

## VIABILIDADE DE PÓLEN EM MANDIOCA SILVESTRE\*

Taliane Leila SOARES<sup>1</sup>, Lívia de Jesus VIEIRA<sup>1</sup>, Fernanda Vidigal Duarte SOUZA<sup>2</sup>  
, Alfredo Augusto Cunha ALVES<sup>2</sup>

**RESUMO:** Estudos dirigidos à fertilidade dos grãos de pólen de espécies silvestres de mandioca são de grande importância para dimensionar a potencial dessas espécies para utilização em cruzamentos dirigidos visando à criação de novas cultivares. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos grãos de pólen de variedades silvestres de mandioca e estabelecer condições de cultivo para germinação de grãos de pólen *in vitro*. Para a análise de viabilidade, utilizando-se a técnica de coloração por carmim acético, os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores na antese, corados com carmim a 2% e observados ao microscópio ótico. Os meios de cultura testados não foram eficientes para promover a germinação dos grãos de pólen *in vitro*, demandando mais estudos. No entanto, utilizando-se carmim acético, a maioria dos genótipos apresentou uma percentagem de pólen viável acima de 80%, exceto as espécies *M. anomala* e *M. irwinii*, com 47,3% e 25,0% de grãos de pólen viáveis, respectivamente.

**Palavras-chave:** *Manihot esculenta* Crantz, germinação *in vitro*, carmim acético.

**SUMMARY:** POLLEN VIABILITY IN CASSAVA WILD SPECIES. Studies on pollen fertility of cassava wild species have great importance to measure the potential of these species for crosses to create new varieties. This work aimed to evaluate the pollen viability of wild species of cassava by staining with acetic carmine and to establish an adequate condition to *in vitro* pollen germination. For the analysis of viability the pollen grains were removed from the anthers in anthesis, colored with carmine 2% and observed using optical microscope. The tissue culture media tested were not efficient to promote the *in vitro* germination of pollen grains, demanding new studies. However, using acetic carmine, most genotypes showed a percentage of viable pollen over 80%, except for *M. anomala* and *M. irwinii*, with 47.3% and 25.0% of viable pollen grains, respectively.

**Keywords:** *Manihot esculenta* Crantz, *in vitro* germination, acetic carmine.

---

\* Trabalho financiado pelo Generation Challenge Programme (GCP), Embrapa e CAPES

<sup>1</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Pós-graduação, 44380-000, Cruz das Almas, BA. E-mail: talialeila@gmail.com, liviabiol@gmail.com

<sup>2</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMPF), Caixa Postal 007, 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: fernanda@cnpmf.embrapa.br, aalves@cnpmf.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

As espécies silvestres de *Manihot*, embora pouco estudadas, representam importante fonte de variabilidade genética a ser usada em programas de melhoramento. Faz-se necessário, portanto, a intensificação de trabalhos relacionados aos aspectos da biologia floral, principalmente, os que se referem aos grãos de pólen e suas propriedades.

Pesquisas recentes vêm sendo conduzidas na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical com propósito de estabelecer condições de cultivo adequadas para ensaios de viabilidade de pólen por meio de métodos de germinação *in vitro* e uso de corante para identificar gametas masculinos com alto potencial de fertilidade e utilizá-los em futuros cruzamentos. Para determinação de viabilidade de pólen utilizam-se várias técnicas, entre elas a de coloração ou de germinação *in vitro*. Na técnica de coloração são usados diversos corantes, dentre os mais utilizados está o carmim acético (Mendes, 1994) cuja vantagem reside na praticidade e eficiência comprovada em várias espécies, necessitando, porém, a depender da espécie, de ajustes de protocolos. Por outro lado, o método *in vitro* é o mais apropriado e utilizado para testes de viabilidade de pólen. Em mandioca, os estudos realizados até o momento, não se mostraram animadores, demandando novos esforços nesse sentido.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos grãos de pólen de seis genótipos de mandioca silvestre por meio de dois métodos distintos.

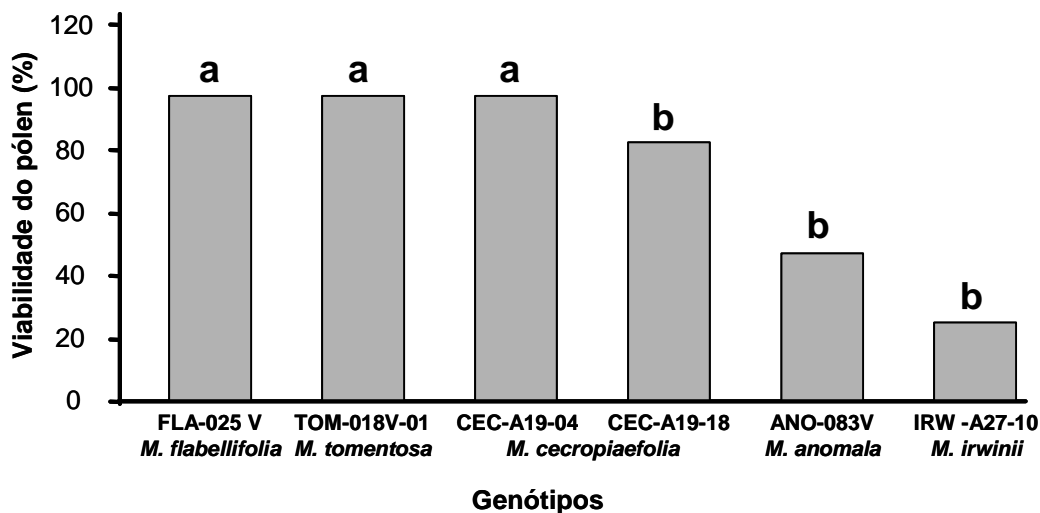
## MATERIAL E MÉTODOS

As espécies e acessos utilizados foram: *M. flabellifolia* (FLA-025V), *M. tomentosa* (TOM-018V-01), *M. irwinii* (IRW-A27-10), *M. anomala* (ANO-083V) e *M. cecropiaefolia* (CEC-A19-04 e CEC-A19-18), provenientes da coleção de espécies silvestres da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Os grãos de pólen, sem qualquer processo de desinfestação, foram coletados de flores em antese e inoculados em placas de Petri em dois meios de cultura: 1) meio ajustado por Soares et al. (2008) e 2) meio de Brewbaker & Kwack (1963). As placas foram subdivididas em quadrantes, cada um representando uma repetição totalizando 8 repetições para cada meio estudado. Posteriormente, as placas de Petri contendo os grãos de pólen foram mantidas em condições controladas de temperatura de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ , no escuro, antes de realizar a contagem dos grãos de pólen germinados 24

horas após a inoculação. Para análise de viabilidade, grãos de pólen foram retirados de flores na antese, corados com carmim acético a 2% e observados ao microscópio ótico. Estimou-se o percentual de fertilidade do pólen com base no número de grãos de pólen de tamanho grande ou médio, coloridos e com formato regular, como viáveis e os que não se enquadravam nessa classificação foram considerados inviáveis. Os dados de viabilidade, expressos em percentagem, foram transformados para arc sen (.) e analisados estatisticamente. Para comparação das médias, os dados foram submetidos a análise de variância e utilizou-se o teste de agrupamento Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, através do programa SISVAR, versão 4.3 (Ferreira, 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade dos grãos de pólen das espécies estudadas pelo método de coloração por carmim acético foi superior a 80%, exceto para os acessos de *M. anomala* e *M. irwinii*, com 47,3% e 25,0% dos grãos de pólen viáveis, respectivamente (Figura 1). De acordo com Souza (2002), valores acima de 70% são considerados como alta viabilidade do pólen, de 31 a 69% como média e até 30%, baixa.

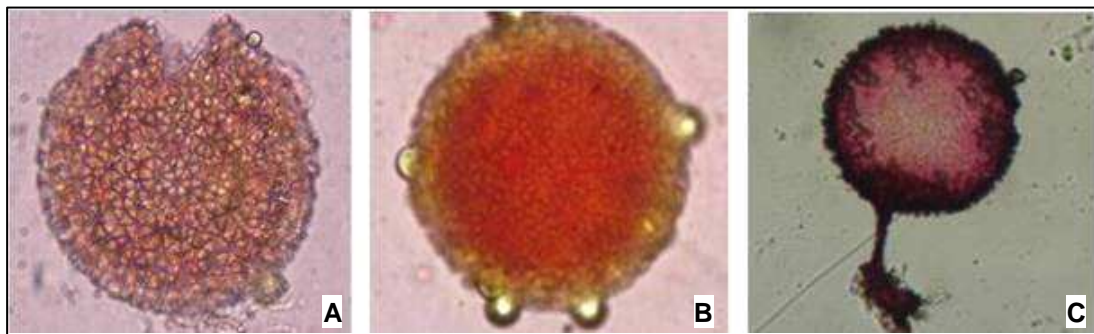


**Figura 1.** Viabilidade dos grãos de pólen mediante coloração com carmim acético em genótipos silvestres de mandioca. Médias seguidas por letras iguais fazem parte do mesmo agrupamento segundo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade

A determinação da viabilidade realizada pelo método de coloração com carmim acético em mandioca é sujeita a erro de interpretação, pois os grãos de pólen demoram para a absorção do

corante, o que, a depender do tempo esperado para a quantificação, poderá gerar resultados distintos (Silva et al., 2001). Não foi observado germinação *in vitro* para as espécies estudadas em nenhum dos meios propostos. Esse fato, provavelmente ocorreu em função do rompimento do pólen (Figura 2A) ou devido à liberação de exudatos do líquido interno (Figura 2B). O resultado encontrado no presente trabalho não diferiu do que foi obtido por Orrego e Hersley (1984) que estudando a germinação *in vitro* de pólen de mandioca, não verificaram crescimento do tubo polínico em nenhum dos meios de cultura testado.

Em cultivares de maracujazeiro o grão de pólen parece ser pegajoso, por ser recoberto por uma substância chamada *pollenkit* que, dentre outras funções, atua como protetor, minimizando a desidratação do grão de pólen e conseqüentemente a perda de viabilidade nesta espécie (Souza et al., 2002), A Figura 2C sugere a liberação de uma sustância que poderia exercer função similar e que deveria, portanto ser melhor estudada.



**Figura 2.** Grãos de pólen de mandioca no genótipo silvestre ANO 083V em diferentes aspectos. A) rompimento do grão de pólen; B) grão de pólen não germinado com estrutura da exina ou material citoplasmático; C) pólen com liberação de exudato.

## CONCLUSÃO

1. Existe variabilidade no percentual de pólen viável para os diferentes genótipos;
2. Os meios de cultura utilizados para avaliação da germinação *in vitro* de pólen de mandioca não são adequados, necessitando de ajustes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. Sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. **SISVAR Versão 4.3**. Lavras: UFLA, 2002.

MENDES, M. DA S. **Viabilidade do grão de pólen de *Solanum spp.*** Pelotas: UFPel, 1994.75f. Dissertação (Mestrado em Fitomelhoramento) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ORREGO, J.I.; HERSHEY, C.H. Almacenamiento del polen de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) por medio de liofilizacion y varios regimenes de humedad y temperatura. **Acta Agronomica**, v.34, p.21-24, 1984.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p.111-118.

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.

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.