**AVALIAÇÃO DA RECEPTIVIDADE DE ESTIGMAS DE *Manihot esculenta* spp. *flabellifolia.***

**Resumo:** Estudos sobre a receptividade do estigma são importantes para subsidiar o melhoramento genético e possibilitar novos cruzamentos em uma espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar a receptividade do estigma de *Manihot esculenta* ssp *flabelifollia*. Foram utilizados estigmas do acessso *Manihot esculenta* spp. *flabelifollia* (FLA 029V-01) mantido no Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para avaliação da receptividade do estigma foram utilizadas flores pistiladas em três estádios distintos: 1 – pré-antese; 2 – antese; e 3 – 24 horas após antese. A avaliação da receptividade do estigma foi realizada por dois métodos distintos: teste em solução peróxido de hidrogênio 3% proposto por Zeisler (1938) e germinação *in vivo* de pólen pela reação fluocromática. No teste de receptividade de estigma utilizando a solução peróxido de hidrogênio 3% houve o borbulhamento na cavidade estigmática indicando a atividade da peroxidase em todos os 40 estigmas dos três estádios fisiológico da flor. Houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey no método de germinação *in vivo.* Sendo que a maior viabilidade dos grãos de pólen foi observada nos estigmas na antese (90,5%), enquanto que a menor foi observada na pré-antese (67,25%). Os estigmas após 24 horas da antese apresentaram alta receptividade com 70,75% de grãos de pólen com tubos polínicos desenvolvidos. A avaliação dos métodos utilizados neste trabalho mostrou que a receptividade do estigma de *Manihot flabelifollia* é elevada, perdurando por pelo menos 48 horas.

**Palavras-chave:** polinização, pré-melhoramento, mandioca.

**Introdução**

A mandioca pertence à classe das Dicotiledôneas, ordem Euphorbiales, família Euphorbiaceae e ao gênero *Manihot*. Três subespécies da mandioca são conhecidas, *Manihot esculenta* Crantz ssp*. esculenta*, *Manihot esculenta* Crantz ssp*. flabellifolia* (Pohl)e *Manihot esculenta* Crantz ssp*. peruviana* (Mueller Argoviensis)(ALLEM, 2001), sendo que a primeira é a única cultivada comercialmente (FUKUDA, 2002). A utilização de subespécies silvestres de *Manihot esculenta* com a finalidade de incorporar alelos de interesse em variedades de mandioca cultivada é uma forma de reduzir o estreitamento da base genética resultante de seleções de mandioca melhoradas.

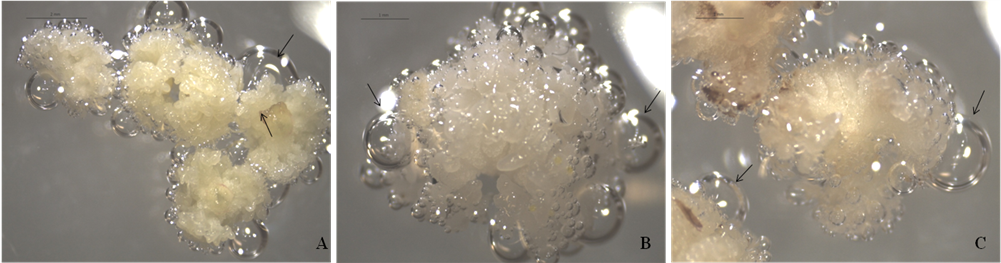
Além da viabilidade do pólen, a receptividade do estigma pode ser um fator determinante no desenvolvimento de hibridizações controladas, assegurando dessa forma maior produção de sementes possível em um cruzamento. Apesar da importância da cultura, poucos trabalhos têm sido direcionados a estudos da biologia floral da mandioca e espécies do gênero *Manihot*, caracterizando uma subutilização dos recursos genéticos existentes dentro do gênero e uma lacuna no melhoramento genético da espécie. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a receptividade do estigma de *Manihot esculenta* ssp *flabelifollia*, usada como modelo neste trabalho, por ser o potencial ancestral da mandioca.

**Material e Métodos**

Como material vegetal foram utilizados estigmas de *Manihot esculenta* spp. *flabelifollia* (FLA 029V-01), acesso mantido no Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para avaliação da receptividade do estigma foram utilizadas flores pistiladas em três estádios distintos: 1 – pré-antese; 2 – antese; e 3 – 24 horas após antese. A avaliação da receptividade do estigma foi realizada por dois métodos distintos, teste em solução de peróxido de hidrogênio 3% proposto por Zeisler (1938) e germinação *in vivo* de pólen pela reação fluocromática. No teste com peróxido de hidrogênio 3% foram utilizados 40 estigmas para cada estádio floral. Estes foram depositados em placas de petri onde foi adicionado três gotas de solução de peróxido de hidrogênio 3% e foram avaliados três minutos após. Considerou-se como estigma receptivo aqueles que apresentaram formação de bolhas de oxigênio em sua superfície. No teste por germinação *in vivo*, foram realizados cruzamentos com pólen fresco do acesso FLA 029V-01 e estigmas em diferentes estádios fisiológicos. Após 24 horas, os estigmas foram corados em anilina azul 0,01% e levados ao microscópio de fluorescência, sendo avaliados 1000 grãos de pólen em cada estádio. Foi considerado receptível aqueles estigmas em que ocorreram formação de tubo polínico. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SASAgri 2001.

**Resultados e Discussão**

No teste de receptividade de estigma utilizando a solução peróxido de hidrogênio 3% houve o borbulhamento na cavidade estigmática indicando a atividade da peroxidase sem discriminação em todos os 40 estigmas dos três estádios fisiológico da flor: pré-antese, antese e 24 horas após antese (Figura 1). Resultado semelhante foi obtido por Brito et al (2010) que observaram que todos os estigmas de manjerição em diferentes estádios (pré-antese, antese e 24 horas após a antese) estavam receptivos utilizando a solução de peróxido de hidrogênio. Já Darlan et al. (2008) observou que atividade enzimática da peroxidase em estigmas de citrus foi maior em flores abertas e que isso poderia estar correlacionado com a ocorrência de contaminações por polinização natural.



**Figura 1.** Teste de receptividade de estigma do acesso FLA 029-01 utilizando solução de peróxido de hidrogênio 3%. A – estigma na pré-antese; B – estigma na antese; e C – estigma 24 horas após antese. Seta aponta bolhas de oxigênio resultantes da reação estigma-peróxido de hidrogênio.

Houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey no método de germinação *in vivo.* Sendo que a maior viabilidade dos grãos de pólen foi observada nos estigmas na antese (90,5%), enquanto que a menor foi observada na pré-antese (67,25%). Os estigmas após 24 horas da antese apresentaram alta receptividade com 70,75% de grãos de pólen com tubos polínicos desenvolvidos (Tabela 1). Os resultados em ambos os métodos mostraram que a receptividade do estigma de *M. flabellifolia* é longa, ambrangendo estádios antes da abertura floral até pelo menos 24 horas após esse momento.

**Tabela 1.** Porcentagem de tubos polínicos desenvolvidos em estigmas em diferentes estádios fisiológicos.

|  |  |
| --- | --- |
| **Estádio** | **Tubos desenvolvidos (%)** |
| Pré-antese | 67,25 b |
| Antese | 90,5 a |
| 24 horas após a antese | 70,75 ab |

Médias seguidas pela mesma letra não difere estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Conclusão**

A avaliação dos métodos utilizados neste trabalho mostrou que a receptividade do estigma de *Manihot flabelifollia* é elevada, perdurando por pelo menos 48 horas.

**Agradecimentos**

À Capes pelo apoio financeiro oferecido à L. J. Vieira.

Ao CNPq pelo apoio financeiro oferecido à T. da S. Oliveira.

**Referências Bibliográficas**

ALLEM, A.C., 2001. The primary gene pool of cassava (**Manihot esculenta** Crantz subspecies *esculenta*, Euphorbiaceae). **Euphytica, v.**120, 127–132.

FUKUDA, W.M.G.; SILVA, S.O. Melhoramento de Mandioca no Brasil. In: **Agricultura**: Tuberosas Amiláceas Latino Americano, 2ª ed., SP. v. 2, p. 242-57, 2002.

SAS Agri. ALTHAUS, R.A., CANTERI, M.G., GIGLIOTI, E.A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott. Anais do X Encontro Anual de Iniciação Científica, Parte 1, Ponta Grossa, p.280-281, 2001.

ZEISLER, M. 1938. Über die abgrenzung der igentlichen narbenfläche mit hilf von reaktionen. **Beih. Bot Zentralbl**., v. 58a, p. 308-318.