



EFEITO DA DESIDRATAÇÃO NA VIABILIDADE DE PÓLEN DE BANANEIRA

Janay Almeida dos Santos-Serejo¹, Mariana Conceição Menezes², Fernanda Vidigal Duarte Souza¹

¹ Pesquisadora Embrapa Mandioca e Fruticultura, Laboratório de Cultura de Tecidos, janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br

² Mestranda, Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, marimenezes_6@hotmail.com

Resumo: Foram testados dois métodos para desidratação de grãos de pólen de bananeira visando o determinar o teor de umidade que permitisse a manutenção da viabilidade, antes de submetê-los à criopreservação. Amostras de grãos de pólen foram desidratadas em câmara de fluxo laminar e em sílica gel por 20, 40 e 60 minutos. A viabilidade do pólen foi verificada mediante germinação in vitro e com coloração com solução Alexander e com 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio (TTC). O teor de umidade dos grãos de pólen diminuiu mais rapidamente quando se utilizou a sílica gel. A percentagem de germinação in vitro do pólen reduziu à medida que o teor de umidade diminuiu. O teor de umidade do pólen de bananeira deve ser superior a 20% para garantir a sua capacidade de germinação in vitro.

Palavras-chave: *Musa* sp., teor de umidade, germinação in vitro de pólen

Introdução

A manutenção da viabilidade e fertilidade do pólen por um longo período é importante para o melhoramento e conservação de recursos genéticos vegetais. Estudos tem mostrado que a criopreservação de pólen em nitrogênio líquido (-196°C) é uma estratégia ideal para a conservação de pólen por longo prazo (Towill, 1985; Panella, 2009; Chaudhury et al., 2010; Li et al., 2011; Custódio et al., 2011).

De modo geral, esta técnica consiste manter o material vegetal em nitrogênio líquido a -196°C , em um estado de metabolismo praticamente estagnado devido a ultra-baixa temperatura. Porém o material preservado deve manter sua estrutura celular intacta permitindo o retorno das atividades normais após o descongelamento.

O ponto mais crítico deste procedimento é o teor de umidade no material a ser criopreservado. Pois teores muito baixos levam à desidratação excessiva e morte das células, e aqueles elevados levam a formação de cristais de gelo no interior das células (Carvalho, 2006). A formação dos cristais de gelo leva à ruptura do sistema de membranas celulares, à perda da permeabilidade seletiva das células e da



compartimentalização celular. Portanto, o processo de desidratação é um dos passos necessários à eficácia da criopreservação.

Sendo assim, o presente trabalho tem o objetivo de testar métodos de desidratação dos grãos de pólen de bananeira que mantenham a sua viabilidade.

Material e Métodos

Foram utilizados grãos de pólen do diploide 08987-01 coletados na antese, às 8 horas da manhã. Amostras de pólen de duas anteras foram submetidas à desidratação em câmara de fluxo e em sílica gel nos intervalos de tempo de 20, 40 e 60 minutos. Para avaliar a porcentagem de umidade as amostras foram pesadas antes e depois dos processos de desidratação.

Para o tratamento de desidratação em câmara de fluxo as amostras foram colocadas em placas de Petri forradas com papel filtro e as amostras foram postas sobre papel manteiga e expostas ao fluxo de ar. Já as amostras submetidas à desidratação por sílica gel foram acondicionadas em placas de Petri contendo sílica gel também forradas com papel filtro e tampadas.

Cada amostra foi submetida aos testes colorimétrico de viabilidade com a solução Alexander (1969) e com o 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) e, também, teste de germinação in vitro em placas de Petri contendo meio de cultura Soares et al (2008). Posteriormente à coloração, as amostras foram observadas com auxílio de um microscópio óptico com lente objetiva de 10x, sendo contabilizados 200 grãos por lâmina, com duas repetições cada. Consideraram-se viáveis os grãos de pólen de coloração vermelha com TTC e de cor azul intenso com Alexander.

As amostras submetidas ao teste de germinação in vitro foram acondicionadas em ambiente escuro a temperatura de 25°C por 24 horas, após este período o número de grãos germinados e não germinados foi contabilizando mediante observação em microscópio estereoscópio. Considerou-se germinados os grãos que possuíam o tubo polínico maior que o diâmetro do grão de pólen.

Resultados e Discussão

Foi observada uma redução gradual na umidade dos grãos de pólen do genótipo avaliado submetidos aos diferentes condições de desidratação: câmara de fluxo laminar e sílica gel (Tabela 1). Após 20 minutos de exposição, a umidade do pólen foi semelhante para ambas as condições de desidratação. Em câmara de fluxo, a umidade reduziu lentamente, variando de 43,85% até 30,12%, respectivamente, aos 20 e 60 min de exposição. Por outro lado, com o uso da sílica gel o processo de



desidratação foi mais rápido, atingindo 23,26% e 14,7% após 40 e 60 minutos de exposição, respectivamente.

O limite máximo de umidade do pólen, previamente ao seu congelamento, para diversas espécies, está entre 20 e 40% (KARTHA 1985). Portanto, desidratação em câmara de fluxo laminar por 40-60 min ou em sílica gel, por um período entre 20 e 40 min, seria indicado para obtenção de grãos de pólen de bananeira com teor de umidade desejável para criopreservação.

A percentagem de germinação in vitro dos grãos de pólen reduziu à medida que o teor de umidade diminuiu (Tabela 1). Somente 28,26% dos grãos de pólen germinaram in vitro após a desidratação em sílica por 60 min. Entretanto, para este mesmo tratamento, os testes de coloração com TTC e Alexander detectaram, respectivamente, 70,44% e 68,03% de grãos de pólen viáveis.

Os dados indicam, portanto, que o teor de umidade do pólen de bananeira deve ser superior a 20% para garantir a sua capacidade de germinação in vitro.

Tabela 1. Teor de umidade e viabilidade do pólen de bananeira diploide 08987-01 desidratado em câmara de fluxo e sílica gel.

Tratamento	Teor de umidade (%)	Germinação in vitro (%)	TTC (%)	Alexander (%)
Controle	100	59,82	87,20	63,05
Câmara de fluxo				
20 min	43,85	79,82	79,50	74,29
40 min	35,17	67,81	N. A.	N. A.
60 min	30,12	26,44	88,44	74,94
Sílica				
20 min	44,18	70,60	88,98	74,27
40 min	23,26	62,30	N. A.	N. A.
60 min	14,70	28,26	70,44	68,03

Conclusão

O uso de sílica gel promove a desidratação dos grãos de pólen de bananeira de forma mais rápida quando comparado à exposição ao fluxo de ar. A percentagem de germinação in vitro diminuiu à medida que o teor de umidade do pólen é reduzido.



Referências Bibliográficas

CARVALHO, V. S. **Criopreservação de sementes e pólen de orquídeas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 69f. Tese (Doutorado), Pós Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CHAUDHURY, R.; MALIK, S.K.; RAJAN, S. An improved pollen collection and cryopreservation method for highly recalcitrant tropical fruit species of mango (*Mangifera indica* L.) and litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **CryoLetters**, v. 31, p.268-278, 2010.

CUSTÓDIO, L.; ROMANO, A.; FERNANDES, N.; CARNEIRO, M.F. Cryopreservation of Pollen of Carob Tree. **Acta Horticulturae**, v. 908, p.863-867, 2011.

KARTHA, K.K. Meristem culture and germplasm preservation. In: Kartha, K.K. (Ed.) **Cryopreservation of plant cells and organs**. CRC Press: Boca Raton, Florida, p.115-134, 1985.

LI, B.; WANG, H.; LIU, Y. Pollen Cryopreservation of Camellia. **Acta Horticulturae**, v.908, p.265-268, 2011.

PANELLA, L.; WHEELER, L.; MCCLINTOCK, M. E. Long-term survival of cryopreserved sugarbeet pollen. **Journal of Sugar Beet Research**, v. 46, p.1-9, 2009.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.8, p.111-118, 2008.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. Microsporogênese associada ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras. V. 26, p.1209-1217, 2002.

TOWILL, L.E. Low temperature and freeze/vacuum-drying preservation of pollen. In: K.K. Kartha (ed.). **Cryopreservation of plant cells and organs**. CRC Press, Boca Raton, Fla., p. 172–198, 1985.