ÍNDICE MEIÓTICO E VIABILIDADE POLÍNICA DE *Apeiba tibourbou* Aubl.

Beatriz Fernanda Silva Lima¹, Fernando Herrmann², Denise Caragnato Parisotto¹,
Lívia Souza Domingos Nascimento¹, Isane Vera Karsburg³

¹Mestrandas em Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Alta Floresta-MT, Brasil. liviasdomingos@outlook.com

²Aluno especial do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Alta Floresta-MT, Brasil.

³Professora Adjunta da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Alta Floresta-MT, Brasil.

Recebido em: 14/07/2018 – Aprovado em: 28/07/2018 – Publicado em: 31/07/2018
DOI: 10.18677/Agrarian_Academy_2018a27

RESUMO

Apeiba tibourbou Aubl. (Malvaceae), conhecida popularmente como pente-de-macaco ou jangadeira é uma espécie arbórea que tem potencial como ornamental ou como espécie pioneira na recuperação de áreas degradadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade polínica de *A. tibourbou* utilizando testes colorimétricos e determinar o índice meiótico. Para isso, botões florais foram coletados em três pontos distintos e utilizados três corantes para cada uma das populações: lugol 2%, verde malaquita 1% e reativo de alexander 2%, além do corante orceína acética 2% para determinar o índice meiótico. Para viabilidade polínica com a utilização dos três corantes, os resultados demonstraram que houve diferença estatística entre populações apenas como uso do corante lugol 2%, sendo este indicado como o mais preciso para a espécie. Os corantes reativo de alexander 2% e verde malaquita 1% não se diferenciaram estatisticamente, apresentando uma média superior a 80% de viabilidade polínica. O índice meiótico (IM) entre as três populações também não apresentou diferença estatística significativa, sendo este valor superior a 90%. Uma vez que todas as populações tiveram viabilidade polínica superior a 70% e índice meiótico acima de 80%, esta espécie foi considerada apta a ser utilizada em programas de melhoramento genético, dada sua fertilidade potencial.

PALAVRAS-CHAVE: fertilidade, malvaceae, teste colorimétrico.

MEYOTIC INDEX AND POLYNICAL FEASIBILITY OF *Apeiba tibourbou* Aubl.

ABSTRACT

Apeiba tibourbou Aubl. (Malvaceae), popularly known as monkey comb or Jangadeira, is a tree species that has potential as ornamental or as a pioneer species in the recovery of degraded areas. The objective of this work was to evaluate the pollen viability of *A. tibourbou* using colorimetric tests to determine the meiotic index. For this, flower buds were collected at three different points and three dyes were used for each of the populations: Lugol 2%, malachite green 1% and alexander reactive 2%, in addition to acetic orcein dye 2% to determine the meiotic index. For pollen viability with the use of the three dyes, the results showed that there was statistical difference between populations only as use of dye 2% Lugol, which is indicated as the most accurate for the species. The reactive dyes of alexander 2% and malachite green 1% did not differ statistically, presenting an average of more than 80% of pollen viability. The meiotic index (MI) among the three populations also did not present a statistically significant difference, being this value more than 90%. Since all populations had pollen viability more than 70% and meiotic index above 80%, this species was considered suitable for use in breeding programs, given their potential fertility.

KEYWORDS: fertility, malvaceae, colorimetric test.

INTRODUÇÃO

Apeiba tibourbou Aubl. (Malvaceae), conhecida popularmente como pau-de-jangada, pente-de-macaco, embira-branca ou jangadeira, é uma espécie arbórea que atinge cerca de 10 a 15 metros de altura. É utilizada como matéria-prima na confecção de pequenas embarcações, cordas e na obtenção de pasta celulósica. Tem potencial como planta ornamental por suas flores, folhas e frutos decorativos, podendo ser incluída no paisagismo. Como planta pioneira de rápido crescimento, pode ser utilizada para o reflorestamento de áreas degradadas. Floresce de janeiro a março e a maturação dos frutos ocorre de setembro a novembro (LORENZI, 2002).

É nativa, no entanto não é endêmica do Brasil, tendo ampla distribuição geográfica nas Américas do Sul e Central. Ocorre nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do país, nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, em matas ciliares ou pluviais e em ambientes perturbados (SOUZA; ESTEVES, 2002; REFLORA, 2018).

Tendo em vista seu potencial, principalmente para paisagismo e reflorestamento, assim como no caso de outras espécies de interesse comercial, o conhecimento das características florais, como a viabilidade polínica, são de grande importância para a seleção de progenitores que possam vir a ser utilizados nas hibridizações (CHAGAS et al., 2010).

Para garantir o sucesso no uso de indivíduos superiores selecionados e, principalmente, para produção de novas cultivares por meio da recombinação de caracteres pela hibridação controlada, é importante que o pólen a ser utilizado tenha boa viabilidade (POZZOBON et al., 2011), uma vez que grãos de pólen viáveis influenciam diretamente o sucesso da fertilização (CABRAL et al., 2013). Sendo assim, testar a viabilidade dos grãos de pólen é indispensável.

Os métodos colorimétricos são muito utilizados para testar a viabilidade dos pólenes. São corantes químicos específicos que reagem com componentes celulares presentes no grão maduro. Dentre estes, pode-se destacar o lugol e o reativo de alexander (PAGLIARINI; POZZOBON, 2004).

Já a elevada instabilidade meiótica, associada às anormalidades genéticas e/ou aberrações cromossômicas, podem prejudicar a obtenção dos padrões mínimos exigidos para a produção de sementes assim como afetar a polinização, de modo que, o declínio na produção de sementes pode estar correlacionado a irregularidades meióticas (BIONE et al., 2000).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade polínica de *A. tibourbou* utilizando testes colorimétricos e determinar o índice meiótico, visando auxiliar futuros estudos e programas de manejo e melhoramento genético desta espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Botões florais em pré-antese de *A. tibourbou* foram coletados em março de 2018, em três pontos distintos no município de Alta Floresta, Mato Grosso (quadro 1).

QUADRO 1. Identificação das populações de *Apeiba tibourbou* coletas em Alta Floresta/MT e coordenadas geográficas.

População	Coordenadas	
	Latitude	Longitude
01	9°51'36,95" S	56°4'14,83" O
02	9°51'35,24" S	56°4'9,87" O
03	9°51'34,93" S	56°4'66,5" O

Foram utilizados, em média, 20 botões florais (Figura 1) fixados e acondicionados em frascos contendo ácido acético, que posteriormente foram transportados até o Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta – MT, onde as análises foram realizadas.

Fonte: Denise Caragnato

FIGURA 1. Flor de *Apeiba tibourbou* (A); Botões florais coletados em pré-antese (B); Anteras retiradas dos botões florais e utilizadas nas estimativas de viabilidade polínica (C).

Fonte: Autores (2018)

Para avaliar a viabilidade polínica foram utilizados três corantes para cada uma das populações: lugol 2%, verde malaquita 1% e reativo de alexander 2%. Os botões florais passaram por uma limpeza prévia para retirada de resíduos do ácido acético, para essa limpeza, os botões foram imersos em água destilada por 10

minutos, trocando a água em seguida e repetindo o processo por mais duas vezes, totalizando 30 minutos de lavagem. Os botões foram então cortados transversalmente com o auxílio de bisturi, as anteras retiradas e transferidas para placa de Petri, e maceradas levemente com uso de bastão de vidro para liberação dos grãos de pólen. Pequenas porções do material foram utilizadas para montar um total de 10 lâminas para cada um dos três corantes utilizados em cada uma das populações (3 Tratamentos com 10 repetições).

Para a análise das lâminas foi utilizado o método de varredura, sendo contabilizados 250 grãos de pólen por lâmina, totalizando 7.500 grãos de pólen para cada população, sendo 2.500 grãos para cada um dos três corantes utilizados. Por meio da observação em microscópio óptico com aumento de 40x, a viabilidade polínica foi estimada pela capacidade de coloração dos grãos de pólen, testando-se a eficiência dos corantes. Foram então considerados viáveis os grãos com tamanho visivelmente normal, protoplasma corado e exina intacta. Os grãos vazios ou mal formados foram considerados inviáveis.

Para estimar o índice meiótico, segundo metodologia proposta por Love (1951), foram coletados nos mesmos períodos e pontos, cerca de 20 botões florais em diferentes fases de desenvolvimento, que foram levados diretamente para o Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta – MT. Passando pelo mesmo procedimento de corte dos botões, as anteras foram retiradas, maceradas e utilizadas para montagem de mais 30 lâminas, sendo 10 de cada população. Foi utilizado o corante orceína acética a 2%, sendo contabilizados 250 produtos pós-meióticos em cada lâmina. Tétrades com quatro células de tamanho igual foram consideradas normais e as que apresentaram qualquer desvio, como número diferente de quatro (1 - mônades, 2 - díades, 3 - tríades e 5 ou + políades) ou mesmo células de tamanhos diferentes, foram consideradas anormais.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de tukey em nível de 5% de probabilidade pelo programa R, versão 3.3.2 (R CORE TEAM, 2016), com o auxílio do pacote ExpDes, versão 1.1.2 (FERREIRA et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se com a utilização do corante lugol 2% que a população 02 se diferenciou estatisticamente das demais apresentando média de 82,63% de viabilidade, enquanto as populações 01 e 03 apresentaram média inferior de 78,33% e 78,06%, respectivamente (Tabela 1). Já os corantes reativo de alexander 2% e verde malaquita 1% não apresentaram diferenças estatísticas entre as populações, no entanto, todas apresentaram viabilidade acima de 80%.

TABELA 1. Médias percentuais da viabilidade polínica em populações de *Apeiba tibourbou* pela coloração de três diferentes corantes.

População	Corantes		
	Reativo de Alexander 2%	Lugol 2%	Verde Malaquita 1%
01	82,73a	78,33b	81,96a
02	82,90a	82,63a	82,73a
03	82,83a	78,06b	82,43a
CV (%)	0,41	4,67	0,85

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem pelo teste Tukey em nível de 5% de significância.

A elevada viabilidade verificada com o uso dos corantes verde malaquita 1% e reativo de alexander 2% entre as três populações mostrou que os dados podem ter sido superestimados pelo fato de os corantes não permitirem uma distinção precisa entre os grãos viáveis e inviáveis. Assim como em estudos realizados por Lauton et al. (2016), o corante lugol 2% permitiu tal distinção, indicando que este tenha maior afinidade com os componentes dos grãos de pólen, sendo o mais preciso para estimar a viabilidade polínica desta espécie.

A viabilidade polínica entre todas as populações foi acima de 70%, verificou-se que a espécie tem potencial satisfatório para ser utilizada em programas de melhoramento (SOUZA; ESTEVES, 2002). Resultados similares foram obtidos por Damásio et al., (2016), Leite et al. (2016) e Santos et al. (2016) em trabalhos realizados com *Ipomoea carnea*, *Jacaranda copaia* e *Passiflora miniata* respectivamente, em que as populações avaliadas apresentavam alta viabilidade.

Fonte: Denise Caragnato

FIGURA 2. Grãos de pólen de *Apeiba tibourbou* com uso de diferentes corantes. Lugol 2% A) viável B) inviável; reativo de alexander 2% C) viável D) inviável; Verde Malaquita 1% E) viável F) inviável.

Assim como verificado por Macedo et al. (2016), os polens viáveis corados com lugol 2% diferiram dos inviáveis pela tonalidade mais escura (Figura 2 AB). Já os polens viáveis corados com verde malaquita 1% diferiram dos inviáveis pela melhor distinção da estrutura dos grãos de pólen (Figura 2 EF). Os grãos viáveis corados com reativo de alexander 2% apresentaram parede verde e protoplasma rosa, os inviáveis, por sua vez, adquiriram tonalidade totalmente esverdeada (Figura 2 CD).

No que diz respeito a presença de tétrades normais apontadas através dos valores do Índice Meiótico (IM), observou-se que as três populações não apresentaram diferença estatística significativa, apresentando médias superiores a 90% (Tabela 2). Estando o IM acima de 80%, notou-se que há um processo meiótico normal, o qual resulta na formação de tétrades (LOVE, 1949).

TABELA 02. Número de tétrades normais e anormais (díade e tríade), e médias de índice meiótico em populações de *Apeiba tibourbou*.

Populações	Díade	Tríade	Tétrade	Porcentagem de tétrades anormais	IM (%)
01	3	145	2352	5,92	94,08a
02	0	151	2349	6,04	93,96a
03	1	143	2356	5,76	94,24a
TOTAL	4	439	7,057		
CV (%)					1,73

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Isane Vera Kasburg

FIGURA 3. Tétrades (A), tríades (B) e díades (C) em *Apeiba tibourbou* identificadas por meio da coloração com orceína acética 2 %.

Assim como em estudos realizados por Silva et al. (2014), foram observadas além de tétrades (Figura 3 A), a presença de tríades (Figura 3 B) em todas as populações e díades (Figura 3 C) nas populações 01 e 03. Os resultados mostram portanto um alto percentual de grãos de pólen viáveis e alto percentual de tétrades normais, refletindo em processos meióticos regulares, como apontado por Corrêa et al. (2005) e verificado por Silva et al. (2014).

CONCLUSÃO

Apeiba tibourbou é uma planta arbórea com potencial econômico para uso em ornamentação e reflorestamento de áreas degradadas. Neste trabalho verificou-se que devido a alta viabilidade polínica e presença de tétrades normais, trata-se de uma planta com meiose normal e potencialmente fértil, podendo ser incluída em programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

- BIONE, N. C. P.; PAGLIARINI, M. S.; TOLEDO, J. F. F. Meiotic behavior of several Brazilian soybean varieties. **Genetics and Molecular Biology**, v.23, p.623-631, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572000000300022>. doi: 10.1590/S1415-47572000000300022.
- 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 calorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v.9, n.17 p.2780, 2013. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20BIOLOGICAS/estimativa%20da%20viabilidade.pdf>.
- CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, C. 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. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010000200002>. ISSN: 0103-8478.
- CORREA, M. G. S.; VIEGAS, J.; SILVA, J. B.; DE AVILA, P. F. V.; BUSATO, G. R. B.; LEMES, J. S., Meiose e viabilidade polínica na família Araceae. **Acta botânica Brasílica**, São Paulo, v.19, n. 2, p. 295-303, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062005000200012>. ISSN: 1677-941X.
- DAMASIO, J. F.; MELLO, V. S.; KARSBURG, I. V.; SANTOS, B. N. V.; MACEDO, W. A.; LEITE, D. M.; SANTOS, L. C. B. Uso do 2,3,5 cloreto de trifêniltetrazólio na estimativa da viabilidade polínica de algodão-bravo. **Ciência & Tecnologia**, v. 8, n.1, 2016. Disponível em: <http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/1036/pdf>.
- FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A. **ExpDes**: Experimental Designs package. R package version 1.1.2. 2013.
- LAUTON, D. S.; SANTOS, A. C.; KARSBURG, I. V.; DAMASIO, J. F. Estimativa da viabilidade polínica de jasmim manga em diferentes corantes. **Ciência & Tecnologia**, v. 8, n.1, 2016. Disponível em: <http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/999/pdf>.
- LEITE, D. M.; SANTOS, B. N. V.; SANTOS, L. C. B.; DAMASIO, J. F.; MELLO, V. S.; MACEDO, W. A.; KARSBURG, I. V. Avaliação da viabilidade polínica de pará-pará com uso de trifênil cloreto de tetrazólio. **Ciência & Tecnologia**, v. 8, n.1, 2016. Disponível em: <http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/998/pdf>.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. Ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002, 384 p.
- LOVE, R. A. Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses. **Circular n. 74**. Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1949.
- LOVE, R. M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian wheats. **Agronomy Journal**, v.43, n.42, p.72-76, 1951. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/43/2/AJ0430020072?access=0&view=pdf>.

MACEDO, W. A.; SANTOS, B. N. V.; MELLO, V. S.; DAMASIO, J. F.; SANTOS, L. C. B.; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V. Uso de testes colorimétricos na estimativa da viabilidade polínica de Alpinia. **Ciência & Tecnologia**, v. 8, n.1, 2016. Disponível em: < <http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/1047/pdf>>.

PAGLIARINI, M. S.; POZZOBON, T. Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In: curso de genética aplicado a recursos vegetais , 2. **Documentos**, Brasília: Embrapa recursos genéticos e biotecnologia-DF, p.24-41, 2004.

POZZOBON, M. T.; SOUZA, K. R. R.; CARVALHO, S. I. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.2, p.212-216, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000200013>>. ISSN: 0102-0536.

POZZOBON, M.T.; BIANCHETTI, L.B.; SANTOS, S.; CARVALHO, S.I.C.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; RIBEIRO, C.S.C. Comportamento meiótico em acessos de *Capsicum chinense* Jacq. do Banco de Germoplasma da Embrapa, Brasil. **Revista brasileira Biociência**, Porto Alegre, v. 13, n. 2, p. 96-100, abr./jun. 2015. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3239>>. ISSN: 1980-4849

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2016.

REFLORA, *Malvaceae in Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9006>>. Acesso em 21/04/2018.

SANTOS, L. C. B.; FERNANDES, L.; DAMASIO, J. F.; MELLO, V. S.; MACHADO LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V.; PRAÇA-FONTE, M. M. Uso de tetrazólio para teste de viabilidade polínica em maracujá silvestre. **Ciência & Tecnologia**, v. 8, n.1, 2016. Disponível em: < <http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/1021>>.

SILVA, D. D; MELO, V. S.; LEITE, D. M.; NASCIMENTO, L. S.; MIRANDA, D.; SILVA, A. B.; DAHMER, N.; KARSBURG, I. V. Avaliação do comportamento meiótico de *Cassia fistula* L. **Estudos vida e saúde**, v. 41, p. 35-40, 2014. Disponível em: < <http://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/view/3844/2189>>. ISSN: 1983-781X.

SOUZA, B. M.; ESTEVES, G. L. Tiliaceae. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S.; BITTRICH, V.; KAMEYAMA, C. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v. 2, São Paulo: Instituto de Botânica, p.331-342, 2002.

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. **Ciência Agrotécnica**, v. 26, n. 6, p.1209-1217, 2002. Disponível em: < <http://www.editora.ufla.br/index.php/component/phocadownload/category/50-volume-26-numero-6?download=899:vol26numero6>>.