

CITOQUÍMICA E VIABILIDADE POLÍNICA DE ETNOVARIEDADES DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

Mariéllen Schmith Wolf^{1*}, Larissa Lemes dos Santos¹, Eliane Cristina Moreno de Pedri², Auana Vicente Tiago³, Ana Aparecida Bandini Rossi⁴

¹Graduandas em Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Alta Floresta-MT, Brasil.

*E-mail: mariellen.wolf.5@gmail.com

²Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Alta Floresta-MT, Brasil.

³Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-Bionorte), Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Alta Floresta-MT, Brasil.

⁴Professora Doutora da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Alta Floresta-MT, Brasil.

Recebido em: 15/05/2020 – Aprovado em: 15/06/2020 – Publicado em: 30/06/2020
DOI: 10.18677/EnciBio_2020B17

RESUMO

O conhecimento das substâncias de reserva contidas nos grãos de pólen, bem como o potencial do gameta masculino em fecundar e fertilizar o gameta feminino, são fundamentais para a compreensão da biologia reprodutiva de espécies vegetais. Diante disso, objetivou-se neste estudo estimar a citoquímica e a viabilidade polínica de 14 etnovariedades de mandioca, cultivadas no estado de Mato Grosso, por meio de testes colorimétricos. Para tanto, botões florais masculinos, em pré-antese, foram coletados e confeccionadas lâminas que, posteriormente, foram observadas em microscópio óptico, pelo método de varredura, sendo contabilizados 250 polens por lâmina, totalizando 2000 grãos de polens por etnovariedade para cada corante. Foram utilizados os corantes reativo de Alexander e carmim acético 2%, para a viabilidade polínica, e os corantes lugol 2% e sudan IV, para a citoquímica. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, com auxílio do programa Genes. Os corantes utilizados no estudo foram eficazes em distinguir os grãos de polens viáveis dos inviáveis, assim como em detectar as substâncias de reserva presentes no grão de pólen. As etnovariedades de mandioca cultivadas em Mato Grosso exibiram, para os corantes reativo de Alexander e carmim acético, percentual médio de viabilidade polínica de 67 e 53%, respectivamente, e como substância de reserva apresentaram amido e lipídios.

PALAVRAS-CHAVE: aspectos reprodutivos, grão de pólen, testes colorimétricos.

CYTOCHEMISTRY AND POLYNIC VIABILITY OF CASSAVA ETHNOVARIETIES (*Manihot esculenta* Crantz)

ABSTRACT

Knowledge of the reserve substances contained in pollen grains and about male gamete potential to fecundate and fertilize female gamete are fundamental for understanding plant species reproductive biology. Based on that this study aimed to estimate cytochemistry and pollen viability of 14 cassava ethnovarieties grown in the state of Mato Grosso through colorimetric tests. Therefore male flower buds in pre-anthesis were collected and made slides that posteriorly were observed under an optical microscope by scanning method with 250 pollens per slide counted totaling 2,000 pollen grains by ethnovariety for each dye. Reactive Alexander and acetic carmine 2% dyes were used for pollen viability and lugol 2% and sudan IV dyes for cytochemistry. Data were submitted to variance analysis and means compared by Scott-Knott test at 5% probability using Genes program. The dyes used in this study were effective in distinguishing viable from unviable pollen grains as well as detecting reserve substances present in pollen grain. Cassava ethnovarieties cultivated in Mato Grosso exhibited for Alexander reactive and acetic carmine dyes average pollen viability percentage of 67 and 53%, respectively, and as showing starch and lipids as reserve substances.

KEYWORDS: reproductive aspects, pollen grain, colorimetric tests.

INTRODUÇÃO

Manihot esculenta Crantz, conhecida popularmente como mandioca, é um arbusto pertencente à família Euphorbiaceae que se destaca por ser a única espécie do gênero *Manihot* com importância comercial (VIEIRA et al., 2011). Suas raízes são fonte de amido e por isso são utilizadas na alimentação humana, animal e em agroindústrias de processamento na fabricação de distintos alimentos, que fornecem energia para milhões de pessoas ao redor do mundo (GONÇALVES et al., 2019; FRANCO et al., 2020).

A mandioca se destaca na agricultura brasileira por apresentar fácil manuseio, adaptação a condições edafoclimáticas e alta produtividade de raízes tuberosas. Por ser cultivada em várias regiões, atua como fonte de geração de renda para muitos produtores, que cultivam e conservam em suas roças distintas etnovarietades, garantindo a espécie ampla variabilidade genética, que, posteriormente, auxiliam nos programas de melhoramento, potencializando características de maior interesse comercial (FIALHO; VIEIRA, 2013; SILVA et al., 2018a; SILVA et al., 2018b).

A mandioca é uma planta monoica, ou seja, apresenta flores femininas e masculinas dispostas em uma mesma planta, geralmente em uma mesma inflorescência. Suas flores são polinizadas por pequenos insetos, como abelhas e vespas, que são atraídas pelo aroma das flores, pólen e néctar (SILVA et al., 2001; PEDRI et al., 2020). Conhecer a capacidade germinativa dos grãos de pólen e a viabilidade polínica das espécies cultivadas, apresenta grande relevância para a seleção de genitores que, posteriormente, serão utilizados na formação de novas populações (ZAMBON et al., 2014), já que, segundo Borém et al. (2017), o método mais adequado no melhoramento genético de plantas é a polinização controlada.

O pólen, de várias cores e formatos, está presente nas anteras dos estames das flores, que apresenta grande valor nutricional como proteínas, carboidratos, amido, lipídios e aminoácidos (RIBEIRO; SILVA 2007; MELO; MEDEIROS, 2015). Além disso, o grão de pólen é o gameta masculino das plantas, que tem como

função fecundar os óvulos, para produzir novos indivíduos a partir das sementes geradas (BRAGA et al., 2019) e, por isso, é um dos materiais genéticos mais utilizados em pesquisas relacionadas ao melhoramento genético de espécies vegetais (ANDRICH et al., 2016; DIAMANTINO et al., 2016; GRECCO et al., 2016; SILVA et al., 2017; QUEIROZ et al., 2018; LEITE et al., 2018; SANTOS et al., 2019a; SANTOS et al., 2019b).

A estimativa da viabilidade polínica pode ser realizada por meio da técnica de coloração, utilizando distintos corantes que reagem com a estrutura do pólen, permitindo distinguir os grãos viáveis dos inviáveis, sendo interessante a utilização de mais de um corante para encontrar o que melhor se adéqua a espécie, uma vez que, não há relatos de um corante específico (HISTER; TEDESCO, 2016). Esta estimativa influencia o desempenho da produtividade de frutos e sementes, dessa forma, subsidia programas de melhoramento de plantas (JESUS et al., 2018; SANTOS et al., 2018).

A avaliação citoquímica no grão de pólen maduro demonstra, por meio dos corantes lugol e sudan IV, a presença de substâncias de reserva como amido e lipídios, respectivamente. Essa análise é de fundamental importância para o conhecimento de aspectos ecológicos, relacionados a polinização (PAGLIARINI; POZZOBON, 2004; OLIVEIRA; PIERRE, 2018). Em alguns casos, por ser rico em nutrientes como aminoácidos, polissacarídeos, lipídios, amido e vitaminas, o grão de pólen é atrativo aos polinizadores e visitantes florais, sendo utilizado como alimento, principalmente, para besouros, moscas e abelhas (RECH et al., 2014).

Portanto, estudos de viabilidade polínica e citoquímica podem fornecer dados que contribuem na propagação da espécie, podendo ser utilizado em programas de melhoramento, preservando assim os recursos genéticos vegetais existentes (OLIVEIRA et al., 2020). Diante disso, este trabalho teve como objetivo estimar a viabilidade polínica e a citoquímica de quatorze etnovariedades de mandioca, cultivadas no estado de Mato Grosso, por meio de testes colorimétricos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados botões florais masculinos, em pré-antese, de quatorze etnovariedades de mandioca provenientes de três municípios do estado de Mato Grosso, região Centro-Oeste do Brasil (quadro 1). As etnovariedades fazem parte da coleção de trabalho da UNEMAT-AF, iniciado por Tiago (2016), localizado na Comunidade Nova Esperança, sítio São Paulo, MT 208, no município de Alta Floresta – MT. Quanto à procedência das etnovariedades, ou seja, origem das ramas, apenas a *Mandioca amarela II* e *Mandioca de fritar sem cozinhar II* são oriundas do município de Carlinda-MT, as demais os agricultores obtiveram as ramas no município de Alta floresta, onde residem. Ressaltamos ainda que todas as 14 etnovariedades são cultivadas por agricultores familiares para consumo próprio e/ou comercialização e são cultivadas e mantidas por, pelo menos, 10 anos.

QUADRO 1. Etnovariedades de mandioca coletadas em cinco municípios do Estado de Mato Grosso, região Centro-Oeste do Brasil.

N	Código	Etnovariedades	Local de coleta	Origem das ramas
1	AF01	<i>Cacau roxa</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
2	AF02	<i>Cacau branca</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
3	AF03	<i>Branca do Baiano</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
4	AF04	<i>Cacau amarela</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT

5	AF05	<i>Mandioca amarela II</i>	Alta Floresta-MT	Carlinda-MT
6	AF06	<i>Amarela III</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
7	AF07	<i>Mandioca três meses</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
8	AF08	<i>Cacau copinha</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
9	AF09	<i>Mandioca de fritar sem cozinhar II</i>	Alta Floresta-MT	Carlinda-MT
10	AF10	<i>Mandioca amarela folha fina</i>	Alta Floresta-MT	Alta Floresta-MT
11	AP01	<i>Mandioca São Paulo</i>	Apiacás-MT	Apiacás-MT
12	AP02	<i>Mandioca Liberata</i>	Apiacás-MT	Apiacás-MT
13	AP03	<i>Boliviana</i>	Apiacás-MT	Apiacás-MT
14	POC01	<i>Liberata</i>	Poconé-MT	Poconé-MT

As análises foram conduzidas no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol) do CEPTAM (Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional) na Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Campus de Alta Floresta.

Para a estimativa da citoquímica e viabilidade polínica foram coletados botões florais masculinos, em pré antese, que, ainda em campo, foram fixados em solução de álcool absoluto: ácido acético na proporção de 3:1. O material foi mantido em temperatura ambiente por 24 horas e, em seguida, transferidos para uma solução de álcool 70% e armazenados sob refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) até o momento do preparo das lâminas.

Para a estimativa da viabilidade polínica, foram utilizados os corantes carmim acético 2% e Reativo de Alexander. O carmim acético 2% foi preparado conforme Radford et al. (1974) e indica a integridade cromossômica, corando de vermelho apenas os polens que possuem DNA e RNA (PAGLIARINI; POZZOBON, 2004). O reativo de Alexander é uma solução de reagentes (etanol, verde malaquita, água destilada, glicerol, fucsina ácida e fenol) preparado conforme Alexander (1980). O verde malaquita presente nesta solução apresenta afinidade com a celulose presente na parede celular e, assim, a cora de verde, enquanto a fucsina ácida cora o protoplasma de vermelho/púrpura, dessa forma os grãos de pólen corados apenas de verde são considerados inviáveis, por não possuírem protoplasma (ALEXANDER, 1969; ALEXANDER, 1980).

No preparo das lâminas utilizou-se a técnica de esmagamento das anteras (GUERRA; SOUZA, 2002), para liberação dos grãos de pólen. As anteras foram esmagadas, com auxílio de bastão de vidro, sob 100 μL de corante e, em seguida, cobertas com uma lamínula. Foram confeccionadas oito lâminas para cada corante, que, posteriormente, foram observadas no microscópio óptico binocular, pelo método de varredura, onde realizou-se a contagem de 250 polens por lâmina, totalizando 2000 grãos de polens por etnovarietade, para cada corante.

No teste com o reativo de Alexander, as lâminas foram preparadas e mantidas em temperatura ambiente ($\pm 23^{\circ}\text{C}$), por, aproximadamente, 30 minutos, para ação do corante.

Os botões foram mensurados em (mm), com auxílio de paquímetro digital de precisão (Mitutoyo). A viabilidade polínica foi estimada por meio da fórmula (1):

(1)

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

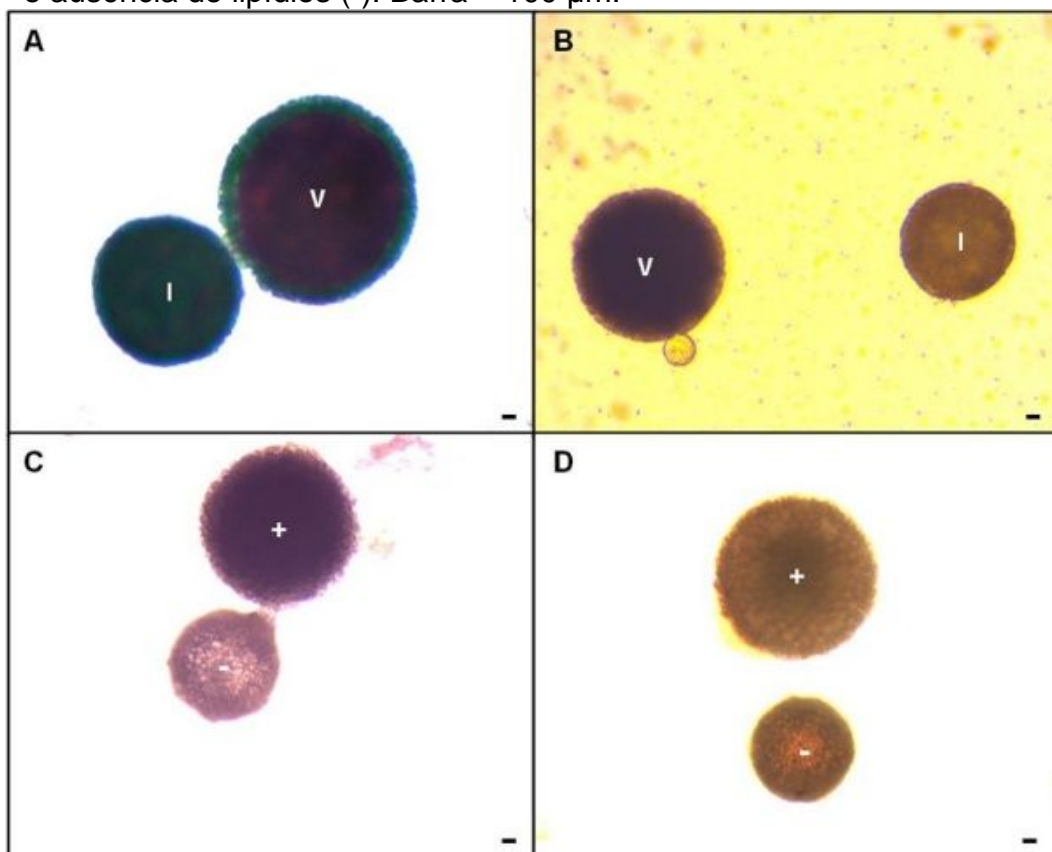
Para a estimativa da citoquímica utilizou-se o corante lugol 2%, onde é possível identificar a presença ou ausência de amido no grão de pólen (BAKER; BAKER, 1979), e o corante sudan IV que identifica a presença ou ausência de lipídios (DAFNI, 1992), sendo classificados como positivo (+) ou negativo (-) para essas substâncias. O modo de preparo das lâminas e observação dos grãos de pólen seguiu o mesmo procedimento da viabilidade polínica.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors e transformados em arco seno ($x/100$), onde x é o número de polens viáveis. Os dados transformados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando significativo, foi realizado o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico Genes, v. 2019.89 (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os botões florais das etnovarietades de mandioca avaliadas que exibiram grãos de pólen maduros, mediram entre 4,14 e 5,13 μm , com média de 4,54 μm de comprimento. Os corantes utilizados na análise da viabilidade polínica e citoquímica de *Manihot esculenta*, foram eficientes em distinguir os grãos de polens viáveis dos inviáveis, assim como em detectar a substância de reserva presente no grão de pólen (Figura 1).

FIGURA 1. Grãos de polens viáveis (V) e inviáveis (I) de *Manihot esculenta*. A: reativo de Alexander; B: carmim acético 2%; C) lugol 2% - Pólen com presença (+) e ausência (-) de amido; D) sudan IV – Pólen com presença (+) e ausência (-) de lipídios (-). Barra = 100 μm .



Fonte: os autores.

De acordo com a análise de variância (ANOVA), houve interação significativa entre dos dois fatores, etnovariedades e corantes. No estudo, as médias de viabilidade variaram de 52,15 a 90,88% para o corante reativo de Alexander (PCO01 e AP01, respectivamente) e de 35,35 a 86,90% para o corante carmim acético (AF08 e AP01, respectivamente), conforme Tabela 1. Pedri et al. (2019), em estudos com quatro etnovariedades de mandioca (*Cascatinha*, *Mandioca branca*, *Mandioca pão* e *Galhuda branca*) cultivadas no estado de Mato Grosso, também detectaram variação entre as etnovariedades avaliadas, obtendo médias que variaram de 63 a 94%.

Para ambos os corantes, reativo de Alexander e carmim acético 2%, a *Mandioca São Paulo* (AP01) apresentou a maior média de viabilidade polínica (90,88%) e diferiu-se estatisticamente das demais etnovariedades. As etnovariedades apresentaram diferença estatística entre os corantes avaliados, com exceção para *Amarela III* (AF06), *Mandioca São Paulo* (AP01) e *Liberata* (POC01), portanto, para essas etnovariedades, ambos os corantes são adequados.

De acordo com Souza et al. (2002), médias de viabilidade acima de 70% são considerados como alta viabilidade e valores entre 31 a 69% são consideradas como média taxa de viabilidade. Diante disso, neste estudo, três etnovariedades (*Mandioca São Paulo* (AP01), *Mandioca Liberata* (AP02) e *Boliviana* (AP03)) apresentaram alta viabilidade, para o corante reativo de Alexander, e apenas a etnovariabilidade *Mandioca São Paulo* (AP01) apresentou alta viabilidade para o corante carmim acético. Segundo Branbatti et al. (2016), a alta viabilidade do pólen, como o apresentado por algumas das etnovariedades neste estudo, podem representar o grau de estabilidade dos genótipos e, portanto, contribuem em pesquisas em torno do melhoramento genético da espécie, uma vez que possibilita a escolha de indivíduos mais estáveis para realizar cruzamentos.

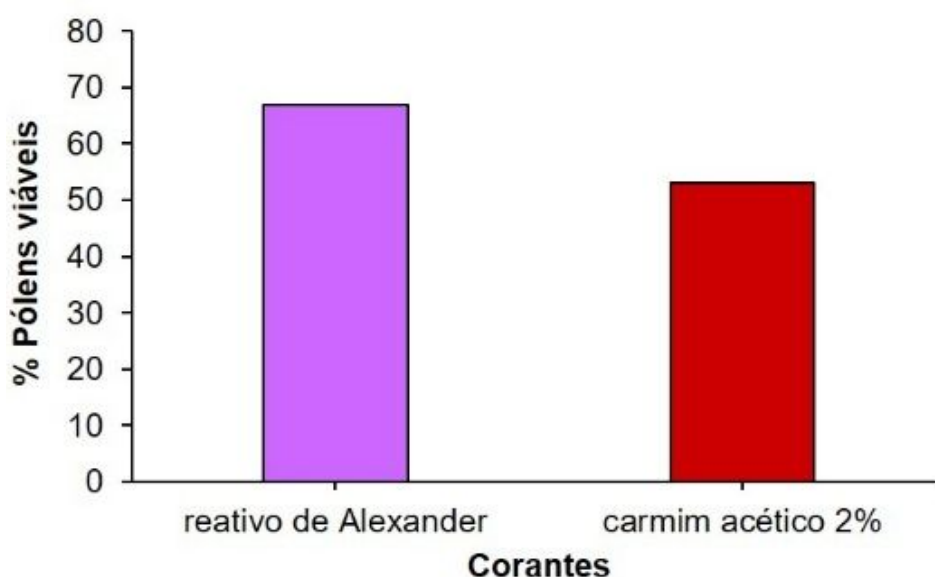
TABELA 1 Porcentagem da viabilidade dos grãos de pólen de 14 etnovariedades de mandioca corados com reativo de Alexander e carmim acético 2%.

Código	Etnovariedades	Reativo de Alexander	Carmim acético 2%
AF01	<i>Cacau roxa</i>	59,90 A c	46,20 B d
AF02	<i>Cacau branca</i>	64,25 A b	51,20 B d
AF03	<i>Branca do Baiano</i>	67,05 A b	50,55 B d
AF04	<i>Cacau amarela</i>	64,80 A b	55,10 B c
AF05	<i>Mandioca amarela II</i>	66,25 A b	48,05 B d
AF06	<i>Amarela III</i>	65,80 A b	66,40 A b
AF07	<i>Mandioca três meses</i>	65,65 A b	47,95 B d
AF08	<i>Cacau copinha</i>	69,70 A b	35,35 B e
AF09	<i>Mandioca de fritar s/ cozinhar</i>	66,05 A b	41,80 B e
AF10	<i>Mandioca amarela folha fina</i>	65,95 A b	52,40 B c
AP01	<i>Mandioca São Paulo</i>	90,88 A a	86,90 A a
AP02	<i>Mandioca Liberata</i>	72,20 A b	57,30 B c
AP03	<i>Boliviana</i>	73,58 A b	45,58 B d
POC01	<i>Liberata</i>	52,15 A c	57,00 A c

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna (corantes) e maiúscula na linha (etnovariedades) não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Independente da etnovarietade analisada, observa-se que o corante reativo de Alexander apresentou a maior média de pólen viáveis (67%) quando comparado ao resultado do carmim acético (Figura 2). Resultados semelhantes foram reportados por Silva et al. (2018a), que ao avaliarem a viabilidade polínica de acessos de espécies silvestres do gênero *Manihot* (*Manihot longiracemosa* (BGMS18) e *Manihot* sp. (BGMS30, BGMS33, BGMS38 e BGMS24), com os dois corantes, também obtiveram maior média percentual de pólen viáveis para o reativo de Alexander, sendo, portanto, o mais aconselhado para a estimar a viabilidade polínica do gênero *Manihot*.

FIGURA 2. Viabilidade polínica dos grãos de pólen de 14 etnovarietades de mandioca, utilizando os corantes reativo de Alexander e carmim acético 2%.

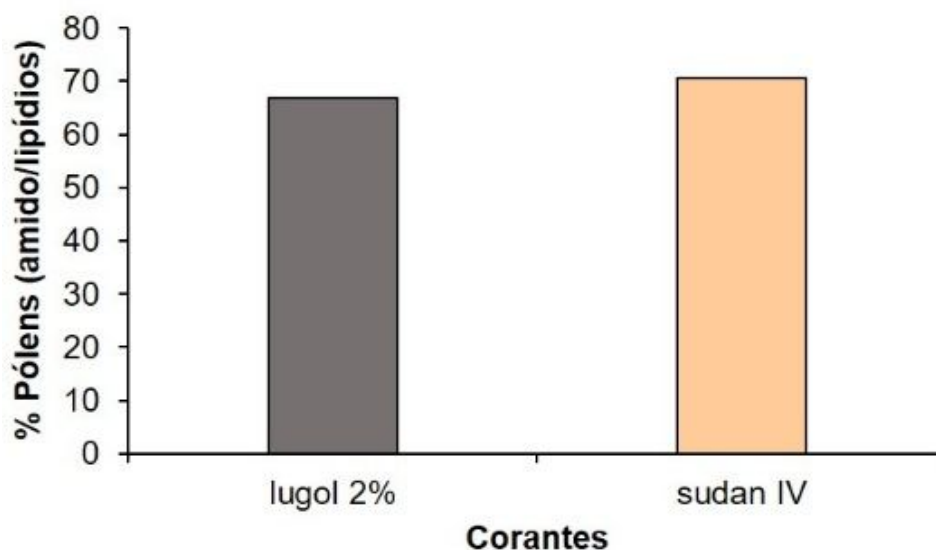


Fonte: os autores.

O teste citoquímico indicou que os grãos de pólen das etnovarietades de mandioca avaliadas apresentam amido e lipídios como substâncias de reserva (Figura 1C e 1D, respectivamente). Resultados semelhantes foram detectados por Santos et al. (2019c), onde as etnovarietades de mandioca avaliadas apresentaram amido e lipídios como substância de reserva.

A análise citoquímica resultou em uma média de 66,9% de grãos de pólen amido positivos e 70,6% de lipídio positivo (Figura 3), sendo que a presença dessas substâncias nos grãos de pólen auxilia na sua conservação, germinação e polinização. Conforme Pacini et al. (2006), antes da abertura floral, o amido, acumulado durante o desenvolvimento e o estágio final de amadurecimento do grão, é total ou parcialmente convertido em pectinas, glicose, frutose e sacarose que aumentam a resistência do grão a ambientes hostis, bem como auxiliam na germinação do tubo polínico. Já os lipídios mantêm os grãos de pólen aderidos à antera e ao estigma, protegendo-os contra a radiação UV e perda de água, além de mantê-los unidos durante o transporte do pólen pelos insetos polinizadores (PACINI; HESSE, 2005).

FIGURA 3. Avaliação citoquímica dos grãos de pólenes de 14 etnovariedades de mandioca, utilizando os corantes lugol 2% e sudan IV



Fonte: os autores.

Os programas de melhoramento com a espécie *Manihot esculenta* têm como objetivo desenvolver cultivares nutritivas, com alta produtividade, resistentes a adversidades ambientais (clima e solo) e a pragas e doenças (CEBALLOS et al., 2010). De acordo com Perera et al. (2012) estudos que investigam aspectos reprodutivos das espécies, como o desenvolvido neste estudo com a mandioca, são importantes para subsidiar programas de pré-melhoramento da cultura, sendo tais informações pré-requisitos para aumentar a eficiência das técnicas utilizadas pelos melhoristas, no entanto, conforme os mesmos autores, ainda faltam pesquisas nesta área. Diante disso, as informações obtidas neste estudo podem apoiar futuros cruzamentos entre etnovariedades de mandioca, que congregam uma ampla variabilidade genética, bem como entre variedades cultivadas e selvagens de *Manihot*.

CONCLUSÃO

As etnovariedades de mandioca cultivadas no estado de Mato Grosso exibiram, para os corantes reativo de Alexander e carmim acético, percentual médio de viabilidade polínica de 67 e 53%, respectivamente, e apresentaram amido e lipídios como substâncias de reserva. As etnovariedades de mandioca estudadas apresentam-se com potencial de usos em cruzamentos intraespecíficos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, pela concessão de bolsa PROBIC a primeira autora; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão de bolsa de iniciação científica a segunda autora e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela concessão de bolsa a terceira autora.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M. P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 3, p. 117-122, 1969. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10520296909063335>>. doi: 10.3109/10520296909063335
- ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, v. 55, p. 13-18, 1980. doi: 10.3109/10520298009067890
- ANDRICH, M.; MARTINS, M. L. L.; THOMAZ, L. D.; BRITO, L. S.; MARTINS, R. L.; Biologia reprodutiva de *Jacquinia armillaris* (Primulaceae): uma espécie endêmica das restingas brasileiras. **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, p. 369-378, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/2175-7860201667208>>. doi: 10.1590/2175-7860201667208
- BAKER, H. G.; BAKER, I. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 66, n. 5, p. 591-600, 1979. Disponível em: <<https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/j.1537-2197.1979.tb06262.x>>. doi: 10.1002/j.1537-2197.1979.tb06262.x
- BRAGA, R. C.; LIMA MONTEIRO, L. L.; NASCIMENTO, K. K. B.; RABELO, F. M.; LIMA, A. F. Elaboração e caracterização de mousse de siriguela (*Spondias purpurea*) adicionado de pólen apícola. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 5, p. 84-89, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21439/conexoes.v13i5.1817>>. doi: 10.21439/conexoes.v13i5.1817
- BRANBATTI, A.; BRAMMER, S. P.; WIETHÖLTER, P.; NASCIMENTO JUNIOR, A. Estabilidade genética em triticale estimada pela viabilidade polínica. **Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, e0802014, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000802014>> doi: 10.1590/1808-1657000802014
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRISTCHE-NETO, R. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2017. 543p.
- CEBALLOS, H.; OKOGBENIN, E.; PÉREZ, J. C.; LÓPEZ-VALLE, L. A. B.; DEBOUCK, D. **Cassava**. In: BRADSHAW, J. E. Root and Tuber Crops. 298p. New York: Springer, 2010. p. 53-96.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>>. doi: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251
- DAFNI, A. **Pollination Ecology: A Practical Approach**. New York, Oxford: University press, 1992. 250p.
- DIAMANTINO, M. S. A. S.; COSTA, M. A. P. C.; SOARES, T. L.; MORAIS, D. V.; SILVA, S. A. et al. Morphology and viability of castor bean genotypes pollen grains. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 1, p. 77-83, 2016. Disponível em:

<https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1807-86212016000100077&script=sci_arttext>. doi: 10.4025/actasciagron.v38i1.25981

FIALHO, J. D. F.; VIEIRA, E. A. **Mandioca no cerrado: orientações técnicas**. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2013. 203p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/981357/mandioca-no-cerrado-orientacoes-tecnicas>>.

FRANCO, P. C. I.; FARIA, M. L.; BILCK, A. P.; SOARES, E. A. Atividade antimicrobiana e caracterização de filmes de amido de mandioca/quitosana, reforçados com fibras de cana-de-açúcar. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 8766-8779, 2020. Disponível em: <<http://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/7105/6221>>. doi: 10.34117/bjdv6n2-257

GONÇALVES, K. Y.; LERMEN, F. H.; SOUZA, MATIAS, G.; COELHO, T. M. Modelo paramétrico para avaliar a cinética de hidratação de amido natural de mandioca. **Anais do XIII Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial**. Campo Mourão: EEPA, 2019. Disponível em: <<http://www.dep.uem.br/gdct/index.php/simeprod/article/view/1682>>.

GRECCO, K. D.; BORGES, K. F.; PRAÇA-FONTES, M. M. Teste colorimétrico em grãos de pólen de *Passiflora caerulea*, *P. foetida*, *P. miniata* e *P. mucronata*. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, 2016. Disponível em: <<http://revista.univap.br/index.php/revistaunivap>>. doi: 10.18066/revistaunivap.v22i40.1366

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. FUNPEC, 2002. 131p.

HISTER, C. A. L.; TEDESCO, S. B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 135-141, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_081>. doi: 10.1590/1983-084X/15_081

JESUS, L. G. A.; SILVA, R. N. O.; GOMES, M. F. C.; VALENTE, S. E. S.; GOMES, R. L. F. et al. Efficiency of colorimetric tests to determine pollen viability in *Peppers*. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 2, p. 77-82, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21206/rbas.v8i2.497>>. doi: 10.21206/rbas.v8i2.497

LEITE, D. M.; MACEDO, W. A.; RAMOS, L. P. N.; MELLO, V. S.; KARSBURG, I. V. Estudo da viabilidade polínica de *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) por meio de distintos métodos colorimétricos. **Agrarian Academy**, v. 5, n. 9, p. 234-243, 2018. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2018a/estudo%20da%20viabilidade.pdf>>. doi: 10.18677/Agrarian_Academy_2018a24

MELO, A. K. S; MEDEIROS, A. J. D. Análise bromatológica do pólen apícola da região do semiárido potiguar. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 675-682, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5151/chenpro-5erq-am8>>. doi: 10.5151/chenpro-5erq-am8

OLIVEIRA, U. A.; RODRIGUES, A. S.; CARDOSO, E. S.; PEDRI, E. C. M.; DARDENGO, J. F. E.; FAGUNDES, P. A. S.; BISPO, R. B.; ROSSI, A. A. B. **Citoquímica e viabilidade polínica de *Theobroma speciosum* Willd. Ex Spreng (Malvaceae)**. In: OLIVEIRA JUNIOR, J. M. B. CAVÃO, L. B. Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa 3, v. 10, p. 114-123, 2020. Ponta Grossa, PR: Atena Editora. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.22533/at.ed.25720160110>>. doi: 10.22533/at.ed.25720160110

OLIVEIRA, L. B. P.; PIERRE, P. M. O. Índice meiótico e palinologia de cerejeira-domato (*Eugenia involucrata* DC - Myrtaceae). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 4, p. 481-490, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5965/223811711732018481>>. doi: 10.5965/223811711732018481

PACINI, E.; GUARNIERI, M.; NEPI, H. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation and dispersal: a short review. **Protoplasma**, v. 228, n. 1-3, p. 73-77, 2006. doi: 10.1007/s00709-006-0169-z

PACINI, E.; HESSE, M. Pollenkitt - Its composition, forms and functions. **Flora Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 200, n. 5, p. 399-415, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2005.02.006>>. doi: 10.1016/j.flora.2005.02.006

PAGLIARINI, M. S.; POZZOBON, M. T. **II Curso de Citogenética Aplicada a Recursos Vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2004. 89p. (Documentos 154). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CENARGEN/26521/1/doc154.pdf>>.

PERERA, P. I.; QUINTERO, M.; DEDICOVA, B.; KULARATNE, J. D.; CEBALLOS, H. Comparative morphology, biology and histology of reproductive development in three lines of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae: Crotonoideae). **AoB Plants**, v. 5: pls046, 2013. doi:10.1093/aobpla/pls046

PEDRI, E. C. M.; ROSSI, A. A. B. LIMA, J. A.; TIAGO, A. V.; WOLF, M. S. Índice meiótico e viabilidade polínica de etnovariedades de mandioca cultivadas na região Norte do Mato Grosso. **Anais do II Seminário da Pós-Graduação (SEPOS)**. Cáceres: UNEMAT, 2019.

PEDRI, E. C. M.; CARDOSO, E. S.; TIAGO, A. V.; ZORTÉA, K. E. M.; WOLF, M. S.; SANTOS, L. L.; et al. **Etnovariedades de mandioca cultivadas no estado de Mato Grosso: Caracterização fenotípica por meio de descritores de flores e frutos**. In: MACHADO, E. R. As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento 2. Capítulo 19, p. 168-179, 2020. Ponta Grossa, PR: Atena. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.22533/at.ed.10220050319>>. doi: 10.22533/at.ed.10220050319

QUEIROZ, T. N.; SILVA, N. T.; ALVES, S. M.; NASCIMENTO, P. N.; KARSBURG, I. V. Uso de diferentes corantes para a estimativa da viabilidade polínica e caracterização dos grãos de polens de sorgo granífero. **Agrarian Academy**, v. 5, n. 9, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18677/Agrarian_Academy_2018a32>. doi: 10.18677/Agrarian_Academy_2018a32

RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. **Vascular Plant Systematics**. New York: Harper & Row Publishers, 1974. 891p.

RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. 527p.

RIBEIRO, J. G.; SILVA, R. A. Estudo comparativo da qualidade de pólen apícola fresco, recém processado, não processado e armazenado em freezer e pólen de marca comercial através de análises físico-químicas. **Tecnologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 2, p. 33-47, 2007.

SANTOS, B. N. V.; MACEDO, W. A.; DAMASIO, J. F.; MELLO, V; S.; KARSBURG, I. V. Teste de coloração de grãos de pólen de *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe (Costaceae) para verificação de sua viabilidade. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 16, n. 2, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5327/Z1677-606220191549>>. doi: 10.5327/Z1677-606220191549

SANTOS, G. C.; PEDRI, E. C. M.; RODRIGUES, A. S. PENNA, G. F.; ROSSI, A. A. B. Aspectos reprodutivos do milho híbrido simples 2B810 PW (Dow) (*Zea mays* L.) cultivado em Alta Floresta, Mato Grosso. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 292-301, 2019a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18677/EnciBio_2019A20>. doi: 10.18677/EnciBio_2019A20

SANTOS, T. A.; TIAGO, A. V.; FERREIRA, E. L.; RODRIGUES, A. S.; ROSSI, A. A. B. Índice meiótico e viabilidade polínica de *Hymenaea courbaril* L., no município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 1890-1900, 2019b. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2019a/bio/indice.pdf>>. doi: 10.18677/EnciBio_2019A146

SANTOS, L. L.; TIAGO, A. V.; PEDRI, E. C. M.; DE OLIVEIRA, S.; OLIVEIRA, U. A.; ROSSI, A. A. B. Citoquímica e viabilidade polínica de etnovarietades de mandioca cultivadas em Alta Floresta, Mato Grosso. **Anais da XII Semana da Biologia**. Alta Floresta: UNEMAT, 2019c. Disponível em: <<http://altafloresta.unemat.br/index.php/servicos/eventos/xii-sebaf>>.

SILVA, R. M.; BANDEL, G.; FARADLDO, M. I. F.; MARTINS, P. S. Biologia reprodutiva de etnovarietades de mandioca. **Scientia agrícola**, v. 58, n. 1, p. 101-107, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-90162001000100016>>. doi: 10.1590/S0103-90162001000100016

SILVA, E. M. S.; OLIVEIRA, U. A.; CARDOSO, E. S.; ROELIS, B. V.; ROSSI, A. A. B. Fenologia reprodutiva e biologia floral de *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi

(Rubiaceae) em um fragmento florestal no município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 14, n. 26, p. 986-994, 2017. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2017b/biol/fenologia.pdf>>. doi: 10.18677/EnciBio_2017B84

SILVA, J.; LIRA, I. D. S.; MAGALHÃES, T.; CURSINO, L.; ANTONIO, R. Estudo da viabilidade polínica em acessos de espécies silvestres do gênero *Manihot*. **Anais da XIII Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido**. Petrolina: EMBRAPA Semiárido, 2018a. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/185873/1/Jullie.pdf>>.

SILVA, R. F.; SISSI, S. A. A.; MOURA, A. A.; SILVA, Â. M. Agricultura familiar: a produção e o manejo de farinha de mandioca na comunidade Kalunga vão de almas e suas contribuições para a educação do campo. **Facit Business and Technology Journal**, v. 1, n. 5, 2018b. Disponível em: <<http://revistas.faculdefacit.edu.br/index.php/JNT/article/view/270>>.

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**, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002. Disponível em: <<http://www.editora.ufla.br/index.php/revistas/ciencia-e-agrotecnologia/artigospublicados>>.

TIAGO, A. V. **Diversidade genética e uso de etnovariedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivadas em propriedades rurais no município de Alta Floresta, Norte do Estado de Mato Grosso**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos) - Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2016.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S. **Recursos genéticos e melhoramento da mandioca**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2011. 10p. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/896924>>.

ZAMBON, C. R.; SILVA, L. F. O.; PIO, R.; FIGUEIREDO, M. A. D.; SILVA, K. N. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0100-2945-095/13>>. doi: 10.1590/0100-2945-095/13