



ESTIMATIVA DA VIABILIDADE POLÍNICA EM INDIVÍDUOS DE *Tabebuia impetiginosa* E *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex. DC.) Standl. (BIGNONIACEAE) ATRAVÉS DE MÉTODOS CITOQUÍMICOS

Maicon Douglas Arenas-de-Souza¹, Greiciele Farias da Silveira², Márcia de Souza Almeida da Silva¹, Isane Vera Karsburg³

¹Mestrandos do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos da Universidade do Estado de Mato Grosso (maicondouglas_biologia@hotmail.com)

²Mestranda do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade do Estado de Mato Grosso.

³Doutora em Genética e Melhoramento Vegetal. Professora do Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade do Estado de Mato Grosso. 78.580-000. Alta Floresta, MT – Brasil.

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

RESUMO

Os ipês pertencem ao gênero *Tabebuia* que compreende cerca de cem espécies, apresentando aspectos econômico, ornamental e medicinal. Objetivou-se neste trabalho, avaliar a viabilidade polínica em indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* e *Tabebuia chrysotricha* através de métodos citoquímicos. Foram coletados 20 botões florais de cada indivíduo, em pré-antese, fixados em solução carnoy e conservados em álcool 70%. A estimativa da viabilidade polínica foi comparada com os corantes: Orceína Acética 2%, Lugol 1% e Carmim Acético 2%. Calculou-se a percentagem de polens viáveis e posteriormente submeteu esses dados ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Entre os indivíduos de *T. impetiginosa*, quatro apresentaram viabilidade acima de 80%. No entanto, o indivíduo 2, evidenciou a menor viabilidade, com uma percentagem de 42,05 % usando o corante Orceína Acética 2%, 40,67% com o corante Lugol 1% e 35,30% no uso do corante Carmim Acético 2%. Em relação à espécie *T. chrysotricha*, os indivíduos 2, 3 e 4, apresentaram uma viabilidade superior a 80%, já o indivíduo 5, foi que o teve a menor percentagem entre todos, com 26,07% no uso de Orceína Acética 2%, 17,28% com Lugol 1% e 41,75% com Carmim Acético 2%, o que confirma que todos corantes utilizados chegaram à mesma conclusão em relação a este indivíduo. Foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os indivíduos das espécies, além disso, fatores bióticos e abióticos podem estar associados à variação na taxa de viabilidade polínica. Independente do corante utilizado, a taxa percentual de viabilidade média geral foi alta para ambas as espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Corantes, colorimétricos, Fertilidade, ipês, pólen, Testes .

ESTIMATE POLLEN VIABILITY ON INDIVIDUALS *Tabebuia impetiginosa* AND *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex. DC.) Standl. (BIGNONIACEAE) THROUGH METHODS CYTOCHEMICAL

ABSTRACT

The members of the genus *Tabebuia* comprising about one hundred species, presenting economic, ornamental and medicinal aspects. The objective of this study was to evaluate the pollen viability of individuals *Tabebuia impetiginosa* and *Tabebuia chrysotricha* by cytochemical methods. were collected 20 buds of each individual in pre-anthesis, fixed in carnoy solution and preserved in 70% alcohol. The estimation of pollen viability was compared with dyes: Orcein Acetic 2%, Lugol 1% and 2% Acetic Carmin 2%. We calculated the percentage of viable pollen and subsequently submitted these data to the Tukey test at 5% probability. Between individuals of *T. impetiginosa*, four showed viability above 80%. However, the subject 2 showed the lowest viability, with a proportion of 42,05% using Acetic Orcein 2% dye, 40,67% to Lugol 1% dye and 35,30% after Acetic Carmin dye 2%. With respect to the species *T. chrysotricha*, individuals 2, 3 and 4 had a higher viability than 80%, since the individual 5 was one that had the lowest percentage among all, with the use of 26,07% acetic Orcein 2 % to 17,28% and 41,75% Lugol 1% to Acetic Carmin 2%, which confirms that all dyes used came to the same conclusion regarding this subject. Statistically significant differences were observed between individuals of the species, in addition, biotic and abiotic factors may be associated with variation in the rate of pollen viability. Regardless of the dye used, the percentage rate of average overall viability was high for both species.

KEYWORDS: Pollen, Ipês, Dyes, Fertility, Colorimetric Tests.

INTRODUÇÃO

Os ipês pertencem ao gênero *Tabebuia* (Bignoniaceae) que compreende cerca de cem espécies, sendo que muitas são pertencentes ao Brasil (MAEDA & MATTHES, 1984). O nome popular de cada espécie está relacionado com a cor das suas flores, que podem ser brancas, amarelas, rosas ou roxas. As características de vários indivíduos do gênero *Tabebuia* tornam seu estudo de suma importância devido aos seus aspectos econômico, ornamental e medicinal (MACHADO et al., 2002).

Economicamente, a madeira dessas espécies é caracterizada por sua durabilidade, resistência e por ser moderadamente pesada, considerada apropriada para ser utilizada em construções pesadas, tanto para obras externas, quanto internas da construção civil, bem como em marcenarias e carpintarias (LORENZI, 2009; BORBA FILHO & PEREZ, 2009).

Segundo CAPPUZZO (2011), a *Tabebuia impetiginosa* é caracterizada como uma espécie semidecídua durante o inverno, com ampla distribuição, e com ocorrência, principalmente, em matas secas e de galeria (Cerrado e Caatinga).

Ambas as espécies são extremamente ornamentais, com maciças florações na ausência de suas folhas, e bastante utilizadas para a arborização e paisagismo urbano, devido ao seu pequeno porte (LORENZI, 1992).

Uns dos instrumentos importantes que são utilizados nas análises de fluxo gênico são as estimativas da viabilidade polínica, que são fundamentais para os programas de melhoramento genético vegetal (BOTTO 1997). A avaliação da viabilidade do grão de pólen é o pré-requisito para que ele possa de germinar no estigma da flor, sendo uma etapa decisiva no que se refere à fertilização da planta.

Os corantes, por sua vez, constituem um meio para a avaliação dessa viabilidade (DAFINI, 1992).

Consistiu-se nesse trabalho, avaliar a viabilidade polínica em indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* e *Tabebuia chrysotricha* através de métodos citoquímicos, usando três corantes: Orceína Acética 2%, Lugol 1% e Carmim Acético 2%, visando subsidiar estudos de manejo e conservação das espécies.

MATERIAL E METODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta - MT, no ano de 2011.

Para o estudo da viabilidade polínica, o material botânico utilizado foi proveniente de 10 indivíduos, sendo 5 de cada espécie, localizados no perímetro urbano e rural do município. Foram coletados 20 botões florais de cada indivíduo, em pré-antese, fixados em solução carnoy e conservados em álcool 70%. A estimativa da viabilidade polínica foi comparada com os corantes: Orceína Acética 2%, Lugol 1% e Carmim Acético 2%. Na avaliação com Orceína Acética 2%, foram considerados grãos de pólen viáveis, aqueles que o protoplasma havia corado intensamente, com tamanho normal e com a exina intacta. Para a solução de Lugol 1%, a coloração marrom indicava a viabilidade (DAFINI, 1992), e com o Carmim Acético 2%, os polens corados com vermelho foram considerados viáveis, e os não corados, inviáveis (KEARNS & INOUE, 1993).

Para cada corante analisou-se um total de 4.000 polens, totalizando 12.000 polens para cada indivíduo. Na avaliação, os polens foram classificados como normais/ viáveis (N/V) e anormais/ inviáveis (A/I) de acordo com a reação de coloração.

No preparo das lâminas, utilizou-se a técnica de esmagamento das anteras (GUERRA & SOUZA, 2002), onde gotejou-se uma gota do corante correspondente e cobriu-se com lamínula, em seguida, as lâminas foram vedadas com esmalte incolor e colocadas para secar em chapa aquecedora a 30°C. A visualização do material foi feita em microscópio óptico em dimensão de 40x pelo método de varredura, sendo contabilizados 400 grãos de pólen por lâmina. Com a contagem obtida em cada corante e de cada indivíduo, calculou-se a percentagem de polens viáveis e posteriormente submeteu esses dados ao teste de Tukey a 5% de probabilidade através do Programa Estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2011).

Fórmula: Viabilidade do pólen (%) = N° de grãos corados / N° de grãos contados * 100

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os corantes utilizados no trabalho foram capazes de diferenciar os polens viáveis e inviáveis pela reação de coloração, como demonstrado na Figura 1. A tabela 1 apresenta os percentuais de viabilidade do pólen para ambas as espécies estudadas.

Observaram-se diferentes resultados de viabilidade entre os indivíduos de cada espécie. Entre os cinco indivíduos de *T. impetiginosa*, quatro apresentaram viabilidade acima de 80%, não havendo diferença estatística entre eles; confirmando que o pólen possui a capacidade de desenvolver o tubo polínico e ocorrer à fertilização. No entanto, o indivíduo número 2, evidenciou a menor viabilidade, com uma percentagem mínima de 42,05% usando o corante Orceína Acética 2%, 40,67%

com o corante Lugol 1% e 35,30% no uso do corante Carmim Acético 2%, mostrando a interação entre os três corantes com relação aos valores obtidos para este indivíduo. Deve-se salientar que neste indivíduo foram encontradas diversas irregularidades na morfologia floral, desde formato, tamanho das pétalas, e estames mal formados, o que pode explicar o baixo valor encontrado.

TABELA 1. Valores médios percentuais de viabilidade do pólen entre os indivíduos de *T. impetiginosa* e *T. chrysotricha*.

Espécie	Corante		
	Orceína Acética 2%	Lugol 1%	Carmim Acético 2%
<i>T. impetiginosa</i>	% Viabilidade	% Viabilidade	% Viabilidade
Ind. 1	87,57 a	89,57 a	89,62 a
Ind. 2	42,05 b	40,67 b	35,30 b
Ind. 3	90,17 a	93,40 a	92,85 a
Ind. 4	89,17 a	90,95 a	87,92 a
Ind. 5	84,57 a	84,42 a	87,67 a
CV%	16,88	12,79	11,66
<i>T. chrysotricha</i>	% Viabilidade	% Viabilidade	% Viabilidade
Ind. 1	80,15 c	64,25 b	83,05 b
Ind. 2	91,02 ab	95,75 a	95,75 a
Ind. 3	88,17 b	93,57 a	94,87 a
Ind. 4	95,32 a	92,05 a	96,60 a
Ind. 5	26,07 d	17,28 c	41,75 c
CV%	5,56	14,54	5,03

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV%, Coeficiente de Variação.

Em relação à espécie *T. chrysotricha*, os indivíduos de número 2, 3 e 4, apresentaram uma viabilidade superior a 80%, entretanto o indivíduo 1, mostrou-se com um valor menor, 64,25%, com o uso de Lugol 1%. Já o indivíduo número 5, foi que o teve a menor percentagem de viabilidade polínica entre todos, com 26,07% no uso de Orceína Acética 2%, 17,28% com Lugol 1% e 41,75% com Carmim Acético 2%, o que confirma que os três corantes utilizados chegaram à mesma conclusão em relação a este indivíduo (Tabela 1).

Algumas considerações podem ser levadas sobre isto. Durante as análises citológicas, foram observados grãos de pólen com tamanho maior que o normal, além de diversos polens com parede retraída. Segundo ZANOTTO (2009) e FERREIRA (2009), grãos de pólen que apresentam citoplasma retraído, podem apresentar falhas no comportamento meiótico. Há outros fatores que também podem interferir na viabilidade, como condições de temperatura, umidade, longevidade da flor, e, segundo COSTA et al., 2009, horário de coleta.

De acordo com SOUZA (2002), valores de viabilidade polínica acima de 70% são considerados como alta viabilidade polínica, os entre 31 a 69% como média; e baixa, com uma percentagem de até 30%. Através desta afirmação, e de acordo com os resultados obtidos, o indivíduo 5 de *T. chrysotricha* apresentou uma viabilidade entre as classificações baixa a média.

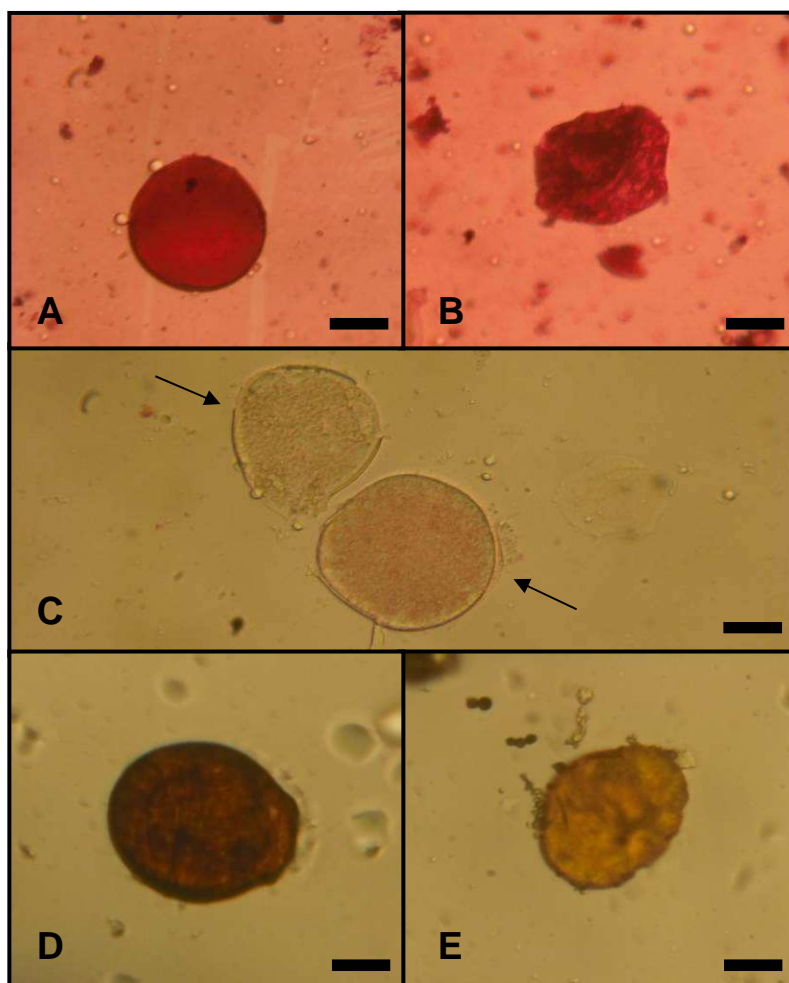


FIGURA 1. Reação de coloração nos polens. A e B) Pólen viável e inviável, respectivamente (Orceína Acética 2%). C) Flecha superior: pólen inviável; flecha inferior: pólen viável (Carmim Acético 2%). D e E) Pólen viável e inviável, respectivamente (Lugol 1%). Barra= 30 µm.

FONTE: ARENAS, 2011.

De acordo com a Tabela 2, os resultados demonstraram que os polens das espécies *T. impetiginosa* e *T. chrysotricha*, resultaram em uma percentagem média geral superior a 70%, o que representa uma alta viabilidade polínica, segundo

SOUZA et al. (2002). CABRAL et al. (2013), avaliando botões florais de sete acessos de *Theobroma cacao*, compararam o uso de Carmim Acético e Lugol e obtiveram resultados acima de 95% de viabilidade, o que também é considerada alta.

TABELA 2. Valores médios percentuais de viabilidade do pólen entre os corantes.

Espécie	Corante			CV%
	Orceína Acética 2%	Lugol 1%	Carmim Acético 2%	
<i>T. impetiginosa</i>	76,61 a	81,90 a	77,97 a	31,48
<i>T. chrysotricha</i>	77,90 a	73,13 a	83,05 a	34,94

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV%, Coeficiente de Variação.

Observa-se que os resultados não demonstraram diferença estatística significativa quanto à viabilidade polínica entre os corantes testados para os indivíduos de ambas as espécies analisadas. Para a espécie *T. impetiginosa*, foi obtida uma viabilidade de 76,61% com Orceína Acética 2%, 81,90% com Lugol 1% e 77,97% com Carmim Acético 2%. Para a espécie *T. chrysotricha*, foi obtida uma viabilidade de 77,90% com o Carmim Acético, 73,13% com o Lugol 1% e 83,05% com o Lugol 1% (Tabela 2), onde todos os botões estavam em pré-antese, que segundo BRASILEIRO & AMARAL (2009), orienta-se que em programas de hibridação, o processo de polinização manual possa ser realizado na pré-antese, pois os estigmas encontram-se receptivos e os grãos de pólen, mais viáveis.

POZZOBON et al., em 2011, trabalharam com dez linhagens diferentes de pimenta, e estimou a viabilidade polínica através do uso de Carmim Acético, o que revelou uma percentagem superior a 81%, bem como NUNES et al. (2012), e TECHIO et al. (2010), ao trabalharem com *L. multiflorum*, e KIYOSHI et al. (2012) ao trabalharem com *Waseoba*.

CONCLUSÃO

Os corantes utilizados no estudo foram capazes de distinguir os polens viáveis dos inviáveis, mostrando que podem ser utilizados para estimar a viabilidade polínica das espécies. Foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os indivíduos das espécies, além disso, fatores bióticos e abióticos podem estar associados à variação na taxa de viabilidade polínica. Independente do corante utilizado, a taxa percentual de viabilidade média geral foi alta para ambas as espécies.

REFERÊNCIAS

BORBA FILHO, A. B.; PERES, S. C. J. G. A. Armazenamento de sementes de ipê-branco e ipê-roxo em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 259-269, 2009.

BOTTO, V.O. 1997. Cruzamiento interspecíficos en Eucalyptus sp. In: **Actas del XI Congreso Forestal Mundial**, Antalya, Turquía 8:1-9. Disponível em: http://www.fao.org/forestry/docrep/wfcxi/publi/v8/es/v8s_e5.htm. Acesso em: 15 de março de 2014.

BRASILEIRO, P. B.; AMARAL, C. L. F. Estimativa do sistema reprodutivo e da convergência floral de espécies do gênero *Ocimum*, com vistas ao melhoramento genético. In.: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência**. 59., 2009, Salvador. Resumos... Disponível em: <http://www.servicos.sbpcnet.org.br/sbpc/59ra/senior/livroeletronico/resumos/R6069-1.html>. Acesso em: 10 de março de 2014.

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. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2780-2788, 2013.

CAPUZZO, J. P. **Diferenças ecofisiológicas de um par congênico de formações savânicas e florestais do cerrado: *Tabebuia áurea* e *T. impetiginosa***. 2011. 49p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília, DF.

COSTA, R.S.; MORO, F.V.; OLIVEIRA, J.C. Influência do momento de coleta sobre a viabilidade de grão de pólen em maracujá-doce (*Passiflora alata curtis*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 956-961, 2009.

DAFINI, A. **Pollination ecology: a practical approach (the practical approach series)**. New York: University Press,. p. 250, 1992.

FERREIRA, D. F.. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, K.; TORRES, G.A.; CARVALHO, I.V.; DAVIDE, L.C. Abnormal meiotic behavior in three species of *Crotalaria*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, p.1641-1646, 2009.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, p. 191, 2002.

KEARNS, C.A.; INOUE, D. **Techniques for pollinations biologists**. Niwot: University Press of Colorado, 1993.

KIYOSHI, T.; ARAKAWA, A.; UCHIYAMA, K.; FUJIMORI, M.; MIZUNO, K.; CAI, H., Exceptionally high fertility observed in three F1 hybrids between *Lolium multiflorum* Lam. and *L. temulentum* L. **Japanese Society of Grassland Science**, Grassland, v. 58, n. 2, p. 66-72, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, p.368, 1992.

MACHADO, C. F. et al. Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson). **Cerne**, v.8, n.2, p.18-27, 2002.

MAEDA, J.A.; MATTHES, L.A.F. Conservação de sementes de ipê. **Bragantia**, Campinas, v.43, n.1, p.51-61, 1984.

NUNES, R. C.; BUSTAMANTE, F. O. TECHIO, V. H. MITTELMANN I A. Morphology and pollen viability of *Lolium multiflorum* lam. **Ciência e agroctecnologia** , Lavras, v. 36, n. 2, p. 180-188, 2012.

POZZOBON, M.T; SOUZA, K.R.R.; CARVALHO, I.C.C.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 212-216, 2011.

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 Agrotécnica**, Lavras, V. 26, n. 6, p.1209-1217, 2002.

ZANOTTO M.; BRAMMER S. P.; NASCIMENTO JUNIOR A.; SCAGLIUSI S.M. Viabilidade polínica como seleção assistida no programa de melhoramento genético de triticales. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 2078- 2082, 2009.