



AValiação DA LONGEVIDADE DE GRÃOS DE PóLEN DE DE *Manihot esculenta* spp. *flabellifolia* POR TESTE COLORIMÉTRICO E FLUORESCÊNCIA.

Resumo: O conhecimento sobre a longevidade e viabilidade polínica é crucial para o melhoramento genético de uma espécie. Este trabalho teve como objetivo avaliar a longevidade do pólen de *Manihot esculenta* spp. *flabellifolia* por meio de teste colorimétrico e pelo método de reação fluorocromática. Como material vegetal foram utilizados grãos de pólen do acesso FLA 029V-01. Para avaliação da longevidade polínica foram utilizadas flores estaminadas em quatro estádios distintos: 1 – pré-antese; 2 – antese; 3 – 24 horas após antese e 4 – período superior a 24 horas da antese. Para avaliação da viabilidade polínica foram utilizados os métodos de fluorescência e colorimétrico com o uso do corante carmim acético 1%. A viabilidade nos testes colorimétricos variou de 90% no pólen em antese a 75% nos grãos após um período superior a 24 horas à antese. Já nos testes por reação fluorocromática a porcentagem de pólen viável foi de 81% para o pólen avaliado na antese e 50% no pólen na pré-antese, não ocorrendo germinação quando se utilizou de grãos de pólen 24 horas após a antese. Os resultados indicam que a perda de viabilidade em *Manihot esculenta* parece ser bem marcante 24 horas após a antese e o teste colorimétrico superestimou a viabilidade polínica não sendo recomendado para este tipo de avaliação.

Palavras-chave: polinização, viabilidade polínica, mandioca.

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é a única das 98 espécies de *Manihot* que possui importância econômica, embora três subespécies sejam conhecidas: *M. esculenta* Crantz ssp. *esculenta*, *M. esculenta* Crantz ssp. *flabellifolia* (Pohl) e *M. esculenta* Crantz ssp. *peruviana* (Mueller Argoviensis) (ALLEM, 2001). As sub-espécies *Manihot esculenta* Crantz se constituem em uma fonte de genes que podem ser usados para a obtenção de novas variedades. A viabilidade do pólen é um fator crucial para o desenvolvimento de hibridizações controladas, assegurando dessa forma a 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 realizar um estudo sobre a longevidade do pólen de mandioca usando a *Manihot esculenta* spp. *flabellifolia* como modelo, já que é considerada a potencial ancestral para *Manihot esculenta* Crantz.

Material e Métodos

Como material vegetal foram utilizados grãos de pólen do acesso FLA 029V-01 da espécie *Manihot esculenta* spp. *flabellifolia*, mantido no Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para avaliação da longevidade polínica foram utilizadas flores estaminadas e pistiladas em quatro estádios distintos: 1 – pré-antese; 2 – antese; 3 – 24 horas após antese e 4 – período superior a 24 horas após antese. Para avaliação da viabilidade polínica pelo teste colorimétrico o pólen foi aspergido sobre lâminas de vidro onde foi acrescentado 3 gotas do corante carmim acético 1%. Após cinco minutos as lâminas foram levadas ao microscópio óptico para avaliação. Foram contabilizados 200 grãos de pólen/lâmina/genótipo com cinco repetições cada, perfazendo um total de 1000 grãos de pólen. Considerou-se como grão de pólen viável, todo aquele que apresentasse as seguintes características: corados, formato circular de tamanho grande ou médio e uniforme. Para avaliação da viabilidade polínica pelo método de reação fluorocromática (Fluorochromatic Reaction - FCR) foram realizados cruzamentos em campo e após 24 horas foi contado o número de grãos de pólen aderidos ao estigma e o número de grãos que apresentaram desenvolvimento do tubo polínico. A viabilidade do pólen foi estimada pela diferença do número total de grãos de pólen pelo número daqueles que apresentaram desenvolvimento do tubo polínico.

Resultados e Discussão

A viabilidade nos testes colorimétricos foi superior em todos os estádios fisiológicos em comparação com o método FHC, variando de 90% no pólen em antese a 75% nos grãos analisados no período superior a 24 horas à antese. Já nos testes por reação fluorocromática 81% do pólen na antese mostrou-se viável, tendo baixado para 50% na pré-antese e nenhum registro de germinação quando se utilizou grãos de pólen 24 horas após a antese (Tabela 1 e Figura 1). Esses resultados não diferem de Vieira et al. (2011) que ao avaliar a longevidade do pólen de acessos de *Manihot esculenta* Crantz observou que a maior porcentagem de pólen viável foi registrada em cruzamentos em que foram utilizados grãos de pólen na antese, enquanto a medida que aumentou o tempo de

armazenamento registrou-se um comprometimento da viabilidade, e conseqüentemente dos cruzamentos realizados, mostrando que após uma hora de armazenamento do pólen fresco em temperatura ambiente houve um declínio de 20% da viabilidade e após 24 horas registrou-se uma perda total de viabilidade polínica.

Tabela 1. Viabilidade polínica (%) do acesso FLA 029V-01 de *M. esculenta* spp. *flabellifolia* em diferentes estádios fisiológicos por teste colorimétrico e por reação fluocromatica (FCR).

Método	Pré-antese	Antese	24h após antese	>24h após antese
Colorimétrico	82	90	84	75
FCR	50	81	0	0

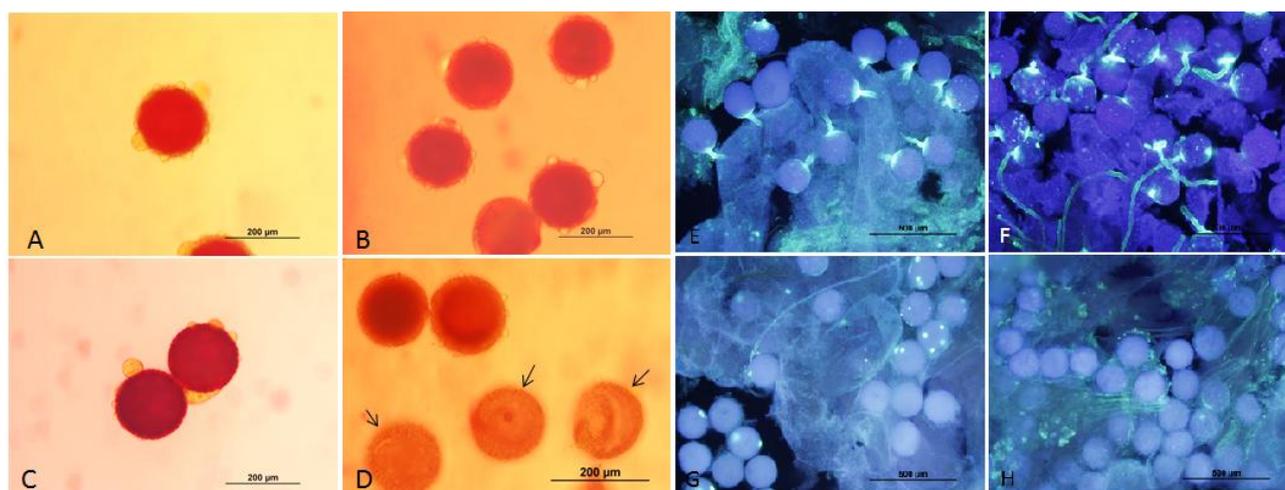


Figura 1. Avaliação da viabilidade de pólen de *M. esculenta* spp. *flabellifolia*. Teste com o corante carmim acético: A – pólen na pré-antese; B – pólen na antese; C – polén 24 horas após antese e D – pólen após um período superior a 24 horas da antese, setas apontam grãos inviáveis. Teste por reação fluocromática: E – pólen na pre-antese; F – pólen na antese; G – polén 24 horas após antese e H – pólen após um período superior a 24 horas da antese

Leyton (1993) em estudo de viabilidade do grão de pólen de mandioca após 24 horas e 48 horas obteve a viabilidade de 54% e 0,9%, respectivamente. As diferenças observadas entre os dois trabalhos podem ser devidas, principalmente aos métodos utilizados, considerando também as diferenças entre genótipos além de fatores ambientais como temperatura e clima. De qualquer forma a perda de viabilidade em *Manihot esculenta* parece ser bem marcante 24 horas após a antese.



Conclusão

A viabilidade do pólen de *M. esculenta* spp. *flabellifolia* é reduzida drasticamente 24 horas após a antese. O método de reação fluocromática é mais eficiente na avaliação da viabilidade polínica em comparação com o método colorimétrico, visto que o corante superestima a viabilidade do pólen em todos os estádios fisiológicos.

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa concedida à estudante L. de J. Vieira.

Ao CNPq pela bolsa concedida à estudante T. da S. Oliveira.

Referências Bibliográficas

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

LEYTON, M. **Crioconservacion de polen de yuca**. 1993. (Monografia). Universidade. do Valle, Faculdade de Ciencias, Departamento de Biologia, Cali, 1993.

VIEIRA, L. J.; SANTANA, J. R. F.; SILVEIRA, T. C.; ALVES, A. A. C.; SOUZA, F. V. D. **Conservação e longevidade de pólen de acessos de *Manihot esculenta***. In: XIV Congresso de mandioca, Maceió. 2011.