

Estudo da viabilidade polínica em acessos de espécies silvestres do gênero *Manihot*

*Jullie Cryscele Leandro Silva*¹; *Irlane Cristine de Souza Andrade Lira*²; *Talyta Amaral Magalhães*³; *Luiz Henrique Santos Cursino*¹; *Rafaela Priscila Antonio*⁴

Resumo

Com este estudo, objetivou-se estimar a viabilidade polínica de acessos de espécies silvestres do gênero *Manihot* da coleção de trabalho da Embrapa Semiárido utilizando-se dois diferentes tipos de corantes, carmim acético e reativo de Alexander, para a identificação de materiais com potencial para utilização na obtenção de híbridos. Foram avaliados três botões florais masculinos de cada acesso para cada corante, em pré-antese e na antese, de cinco acessos dessas espécies. Para cada lâmina, foram avaliados 500 grãos de pólen, classificando-os em viáveis ou inviáveis. O percentual de viabilidade foi obtido pela razão entre os grãos viáveis e o total de grãos avaliados na lâmina. A viabilidade dos grãos de pólen observada com o uso dos dois corantes foi semelhante, apresentando um índice de viabilidade acima de 50% para quase todos os acessos. O acesso BGMS24 apresentou índice de viabilidade abaixo de 30%. Neste estudo, a coloração com reativo de Alexander se mostrou mais promissora para a identificação e diferenciação dos grãos de pólen viáveis e inviáveis nos acessos silvestres do gênero *Manihot*. Os resultados também confirmam o potencial destes para serem usados como possíveis genitores em programas de melhoramento.

Palavras-chave: maniçoba, grãos de pólen, carmim acético, reativo de Alexander.

¹Estudantes de Ciências Biológicas, UPE, estagiário(a) da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Bióloga, doutoranda Uefs, Feira de Santana, BA.

³Engenheira-agrônoma, doutoranda, Uefs, Feira da Santana, BA.

⁴Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, rafaela.antonio@embrapa.br.

Introdução

As espécies silvestres do gênero *Manihot* são úteis em programas de melhoramento da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), principalmente quando o objetivo é hibridação interespecífica. Este método é utilizado nessa cultura para criar variabilidade ou transferir características de interesse econômico.

Para o aumento da oferta de forragens na Caatinga, uma alternativa a ser seguida é a realização de cultivo de espécies nativas associada ao melhoramento genético a fim de maximizar o potencial de produção forrageira (Araújo et al., 2008). Estudos de genética e melhoramento de espécies não domesticadas para a alimentação animal são de fundamental importância para o desenvolvimento de sistemas de produção agrícolas, para a valorização da biodiversidade regional e o desenvolvimento sustentável para os pequenos agricultores e pecuaristas da região (Pedreira, Pedreira, 2014).

Entre as espécies que apresentam grande potencial forrageiro estão os parentes silvestres da mandioca (Silva et al., 2009), que podem ser utilizados na alimentação animal ou com o objetivo da incorporação de caracteres de interesse em cruzamentos, já que a maioria destas espécies são adaptadas às adversidades do Semiárido (Silva et al., 2009).

Vargas et al. (2004) afirmaram que a realização da análise da viabilidade polínica fornece informações importantes sobre o potencial de cruzamentos das plantas, subsidiando futuros programas de melhoramento, ajudando na seleção e em cruzamentos. As informações sobre viabilidade e desenvolvimento de grãos de pólen são de grande importância para os trabalhos de melhoramento genético, pois permitem selecionar genitores no intuito de obter grande sucesso em cruzamentos controlados onde o objetivo é gerar híbridos e aumentar a variabilidade genética (Chagas et al., 2010).

A Embrapa Semiárido possui uma coleção de trabalho de espécies silvestres do gênero *Manihot* que conta com cerca de 50 acessos. Esses materiais necessitam de um intenso trabalho de caracterização; entre estes, o estudo da viabilidade polínica.

Diante do exposto, objetivou-se, com este trabalho, estimar a viabilidade polínica de espécies silvestres do gênero *Manihot* da coleção de trabalho da Embrapa Semiárido para a identificação de materiais com potencial para utilização na obtenção de híbridos.

Material e Métodos

A análise foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido. Para o estudo da viabilidade dos grãos de pólen, foram utilizados cinco

acessos de espécies silvestres do gênero *Manihot* pertencentes à coleção de trabalho da Embrapa Semiárido, sendo: um classificado como *M. longiracemosa* (BGMS18), três *Manihot* sp. (BGMS30, BGMS33 e BGMS38), vulgarmente conhecidas como maniçoba, e um acesso de pornunça (BGMS24).

Foram analisados seis botões florais masculinos de cada acesso. Três botões para cada corante, em pré-antese e antese. Os botões florais foram coletados e fixados em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial, v/v) por 2 a 24 horas e estocados em freezer a -20 °C até a sua utilização (Guerra; Souza, 2002).

Para avaliar o percentual de viabilidade polínica, as anteras dos botões florais foram depositadas sobre a lâmina e esmagadas para a liberação dos grãos de pólen. Os corantes utilizados foram: carmim acético e reativo de Alexander. Para cada corante foram avaliadas três lâminas, sendo analisados 500 grãos de pólen por lâmina.

Foi considerado viável o grão de pólen que apresentou forma circular, grande e corado homoganeamente, num tom vermelho-intenso. Considerou-se inviável o grão de pólen irregular, com coloração azul pelo reativo de Alexander ou marrom-claro ou sem coloração pelo carmim acético. Na solução de Alexander, o verde de malaquita reage com a celulose da parede do pólen, corando assim os grãos de pólen abortados de verde ou azul, enquanto a fucsina ácida reage com o protoplasma, corando os grãos não abortados de roxo ou vermelho (Alexander, 1980).

Após a contagem dos grãos de pólen, estimou-se a porcentagem de viabilidade da planta por meio da razão entre os grãos viáveis e o total de grãos contados na lâmina.

Resultados e Discussão

A estimativa da viabilidade polínica das espécies estudadas apresentou variação quanto ao percentual de grãos de pólen viáveis e inviáveis, tanto para a coloração com carmim acético, como para com o corante reativo de Alexander (Tabela 1). Pode-se observar que quase todos os acessos apresentaram viabilidade superior a 79%, exceto o acesso BGMS24 com 28% e 20% dos grãos de pólen viáveis, para os corantes carmim acético e reativo de Alexander, respectivamente.

Tabela 1. Viabilidade de grãos de pólen (%) de acessos do gênero *Manihot* submetidos à coloração de carmim acético e reativo de Alexander.

Acessos	Carmim acético		Reativo de Alexander	
	Viáveis (%)	Inviáveis (%)	Viáveis (%)	Inviáveis (%)
BGMS 18	91	9	96	4
BGMS 24	28	72	20	80
BGMS 30	99	1	93	7
BGMS 33	99	1	96	4
BGMS 38	99	1	79	21

Segundo Souza et al. (2002), valores acima de 70% são considerados com alta viabilidade polínica, 31% a 69% como média, e valores inferiores a 30% como baixa. Desta forma, observou-se que a maioria dos acessos apresentou alta viabilidade, exceto o acesso BGMS24 que apresentou viabilidade baixa, quando analisado tanto pelo corante carmim acético quanto pelo corante reativo de Alexander.

Silva et al. (2001), avaliando a viabilidade dos grãos de pólen em seis etnovarietades de mandioca, observou valores semelhantes aos encontrados neste trabalho. Assim, os acessos BGMS18, BGMS30, BGMS 33 e BGMS38 apresentam grande potencial para serem usados em cruzamento, sendo importantes fontes de variabilidade genética para os programas de melhoramento. Segundo Ceballos et al. (2002), dentre os principais problemas na utilização de espécies silvestres de *Manihot* em programas de melhoramento genético de mandioca destacam-se a falta de sincronia nos períodos de florescimento e a baixa taxa de pegamento dos cruzamentos devido à baixa taxa de viabilidade polínica em alguns acessos.

O corante mais indicado para avaliar as espécies foi o reativo de Alexander, uma vez que possibilitou melhor diferenciação dos grãos de pólen viáveis e inviáveis. Segundo Silva et al. (2001), a determinação da viabilidade pela coloração com carmim acético está sujeita a erro de interpretação, pois, os grãos de pólen demoram a absorver o corante. Desta forma, dependendo do tempo esperado para a contagem, poderá ser obtido diferentes resultados (Figura 1).

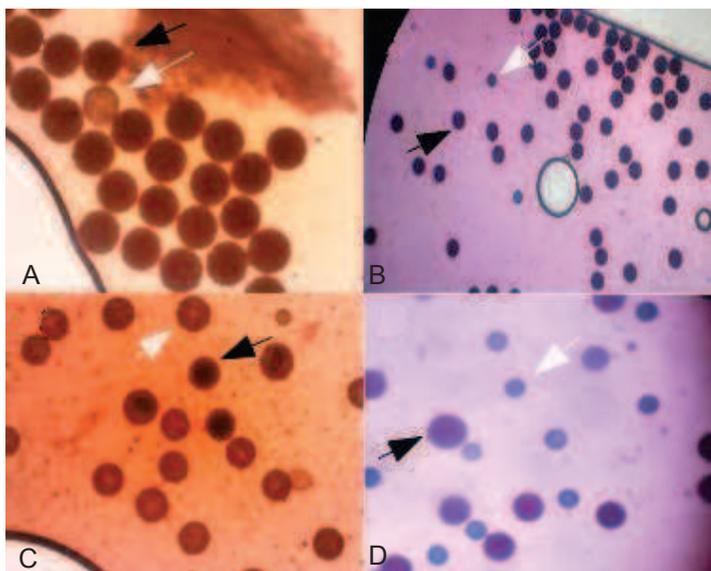


Figura 1. Grãos de pólen do acesso gênero *Manihot* BGMS38 corados com carmim acético (A) e corados com reativo de Alexander (B). Grãos de pólen do acesso BGMS24 corados com carmim acético (C) e com reativo de Alexander (D). Setas em preto indicam os pólenes viáveis e a setas em branco os pólenes inviáveis.

Conclusões

O percentual de grãos de pólen viáveis e inviáveis obtidos com a utilização do corante carmim acético e reativo de Alexander foi semelhante para todos os acessos avaliados. Todavia, a coloração com reativo de Alexander se mostrou mais eficiente para a identificação e diferenciação dos grãos de pólen.

O acesso BGMS24 apresentou os menores valores de viabilidade, entretanto, todos os outros acessos estudados revelaram alta viabilidade, confirmando o potencial para serem usados como possíveis genitores na obtenção de híbridos em programas de melhoramento.

Referências

ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen from fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, v. 55, p. 13-18, 1980.

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B.; CAMPOS, P. R. S. S. Melhoramento genético de plantas forrageiras tropicais no Brasil. **Archivos Zootecnia**, v. 57 (R), p. 61-76, 2008. Disponível em: http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/25_13_18_1122REVISIONAvaliacaoAraujo.pdf. Acesso em: 14 maio 2018.

CEBALLOS, H.; MORANTE, N.; JARAMILLO, G.; LENIS, J. I.; CALLE, F.; PÉREZ, J. C. Mejoramiento Genético de la Yuca. In: CEBALLOS, H. (Ed.). **La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización**. Cáli: CIAT, 2002. p. 295-325.

CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, M.; BETTIOL NETO, J. E. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 231-266, 2010.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: Funpec, 2002.

PEDREIRA, C. G. S.; PEDREIRA, B. C. Manejo de pastagens tropicais para intensificação da produção. In: SIMPÓSIO DE PECUÁRIA INTEGRADA, 1., 2014, Sinop. **Intensificação da produção animal em pastagens**: anais... Brasília, DF: Embrapa, 2014. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/114184/1/cpamt-2014-pedreira-manejo-pastagem-tropical.pdf>>. Acesso em: 9 maio 2018.

SILVA, R. M.; BANDEL, G.; FARALDO, M. I. F.; MARTINS, P. S. Biologia reprodutiva de etnovarietades de mandioca. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p. 101-107, 2001.

SILVA, R. L. N. V.; ARAÚJO, G. G. L.; SOCORRO, E. P.; OLIVEIRA, R. L.; GARCEZ NETO, A. F.; BAGALDO, A. R. Níveis de farelo de melancia forrageira em dietas para ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982009000600023&ing=en&nrm=iso&tling=pt>. Acesso em: 15 mar. 2018.

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 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.

VARGAS, S. M.; GALVINO, S. B. F.; SOUZA SOBRINHO, F.; PEREIRA, A. V.; DAVIDE, L. C.; TORRES, G. A. Caracterização meiótica de *Cratylia argentea* (Desv.) O. Kuntze (Fabaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50. Florianópolis. **Anais...** [S.l.]: Sociedade Brasileira de Genética, 2004. 1 CD-ROM.