitário de Alta Floresta - MT, no ano de 2015. O material vegetal utilizado para o estudo foi coletado em três populações de *S. mombin* localizadas no Município de Alta Floresta, MT, Nova Bandeirantes, MT e Marcelândia, MT. De cada população utilizou-se um mix de grãos de pólen em pré-antese oriundos de quatro genótipos distintos. As flores foram transferidas diretamente para a solução de etanol: ácido acético glacial (3:1) mantidos em temperatura ambiente por 24 horas e posteriormente transferido para álcool 70% e armazenados em geladeira até uso posterior.

A viabilidade polínica foi avaliada pelo método colorimétrico, utilizando reativo de Alexander (ALEXANDER, 1980) que indica a viabilidade dos grãos de pólen pela coloração do protoplasma inteiro de púrpura e a parede celular corada de verde, carmim acético 2% são considerados normais/viáveis os grãos de pólen que apresentam coloração avermelhada e normais/inviáveis os que apresentam coloração amarronzada (RIGAMOTO e TYAGI, 2002), lugol 1% que indica a viabilidade pela

coloração marrom (DAFINI, 1992) e sudan IV indica viabilidade polínica dando ao pólen viável a coloração vermelha (SOUZA et al., 2002; HUANG et al., 2004).

Foram confeccionadas oito lâminas para cada corante nas três populações, sendo contabilizados 250 grãos de pólen por lâmina, pelo método de varredura, utilizando um microscópio binocular com lente objetiva de 10x (Bel Frotonics e Primo Star Zeiss), totalizando 2.000 grãos de pólen por população para cada corante. Com os dados obtidos, calculou-se a porcentagem de pólenes viáveis obtidos pela equação: Viabilidade do pólen (%) = N^o de grãos corados / N^o de grãos contados * 100.

Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quatro corantes utilizados no estudo, Reativo de Alexander, carmim acético 2%, lugol 1% e sudan IV, foram eficientes na distinção entre pólenes viáveis e inviáveis nas populações de *S. mombin* conforme demonstrado na Figura 01.

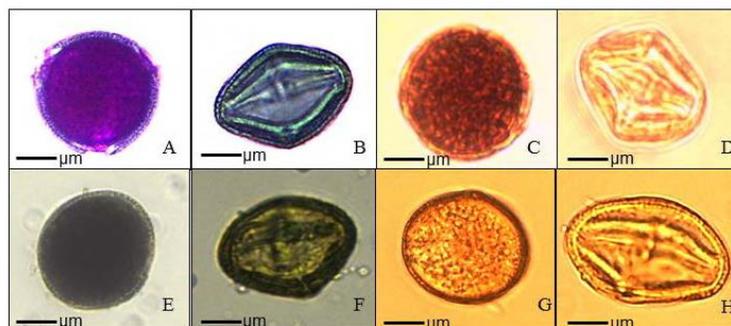


Figura 1. Grãos de pólenes de *S. mombin* corados com Reativo de Alexander: polén viável (A) e polén inviável (B); Carmim Acético: polén viável (C) e polén inviável (D); Lugol: polén viável (E) e polén inviável (F) e Sudan IV: polén viável (G) e polén inviável (H). Barra: 20µm

Os testes colorimétricos com lugol e sudan IV podem também estar associados à detecção de substâncias constituintes dos grãos de pólen, como amido e lipídios, que podem estar presentes tanto em grãos de pólen maduros como nos abortados (RODRIGUEZ-RIANO e DAFNI, 2000). Corantes, como o carmim acético e a solução de Alexander, refletem a integridade de estruturas celulares, como núcleo e membrana plasmática (BÁEZ et al., 2002; PLINE et al., 2002).

Os resultados dos percentuais médios da viabilidade polínica por população para o teste com os quatro corantes: reativo de Alexander, carmim acético, lugol e sudan IV, encontram-se descritos na Tabela 1.

O percentual médio de viabilidade polínica entre as três populações de cajá não diferiram estatisticamente quando avaliados com os corantes: reativo de Alexander e



III SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Conservação de solos na Amazônia Meridional

13 a 16 de outubro de 2015 Alta Floresta-MT Universidade do Estado de Mato Grosso

Cáceres, v. 2, n. 1, 2015

ISSN 2358-5978

carmim acético, havendo diferenças estatísticas quando comparadas com os corantes lugol e sudan IV (Tabela 1). , Porém todas as populações apresentaram percentual médio acima de 97%, independente do corante utilizado, revelando que as populações nativas de *S. mombin* estão com um comportamento meiótico regular.

Outros autores também encontraram um alto percentual de viabilidade polínica para diferentes espécies nativas tais como *Mauritia flexuosa* onde as médias variaram de 95,55 á 97,41 (GOMES et al., 2013) e *Theobroma cacao* a média da viabilidade do pólen foi de 95,24 (CABRAL et al., 2013).

Tabela 1. Percentuais médios da viabilidade de grãos de polens utilizando os corantes: Reativo de Alexander, Carmim Acético 2%, Lugol 1% e Sudan IV para três populações de *S. mombin*.

Corantes	Percentual de Viabilidade Polínica por Populações		
	Alta Floresta	Nova Bandeirantes	Marcelândia
Reativo de Alexander	98,70 aA	98,35 aA	98,65 aA
Carmim Acético	96,05 aB	96,50 aB	96,75 aB
Lugol	98,05 abA	97,50 bA	98,40 aA
Sudan IV	98,60 abA	97,85 bA	98,90 aA
Média	97,85	97,55	98,17
CV (%) = 0,69			

As médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quando as análises foram realizadas em nível de espécie, sem considerar as populações separadas, o corante reativo de Alexander revelou a maior média de polens viáveis (98,56%), porém não diferiu estatisticamente do percentual médio de viabilidade revelado pelo corante sudan IV (98,45%). O carmim acético revelou a menor média de pólen viável para a espécie *S. mombin* (96,43%), diferindo-se estatisticamente dos outros três corantes utilizados (Figura 2). Segundo Souza et al. (2002), é considerado como alta viabilidade do pólen valores acima de 70%, dessa forma os resultados obtidos com os quatro testes colorimétricas realizados para as populações de cajá mostraram-se eficientes, revelando alta viabilidade (>96%).

Por corar de forma diferenciada a parede do grão de pólen e o protoplasma, o reativo de Alexander permite diferenciar facilmente polens abortados de polens não abortados pela ausência ou presença de núcleo (ALEXANDER, 1980). Diversos estudos vêm comprovando a eficiência desses corantes na técnica de estimativa da viabilidade polínica. Auler et al. (2006), usando carmim propiônico 2%,orceína acética 2% e reativo de Alexander, na análise da espécie medicinal *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja), concluíram que o reativo de Alexander foi o método mais eficaz para estimar a viabilidade dos grãos de pólen. Moreno et al. (2015), ao analisar a viabilidade polínica de *Passiflora edulis*, também observou que o corante Reativo de Alexander

apresentou maiores médias de polens viáveis, resultados diferentes foram encontrados por Tiago et al. (2014), ao utilizar os corantes Reativo de Alexander, lugol 1% e carmim acético 2% para avaliar genótipos de *Manihot esculenta* onde o Reativo de Alexander revelou uma menor viabilidade polínica.

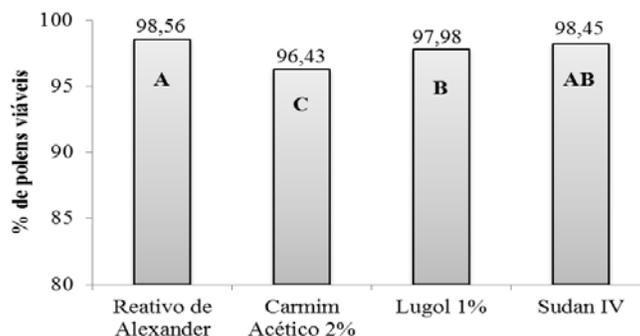


Figura 2. Percentual médio de polens viáveis para a espécie *S. mombin* com os corantes: reativo de Alexander, carmim acético 2%, lugol 1% e sudan IV.

CONCLUSÕES

Os quatro testes colorimétricos avaliados neste estudo (reativo de Alexander, carmim acético 2%, lugol 1% e sudan IV) apresentaram alto potencial para estimar a viabilidade polínica de *S. mombin* em populações nativas. As populações apresentaram uma taxa de viabilidade polínica alta, independente do corante utilizado (>97%).

AGRADECIMENTOS

À FAPEMAT pelo financiamento do projeto de pesquisa PROCESSO N^o. 166159/2014.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M.P. Versatile stain for pollen fungi yeast and bacteria. **Stain technology**, Baltimore, v. 55, n. 1, p. 13-18, 1980.
- AULER, N.M.F.; BATTISTIN, A.; REIS, M.S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.
- BAÉZ, P.; RIVEROS, M.; LEHNEBACH, C. Viability and longevity of pollen of *Nothofagus* species in south Chile. **Journal of Botany**, New Zealand, v. 40, n. 4, p. 671- 678, 2002.
- CABRAL, J.C.; ROSSI, A.A.B.; KLEIN, M.E.; VIEIRA, F.S.; GIUSTINA, L.D. **Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes colorimétricos**. 9. ed. Belém: 2013. 2788 p.
- DAFINI, A. **Pollination ecology**: a practical approach (the practical approach series). New York, Oxford: University press, 1992. 250 p.



III SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Conservação de solos na Amazônia Meridional

13 a 16 de outubro de 2015 Alta Floresta-MT Universidade do Estado de Mato Grosso

Cáceres, v. 2, n. 1, 2015

ISSN 2358-5978

- FERREIRA, D.F. **SISVAR 5.0**: Sistema de Análises Estatísticas. Lavras: UFLA, 2003.
- GOMES, A.D.; ROSSI, A.A.B.; DARDENGO, J.F.E.; SILVA, B.M.; SILVA, I.V. **Razão sexual e viabilidade polínica de *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae)**. 9. ed. Belém: Cnpq/Museu Paraense Emílio Goeldi, 2013. p. 2864-2870.
- HUANG, Z.; ZHU, J.; MU, X.; LIN, J. Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis*. **Annals of Botany**, USA, v. 93, n.3, p. 295-301, 2004.
- KEARNS, C.A.; INOUE, D. **Techniques for pollinations biologists**. Niwot: University Press of Colorado, 1993. 583 p.
- KUHN, A. W. **Viabilidade polínica, genotoxicidade, efeito antiproliferativo e compostos fenólicos de *Peltodon longipes* Kunth ex Benth. (Lamiaceae)**. 2015. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2015.
- MORENO, E.C.; TIAGO, A.V.; ROSSI, F.S.; ROSSI, A.A.B. **Biologia floral, morfometria e viabilidade polínica do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener)**. 11. ed. Belém: 2015. p. 2094- 2104.
- PAGLIARINI, M.S.; POZZOBON, M.T. Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In: CURSO DE CITOGENÉTICA APLICADA A RECURSOS VEGETAIS, 2., 2004, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA, 2004. p. 86.
- PEÑALOZA, A.P.S. **Caracterização de componentes biológicos da produção de sementes de *Arachis pintoi* (Leguminosae)**. 1995. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 1995.
- PIO, L.A.S. **Viabilidade do pólen de citros em diferentes condições de armazenamento**. 2003. 45 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2003.
- PLINE, W.A.; EDMISTEN K.L.; OLIVER, T.; WILCUT, J.W.; WELLS, R.; ALLEN, N.S. Use of digital image analysis, viability stains, and germination assays to estimate conventional and glyphosate-resistant cotton pollen viability. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 6, p. 2193-2200, 2002.
- RIGAMOTO, R.R.; TYAGI, A.P. Pollen fertility status in coastal plant species of Rotuma Island. **The South Pacific Journal Natural Science**, v. 20, p. 30-33, 2002.
- RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to assess pollen viability. **Sexual Plant Reproduction**, Israel, v. 12, p. 241-244, 2000
- SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: Funep, Série Frutas Nativas, 2000. 42 p.
- SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. Microsporogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.
- TIAGO, A.V.; ROCHA, V.D.; TIAGO, P.V.; LIMA, J.S.; ROSSI, A.A.B. **Viabilidade polínica e receptividade estigmática em variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 10. ed. Belém: 2014. p.1957- 1966.