

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 11 (6)

December 2018

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=686&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Estimativa de viabilidade e caracterização morfológica de pólen de *Datura suaveolens* Willd (Solanaceae)

Viability estimation and morphological characterization of pollen *Datura suaveolens* Willd (Solanaceae)

R. B. Bispo, L. C. B. Santos, J. F. L. Santos, I. V. Karsburg

Universidade do Estado do Mato Grosso- Campus Alta Floresta

Author for correspondence: rosielbarboza.af@hotmail.com

Resumo. A espécie *Datura suaveolens* W. pertence à família Solanaceae. É uma espécie arbustiva natural do Himalaia, encontra-se amplamente distribuída na América do Sul e Brasil. No Brasil ela é cultivada para fins medicinais e ornamentais. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização morfológica e verificar a viabilidade polínica da espécie *D. suaveolens* por meio de testes colorimétricos a fim de determinar qual é o melhor corante para espécie. Foram coletados botões florais de *Datura suaveolens* com ocorrência no município de Alta Floresta, MT. O experimento foi realizado no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta. Para a estimativa da viabilidade polínica foram avaliados três diferentes corantes: lugol, reativo de Alexander e orceína acética. Para a morfologia polínica, foram analisados quarenta grãos de polens corados com safranina 3%. Os parâmetros morfológicos analisados foram: diâmetro equatorial, diâmetro polar, tamanho e forma e abertura dos grãos de polens. As medidas de diâmetro foram aferidos com o auxílio do software ImageJ. O reativo de Alexander é o método colorimétrico mais recomendado para análise da viabilidade polínica de *Datura Suaveolens* porque revelou a maior média de polens viáveis e apresenta uma melhor distinção visual entre polens viáveis e inviáveis. A espécie *Datura Suaveolens* possui grãos de polens grandes com formato Oblato-Esférico, a abertura dos pólenes é do tipo 3-poro. A média do diâmetro polar da espécie é de 70,99 µm e do diâmetro equatorial de 67,94 µm.

Palavras-chave: corantes, palinologia, pólen, Saia-branca.

Abstract. The species *Datura suaveolens* W. belongs to the family Solanaceae. It is a natural shrub species of the Himalayas, is widely distributed in South America and Brazil. In Brazil it is cultivated for medicinal and ornamental purposes. The objective of this work was to perform the morphological characterization and verify the pollen viability of the *D. suaveolens* species by means of colorimetric tests in order to determine the best dye for the species. Flower buds of *Datura suaveolens* were collected with occurrence in the municipality of Alta Floresta, MT. The experiment was carried out at the Cytogenetic and Tissue Culture Laboratory at the State University of Mato Grosso, Alta Floresta University Campus. For the estimation of pollen viability, three different dyes were evaluated: lugol, Alexander's reactive and acetic orcein. For the pollen morphology, forty pollen grains stained with 3% safranin were analyzed. The morphological parameters analyzed were: equatorial diameter, polar diameter, size and shape and opening of the pollen grains. The diameter measurements were measured with the help of Image J software. The Alexander's reactive is the most recommended colorimetric method for the pollen viability analysis of *Datura Suaveolens* because it revealed the highest average of viable pollen and presents a better visual distinction between viable and non-viable pollen. The *Datura Suaveolens* species has large pollen grains with Oblate-Spheroidal shape, the opening of the pollen is 3-pore type. The mean polar diameter of the species is 70.99 µm and the equatorial diameter is 67.94 µm.

Keywords: dyes, palynology, pollen, white skirt.

Introdução

A espécie *Datura suaveolens* W. pertence à família botânica Solanaceae, é popularmente conhecida como Saia-Branca, erva-do-diabo, trombeteira, trombeta-de-anjo, beladona, figueira-do-inferno, aguadeira e zabumba (Oliveira,

2017). É uma espécie arbustiva naturalizada nas colinas mais baixas do Oeste e do Leste do Himalaia, encontra-se amplamente distribuída na América do Sul e Brasil (Rastogi e Mehrotra, 1993). Pode chegar até 3m de altura, seu caule é ramoso com lenticelas, possui folhas alternas,

curta-pecioladas, inteiras, ovada-oblongas, assimétricas na base, de margem inteira e levemente sinuada, com até 30cm de comprimento, a cor de suas flores variam de brancas a amarelo-creme com 30cm de comprimento, cálice tubular, pentâmero. Seus frutos são em forma de capsula, indeiscentes e fusiformes (Oliveira, 2017). No Brasil ela é cultivada para fins medicinais e ornamentais. Porém há uma carência nacional de pesquisas científicas sobre a *Datura suaveolens*, principalmente no que se refere à viabilidade e caracterização polínicas da espécie.

A análise palinológica de plantas medicinais se constitui em mecanismo eficaz para subsidiar a certificação de sua origem botânica, pois evidencia a presença de conjuntos polínicos característicos de determinadas plantas (Stanski et al, 2016). Informações sobre a viabilidade polínica são essenciais para a conservação e caracterização de germoplasma, assim como para o melhoramento genético, além disso, estudos sobre a biologia reprodutiva de espécies de plantas têm permitido a confirmação e compreensão dos resultados relatados de certos cruzamentos (Pozzobon et al, 2015). A estimativa da viabilidade polínica é importante para a análise de fluxo gênico em plantas, porque evidencia o potencial de reprodução das espécies e pode ser útil em estudos de taxonomia, ecologia, genética e palinologia (Frescura et al, 2012).

Se tratando de estudos de viabilidade um dos métodos mais utilizados é o método colorimétrico. Na literatura não há um teste de viabilidade global que utiliza um corante específico, por isso a importância de se testar vários tipos de corante a fim de encontrar o que mais adequa a cada espécie (Hister e Tedesco, 2016). Sobre *D. suaveolens*, não há nenhum tipo de estudo de viabilidade polínica com nenhum tipo de corante e muito menos estudos palinológicos sobre a espécie. Sendo assim o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização morfológica e verificar a viabilidade dos grãos de pólen da espécie *D. suaveolens* por meio de três testes colorimétrico a fim de determinar qual é o melhor corante para estimar a viabilidade polínica da espécie.

Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos e a análise das lâminas no Laboratório Didático I, ambos localizados no CETAM (Centro de Tecnologia da Amazônia Meridional) na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, situado no norte do estado de Mato Grosso, no mês de setembro de 2017.

Foram coletados botões florais em pré antese de *Datura suaveolens* localizados no perímetro urbano de Alta Floresta, MT. O material foi fixado em Carnoy: (3:1 – álcool absoluto: ácido acético) por 24 horas e logo após transferidos para álcool 70% e mantidos a 4°C, até uso posterior.

Para a estimativa da viabilidade polínica foram avaliados três diferentes corantes: Lugól, Reativo de Alexander e Orceína acética.

Os grãos de pólen viáveis se apresentam corados, exina intacta e os inviáveis, se apresentaram com tamanho anormal, protoplasma reduzido e/ou ausente (Gomes et al., 2013).

Foram confeccionadas oito lâminas por corante, sendo contabilizados, 250 grãos de pólen por lâmina, totalizando 2.000 pólenes por corante, sob microscopia óptica, com lente objetiva de 40X. As lâminas foram preparadas utilizando a técnica de esmagamento, enquanto a observação foi feita pelo método de varredura. A viabilidade polínica foi estimada por meio da percentagem de grãos de pólen viáveis obtidos pela equação: viabilidade polínica (%) = nº de grãos de polens viáveis/numero de grãos contabilizados x 100.

Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com auxílio do programa SISVAR, (Ferreira, 2011).

Foram analisados quarenta grão de polens de *Datura Suaveolens*, corados com safranina 3%. Após a confecção das lâminas as imagens foram capturadas por meio de uma câmera CCD acoplada em microscópio óptico sob objetiva de 40x.

Os parâmetros morfológicos analisados foram: diâmetro equatorial (DE), diâmetro polar (DP), tamanho e forma e abertura dos grãos de polens. A classificação dos grãos de polens quanto a sua forma foi realizada pela razão do diâmetro equatorial pelo diâmetro polar. Pólenes que apresentaram a razão entre 0,74- 0,99 foram classificados como oblato-esferoidal; razão igual a 1, esféricos e razão entre 1,01- 1,14 foram classificados de prolato-esferoidal (Erdtman, 1952). O tamanho foi classificado a partir da medição do maior eixo; foram classificados como muito pequeno (<10 µm), pequenos (10-25 µm), médios (25-50 µm), grandes (50-100 µm), muito grande (100-200 µm) e gigantes (> 200 µm) (Erdtman, 1945).

O diâmetro polar e o diâmetro equatorial foram aferidos com o auxílio do software ImageJ (Schindelin et al , 2015).

Resultados e discussão

De acordo com a caracterização morfológica realizada, em relação ao tamanho, os grãos de polens foram classificados como grandes com a média das maiores medidas de 71,52 µm. Quanto ao formato os polens foram classificados como Oblato-Esférico com média DE/DP de 0,96 µm. A classificação de diâmetro médio foi de 70,99 µm para o diâmetro polar e 67,94 para o diâmetro equatorial.

No que diz respeito a abertura dos pólenes a espécie *D. Suaveolens* foi identificada do tipo 3-poro. Porém mais estudos são necessários posto que trabalhos literários já relatam divergências nos tipos de abertura e tamanho dos pólenes dentro de

uma mesma espécie. Desta forma certas características morfológicas podem ser exclusivas para determinadas variedades, servindo assim de ferramenta para uma classificação taxonômica (Melhorança et al, 2013).

De acordo com a análise de viabilidade polínica dois dos três corantes utilizados neste estudo (reativo de Alexander e Lugol) foram eficientes na estimativa de pólenes viáveis e inviáveis da espécie *D. Suaveolens* (figura 1).



Figura 1 Grãos de pólen viáveis e inviáveis de *Datura Suaveolens*. A) Corado com Reativo de Alexander; B) Corado com Lugol; C) Corado com Orceína acética. V = viável e I = inviável. Barra =10 µm.

A coloração obtida pelo uso da Orceína acética (Figura 1C) não proporcionou uma boa distinção para a determinação da viabilidade polínica da espécie *D. Suaveolens*, pois a espécie apresenta irregularidade no tamanho dos polens. A Orceína acética foi escolhida para analisar a viabilidade polínica de *D. Suaveolens*, porque a capacidade de coloração com um determinado corante pode variar entre as espécies (Hister e Tedesco, 2016). Para esta espécie, a orceína acética não foi eficiente para avaliar a viabilidade polínica. Em estudos com *Polygala paniculata* L. Frescura et al.(2012) também não considerou a orceína acética como um bom corante, pois a mesma superestimou a viabilidade polínica da espécie devido a dificuldade de distinção entre polens viáveis e inviáveis.

A coloração do Lugol (Figura 1B) baseia-se na reação química entre o iodo e a molécula de amido, presente no grão de pólen, assim polens viáveis apresenta coloração marrom e os inviáveis apresentam coloração amarela clara ou transparente devido à ausência de amido (Pagliarini e Pozzobon, 2004). Portanto os grãos de polens de *D. Suaveolens* possui amido como substância de reserva.

A solução de Alexander permite a distinção entre polens viáveis e inviáveis, devido a utilização conjunta do verde malaquita e da fucsina ácida, corando de verde a parede celular enquanto o protoplasma é corado de púrpura pela fucsina ácida (Figura 1A). Dessa forma é possível observar grãos de pólen inviáveis devido à ausência do núcleo (Alexander, 1980). Este foi o corante que proporcionou melhor distinção visual entre grãos de polens viáveis e inviáveis de *D. Suaveolens*.

O percentual da média de viabilidade polínicos entre os três corantes avaliados apresentou diferença estatística a 5% de probabilidade conforme pode-se observar na tabela 1.

Tabela 1. Média de viabilidade dos corantes avaliados.

Corantes	Médias
Reativo de Alexander	89,84 A
Lugol	83,36 AB
Orceína acética	71,32 B

Média seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Conforme Souza et al (2002) valores de viabilidade polínica acima de 70% são considerados alto. Todos os corantes testados proporcionaram médias acima deste valor o que evidencia que a espécie em questão possui alto índice de viabilidade polínica.

O corante reativo de Alexander revelou a maior média de polens viáveis (89,84%) (tabela 1). Sendo, portanto o método colorimétrico mais eficiente para a estimativa de viabilidade de *D. Suaveolens*, dentre os corantes aqui testados.

Muitos estudos vêm comprovando a eficiência desse corante na estimativa de viabilidade polínica em diversas espécies. Moreno et al. (2015), usando Carmim acético e reativo de Alexander em *Passiflora edulis*, observaram que o reativo de Alexander apresentou maiores médias de pólenes viáveis. Hister e Tedesco (2016), utilizando orceína acética e reativo de Alexander com *Psidium cattleianum* Sabine, concluíram que o reativo de Alexander foi o método mais eficaz para estimar a viabilidade dos grãos de pólen. Assim como Nunes et al. (2012) trabalhando com *Lolium multiflorum* Lam e Frescura et al (2012) em estudos com *Polygala paniculata* L. Já Schmitt et al (2015) trabalhando com *Bixa orellana* L. obteve resultados satisfatórios para todos os corantes utilizados (Carmim acético, Lugol e Reativo de Alexander), o que evidencia a importância de se realizar testes colorimétricos com diferentes corantes na estimativa de viabilidade das espécies.

Conclusões

O reativo de Alexander é o método colorimétrico mais recomendado para análise de viabilidade polínica de *Datura Suaveolens* porque revelou a maior média de polens viáveis e apresenta uma melhor distinção visual entre polens viáveis e inviáveis.

A espécie *Datura Suaveolens* possui grãos de polens grandes com formato Oblato-Esférico, a abertura dos pólenes é do tipo 3-poro.

A média do diâmetro polar da espécie é de 70,99 µm e do diâmetro equatorial de 67,94 µm.

Referências

ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen from fungi, yeast and bacteria. *Stain Technol* 13-18, 1980.

ERDTMAN, G. Pollen morphology and plant taxonomy. III. *morina* L. with an addition on pollen morphological terminology. 527p. 1945.

ERDTMAN, G. Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms. 541p, 1952.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. 1039-1042, 2011.

FRESCURA, V. D., LAUGHINGHOUSE IV, H. D., CANTODOROW, T. S., TEDESCO, S. B. Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. *Biocell*, 143-145, 2012.

GOMES, A. D., ROSSI, A. A. B., DARDENGO, J., SILVA, B., SILVA, I. Razão sexual e viabilidade polínica de *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae). *Enciclopédia Biosfera* 2864-2870, 2013.

HISTER, C.A.L., TEDESCO, S.B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. *Rev. Bras. Pl. Med*, 135-141, 2016.

MELHORANÇA, E., SIMINSKI, T., KRAUSE, W; FERNANDES, A. Palinologia de seis cultivares de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degner (Passifloraceae). *Evolução e Conservação da Biodiversidade*, 59-62, 2013.

OLIVEIRA, R.B. Saia- Branca. 2017. <http://www.geocities.ws/plantastoxicass/asia-branca.html>.

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; 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. *R. bras. Bioci* 96-100, 2015.

SCHIMITT, K. F. M., PAULA, R. P., MORENO, E. C; TIAGO, A. V., ROSSI, A. A. B. Uso de testes colorimétricos na avaliação da viabilidade polínica do urucum (*Bixa orellana* L.). *Enciclopédia Biosfera*. 2790-2797, 2015.

STANSKI, C., NOGUEIRA, M. K. F. S., LUZ, C. F.P. Palinologia de espécies de Asteraceae de utilidade medicinal para a região dos Campos Gerais, Ponta Grossa, PR, Brasil. *Hoehnea*. 349-360, 2016.

SOUZA, M.M., PEREIRA, T.N.S., MARTINS, E.R. Microsporogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener). *Ciência e Agrotecnologia*, 1209-1217, 2002.

RASTOGI, R.P e MEHROTRA, B.N. *Compendium of Medicinal Plants*. 1993.

MORENO, E.C., TIAGO, A.V., ROSSI, F.S., ROSSI, A.A.B. Biologia floral, morfometria e viabilidade polínica do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener). *Biosfera* 2094- 2104, 2015.

NUNES, R.C., BUSTAMANTE, F.O., TECHIO, V.H; MITTELMANN, A. Morphology and Pollen Viability of *Lolium multiflorum* Lam. *Ciênc. agrotec.*, Lavras 180 -188, 2012.

SCHINDELIN, J., RUEDEN, C. T., HINER, M.C; ELICEIRI, K. W. The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction & Development* 518-529, 2015.