

RAZÃO SEXUAL E VIABILIDADE POLÍNICA DE *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae)

André Delgado Gomes¹, Ana Aparecida Bandini Rossi², Juliana de Freitas Encinas Dardengo³, Bruna Mezzalira da Silva⁴, Ivone Vieira Silva⁵

1. Biólogo pela Universidade do Estado de Mato Grosso (anabanrossi@gmail.com)
2. Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas. Professora do Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade do Estado de Mato Grosso.
3. Mestranda do Programa de Pós em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos da Universidade do Estado de Mato grosso.
4. Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso.
5. Doutora em Biologia Vegetal. Professora do Laboratório de Anatomia Vegetal. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade do Estado de Mato Grosso. 78.580-000. Alta Floresta, MT – Brasil.

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

O buritizeiro é uma planta nativa do Brasil de grande importância social e ambiental. Este trabalho objetivou determinar a estrutura sexual (distribuição de gênero) e a viabilidade polínica da espécie *Mauritia Flexuosa* em uma área da Amazônia Meridional no município de Alta Floresta, MT. Foram analisadas duas populações em fragmentos urbanos. Foram coletados botões florais em pré-antese e fixados em etanol-ácido acético (3:1), a estimativa da viabilidade polínica foi realizada através de coloração em solução de lugol e reativo de Alexander. A razão sexual foi determinada por meio das fenofases de floração e frutificação. As diferenças na razão sexual em relação ao esperado de 1:1, foi determinada pelo teste Qui-quadrado. A razão sexual total no levantamento foi de 1,36 indivíduos fêmeas para cada indivíduo macho O valor total médio de viabilidade encontrado neste estudo foi de 97,30 % para o lugol e 96,37 % para o reativo de Alexander.

PALAVRAS-CHAVE: Buriti; pólen; morfos sexuais.

SEX RATIO AND POLLEN VIABILITY OF *M. FLEXUOSA* L. (ARECACEAE)

ABSTRACT

The Buritizeiro is a plant native to Brazil of great social and environmental importance. This study aimed to determine the sex structure (gender distribution) and pollen viability of *Mauritia flexuosa* in an area of Southern Amazon in the municipality of Alta Floresta, MT. Flower buds were collected in pre-anthesis and fixed in ethanol-acetic acid (3:1), the estimation of pollen viability was done by staining in Lugol and Alexander reactive solutions. The sex ratio was determined by the phenophase of flowering and fruiting. The difference in the sex ratio in relation to the expected of 1:1 was determined by chi-square test. The overall sex ratio in the survey conducted was 1.36 individuals females for each male individual. The total average pollen viability in this study was 97,30%. for lugol and 96,37% for the Alexander reactive.

KEYWORDS: Buriti; pollen; sexual morphs.

INTRODUÇÃO

Mauritia flexuosa L. é uma palmeira nativa do Brasil, encontrada em vários estados tanto no Cerrado quanto na Amazônia, de grande efeito paisagístico, com diversos usos e atinge entre 2,8 a 35 m de altura (CARNEIRO & CARNEIRO, 2011).

O buritizeiro é muito importante, pois dele tudo se aproveita, desde as folhas (ou palhas) até a raiz, por isso é chamado de árvore da vida. Do buriti pode-se fazer uma série de utensílios como cestos, bolsas, esteiras e vassouras com o uso das folhas trançadas; cordas, fios para costura e rendas com a seda retirada das folhas novas; móveis e brinquedos dos talos das folhas; doces, sucos e óleo a partir dos frutos; artesanato com as sementes; cercas e paredes podem ser construídas com o uso dos caules; e remédios caseiros podem ser feitos com as raízes (FERNANDES, 2011).

Entre os produtos feitos a partir do buritizeiro, estão principalmente o doce, o óleo, a massa e o artesanato, que são feitos por produtores rurais de diversas regiões da Amazônia. Algumas famílias conseguem produzir e comercializar até 2.000 kg de massa de buriti, o que gera uma renda de aproximadamente R\$ 10.000 durante o período de uma safra (quatro ou cinco meses) (BARBOSA et al., 2010).

O buritizeiro é uma planta dioica, assim para que haja a produção de frutos, é necessária a existência de ambos na área, pois enquanto os machos produzem cachos que só dão flores, as fêmeas produzem os cachos com flores que se tornarão frutos (SILVA, 2009).

A floração do macho e da fêmea de buriti ocorre ao mesmo tempo, as flores das fêmeas precisam ser fecundadas pelo pólen produzido nas flores dos machos, assim a viabilidade do pólen é um dos fatores que têm influência direta no sucesso da fertilização e na produção de sementes (SAMPALIO et al., 2008).

Diante da importância social e ambiental do buritizeiro, este trabalho teve por objetivo determinar a estrutura sexual (distribuição de gênero) e a viabilidade polínica da espécie dióica *Mauritia Flexuosa* L. (Arecaceae), comparando a eficiência de três corantes: Reativo de Alexander, Lugol e Carmim acético, em uma área da Amazônia Meridional no município de Alta Floresta, MT, visando auxiliar futuros estudos de conservação e manejo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em dois fragmentos de floresta Amazônica no perímetro urbano do município de Alta Floresta, MT. Cada fragmento se constituiu em uma população de estudo de *Mauritia flexuosa*. Sendo a população I “Pantanal Pesque e Pague” (PPP), e a população II “Área particular” (APT).

A razão sexual foi determinada pela avaliação dos indivíduos floridos ou com frutos encontrados nos transectos por toda a área de estudo. Por meio da presença das fenofases (floração e/ou frutificação) os espécimes analisados foram caracterizados como femininos e masculinos (Figura 1) nas duas populações em estudo.

As diferenças na razão sexual em relação ao esperado de 1:1, foi determinada pelo teste Qui-quadrado (AMORIM & OLIVEIRA, 2006).

Para análise da viabilidade polínica foram coletados botões florais em pré-antese de 10 indivíduos de cada população. O material foi fixado em etanol-ácido

acético (3:1) e mantido em temperatura ambiente por 24 horas, posteriormente o material foi transferido para etanol 70% e mantido sob-refrigeração.

As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras e a estimativa da viabilidade dos polens foi realizada com base na reação de coloração em solução de lugol, reativo de Alexander (fucsina ácida+verde de malaquita) e carmim acético (JOHANSEN, 1940).

Os grãos de pólen foram classificados em normais/viáveis (corados, exina intacta, protoplasma bem corado com distribuição homogênea) e anormais/inviáveis (não corados ou com tamanho visivelmente anormal, coloração fraca, protoplasma reduzido e/ou ausente).



FIGURA 1: *Mauritia flexuosa*. A) Partes de Inflorescências masculinas e femininas. B) Flores femininas. C) Flores masculinas.

FONTE: Delgado, 2007.

Foram preparadas cinco lâminas de cada indivíduo, sendo analisados e contados 300 grãos de pólen por lâmina, em microscópio óptico com objetiva no aumento de 40X. Com os dados obtidos em cada população, calculou-se a percentagem de polens viáveis.

Viabilidade do pólen (%) = $\frac{\text{N}^\circ \text{ de grãos corados}}{\text{N}^\circ \text{ de grãos contados}} \times 100$.

Para comparar as médias de viabilidade entre os corantes utilizados, os resultados foram submetidos a uma análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0.05$). As análises foram realizadas pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número total de indivíduos analisados nas duas populações foi de 156, sendo 90 indivíduos fêmeas e 66 indivíduos machos (90:66; $X^2 = 3,68$; G.L. = 1; $P < 0,05$).

A razão sexual total no levantamento realizado foi de 1,36 indivíduos fêmeas para cada indivíduo macho. A razão sexual nas populações PPP e APT foi respectivamente de 1,37 (44:32; $X^2 = 1,9$; G.L. = 1; $P < 0,1$) e de 1,35 (46:34; $X^2 = 1,8$; G.L. = 1; $P < 0,1$), não havendo diferenças na proporção esperada de 1:1 entre os morfos sexuais nas duas populações.

Os dados obtidos estão de acordo com a expectativa de OPLER & BAWA (1978), que afirmaram que as espécies dióicas geralmente apresentam razão sexual de 1:1. Segundo estes autores existem evidências de que a produção de sementes em plantas polinizadas por animais seja maximizada se plantas masculinas e femininas aparecem em quantidades semelhantes. Apesar da hipótese de 1:1 entre os morfos sexuais não ser rejeitada nas populações analisadas, percebe-se uma tendência no aumento dos indivíduos femininos.

Os dois corantes utilizados para avaliação da viabilidade polínica em *M. flexuosa* foram capazes de distinguir os pólenes viáveis dos inviáveis e não diferiram estatisticamente entre si.

Nos pólenes considerados viáveis foi possível a distinção entre a intina e a exina, devido à reação do corante com o protoplasma celular, enquanto que nos pólenes inviáveis não ocorreu esta reação devido o protoplasma apresentar-se mal distribuído e/ou ausente (Figura 2).

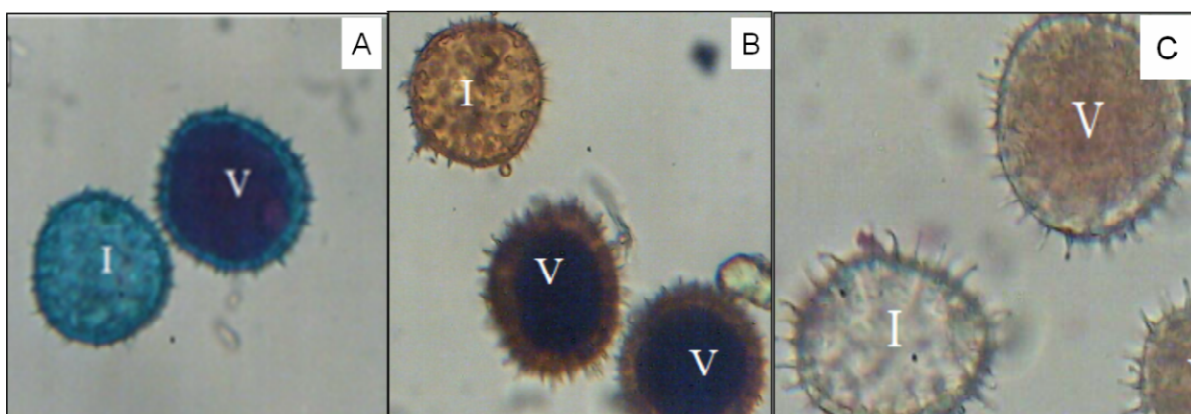


FIGURA 2: Polens viáveis e inviáveis de *M. flexuosa*. A) Reativo de Alexander; B) Lugol; C) Carmim Acético. V = Viáveis e I = Inviáveis.

FONTE: Delgado, 2007.

Os métodos colorimétricos utilizam corantes químicos específicos que reagem com componentes celulares presentes no grão de pólen maduro. Dentre estes

testes, destacam-se os testes com lugol, carmim acético e a solução tripla de Alexander (PAGLIARINI & POZZOBON, 2004).

O método de ALEXANDER (1969) utiliza uma solução tripla, composta por *orange G*, fucsina básica e verde malaquita. A fucsina básica é um corante específico para DNA, corando o citoplasma de vermelho; o verde malaquita colore de verde a parede do grão de pólen e o *orange G* é um intensificador. Através desse teste, o núcleo do grão de pólen viável reage com a fucsina e o pólen viável se cora de rosa, enquanto os grãos inviáveis coram-se de verde.

Na figura 2A pode ser observada esta reação com os polens de *M. flexuosa*, este corante também pode ser utilizado na avaliação da viabilidade polínica da espécie, pois resultou em uma porcentagem média de 96,37% (Tabela 1).

A coloração com lugol baseia-se em uma reação química que acontece entre o iodo e a molécula de amido, dando aos grãos de pólen viáveis uma coloração marrom e aos inviáveis, devido à ausência de amido, uma coloração amarela-clara e são transparentes. É indicado para espécies cujo material de reserva do grão de pólen é o amido (PAGLIARINI & POZZOBON, 2004).

Os resultados deste estudo demonstram que os pólenes de *M. flexuosa* possuem amido como reserva, uma vez que o corante lugol reagiu com o gameta masculino da espécie (Figura 2B), resultando em uma porcentagem média geral de 97,3% de viabilidade polínica (Tabela 1), sendo, portanto recomendado para uso na espécie em estudo.

No teste do carmim acético, os grãos de pólen viáveis apresentaram uma coloração rosa/vermelha forte, enquanto os grãos inviáveis mostram-se transparentes e não corados, devido à reação com o material genético existente no citoplasma, como o DNA (PAGLIARINI & POZZOBON, 2004). Reação esta que pode ser visualizada para a espécie *M. flexuosa* (Figura 2C), podendo este corante, assim como o lugol, ser utilizado na análise da viabilidade polínica da espécie, uma vez que distinguiu os polens viáveis de inviáveis pela coloração e resultou em uma porcentagem média de viabilidade de 97,03% (Tabela 1).

Os resultados apresentados na tabela 1 demonstram que não houve diferença estatística quanto a viabilidade polínica entre os corantes para ambas as populações analisadas. Para a população APT foi obtida a viabilidade polínica de 97,41 % com o Lugol e 96,84 % com o Reativo de Alexander e 97,14 % com Carmim acético, e a população PPP apresentou valor de 97,09 % para o Lugol, 95,44 % para Reativo de Alexander e 96,80% para o carmim acético.

OLIVEIRA et al. (2003), em estudo com *Astrocaryum vulgare* constataram que tanto os grãos de pólen de botões florais em pré-antese como os de flores abertas apresentaram alta viabilidade polínica, alcançando, em média, 85,5% e 89,5%, respectivamente.

Também OSTROROG & BARBOSA (2009), em estudo sobre *Geonoma brevisphata*, obtiveram taxa de viabilidade polínica para flores em pré-antese de 84,3% e de 95,9% para flores recém abertas.

Ambos os autores relacionaram essa alta viabilidade verificada, ou seja, o grande investimento na produção de pólen, como sendo uma estratégia para garantir a fecundação, este fato pode também justificar a alta viabilidade encontrada para *Mauritia flexuosa* neste estudo, já que a espécie possui fecundação cruzada.

TABELA 1: Valores médios percentuais de viabilidade do pólen por área com os corantes: Carmim Acético, Lugol e Reativo de Alexander.

População	Carmim acético	Lugol	Reativo de Alexander
	% Viabilidade	% Viabilidade	% Viabilidade
APT	97,14 A	97,41 A	96,84 A
PPP	96,80 A	97,09 A	95,44 A
Média	97,03 A	97,30 A	96,37 A

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

CONCLUSÕES

As duas populações naturais de *M. flexuosa* apresentam equilíbrio entre os morfos sexuais. A alta viabilidade polínica do buriti pode estar associada ao tipo de reprodução da espécie como forma de garantir um maior sucesso na reprodução e aumento na variabilidade genética por meio do fluxo gênico. Os três corantes testados (Reativo de Alexander, Lugol e Carmim Acético) podem ser utilizados para verificação da viabilidade polínica em *Mauritia Flexuosa*.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M.P. Differential staining of aborted and noaborted pollen. **Stain Tech.** n.1, v.44, p.117-122. 1969.
- AMORIM, F. W.; OLIVEIRA, P. E. Estrutura sexual e ecologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* Aubl. (Rubiaceae), uma espécie dióica de formações florestais de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29(3), p. 353-362. 2006.
- BARBOSA, R. I.; LIMA, A. D.; JÚNIOR, M. M. Biometria de frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.f - Arecaceae): produção de polpa e óleo em uma área de savana em Rondônia. Amazônia: **Ciência e Desenvolvimento**, v. 5(10), p. 71-85. 2010.
- CARNEIRO, T. B.; CARNEIRO, J. G. M. Frutos e polpa desidratada Buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde**, v.6, n.2, p. 105 – 111. 2011.
- FERNANDES, M. R. "A tree with much authority": the place of the buriti palm (*Mauritia flexuosa* L.f.) in the sertaneja culture of Terra Ronca, Goiás State, central Brasil. **Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability**, v. 5, p. 89-91. 2011.
- FERREIRA, D. F.. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: Mc Graw Hill Book, 1940. 123p.
- OLIVEIRA, M. S. P.; COUTURIER, G.; BESERRA, P. Biologia da polinização da palmeira tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) em Belém, Pará, Brasil. **Acta botânica brasileira**, v.17(3), p. 343-353. 2003.

OPLER, P. A.; BAWA, K. S. Sex ratios in tropical forest trees. **Evolution**, v. 32, p. 812-821. 1978.

OSTROROG, D. R. V.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Geonoma brevispatha* Barb. Rodr. (Arecaceae) em mata de galeria inundável em Uberlândia, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v..32, p.479-488, 2009.

PAGLIARINI, M. S., POZZOBON, M. T. (2004) **II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – DF.

SAMPAIO, M. B.; SCHMIDT, I. B.; FIGUEIREDO, I. B. Harvesting effects and population ecology of the buriti palm (*Mauritia flexuosa* L. f.; Arecaceae) in the Jalapão region, central Brazil. **Economic Botany**, v. 62, p. 171-181. 2008.

SILVA, P. A. 2009. ***Orthopsittaca manilata* (Boddaert, 1783) (Aves: Psittacidae): abundância e atividade alimentar em relação à frutificação de *Mauritia flexuosa* L.f (Arecaceae) numa vereda no Triângulo Mineiro**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.