

Uso de Testes Colorimétricos na Determinação da Viabilidade do Grão de Pólen de Acessos da Grama-do-Cerrado, Pantanal¹

Laura Aparecida Carvalho da Silva², Maria Suely Pagliarini³, Sandra Aparecida Santos⁴,
Cacilda Borges do Valle⁵

Resumo: A principal economia do Pantanal é a bovinocultura de corte, criada em sistemas extensivos, com uso dos recursos forrageiros nativos. Dentre as forrageiras com potencial de cultivo da região, destaca-se a grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*). No entanto, há carência de estudos básicos da reprodução indicativos do potencial dos acessos para futuros programas de seleção e melhoramento. Neste contexto, objetivou-se avaliar a viabilidade do pólen de 10 acessos, presentes do Banco Ativo de Germoplasma, implantado pela Embrapa Pantanal na fazenda Nhumirim, sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Corumbá, MS. Foram testados três corantes (carmim propiônico 1%, lugol 2% e safrablau “safranina + azul de astra”). Os acessos de *M. chaseae*, apresentaram em média alta viabilidade do grão de pólen, variando de 64,5% a 94,4%, independentemente do corante utilizado. Houve diferenças significativas entre os acessos, evidenciando a variabilidade intra-específica, resultado da pressão ambiental nas diferentes fitofisionomias, produzindo assim, características que são muito importantes e devem ser levadas em consideração na determinação de estratégias de cultivo e conservação genética da espécie. Todos os acessos de *M. chaseae* aqui estudados apresentaram alto vigor polínico, podendo ser utilizados nas etapas de pré-melhoramento e melhoramento da espécie.

Palavras-chave: banco ativo de germoplasma, carmim propiônico, conservação *in situ*, gramínea nativa, lugol, safrablau

Use of Colorimetric Test in Determining of Viability of Pollen Grain of Accessions of ‘Gramado-Cerrado’, Pantanal¹

Abstract: Pantanal’s greatest economical activity concerns beef cattle raised under extensive systems and consuming mostly native forages. Among the grasses with forage potential ‘*grama-do-cerrado*’ (*Mesosetum chaseae*) is especially important. There is no basic knowledge, however, indicating its reproductive potential for future breeding and selection programs. This paper reports the pollen viability studies carried out with 10 accessions from the Germplasm Bank, kept at Embrapa Pantanal in Nhumirin Farm, Nhecolândia sub-region, Corumbá, MS. Three stains were tested (1% propionic carmine; 2% lugol and Safrablau safranin + astra blue). All accessions presented, in average, high pollen viability varying from 64.5% to 94.4%, independently of which stain was used. There were significant differences within accessions, thus demonstrating intra-specific variability, depending on environmental pressure of the different phytophysiognomies, an important observation which needs to be considered in determining strategies for cultivation and genetic conservation of this species. All accessions of *M. chaseae* studied presented high pollen vigor, thus may be used in pre-breeding and breeding of this species.

Keywords: active Germplasm bank, propionic carmine, *in situ* conservation, native grass, lugol, safrablau

¹ Parte da tese de doutorado da primeira autora, financiada pela Embrapa Pantanal, Fundect e Cnpq.

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento e Bolsista da Fundação Araucária, Universidade Estadual de Maringá - UEM, Cep: 87020-900, Maringá, PR (e-mail: laura_zoopan@hotmail.com).

³ Professora do Departamento de Citogenética Vegetal, Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR (e-mail: mspagliarini@uem.br).

⁴ Pesquisadora da Embrapa Pantanal, Caixa Postal 109, 79320-900, Corumbá, MS (e-mail: sasantos@cpap.embrapa.br)

⁵ Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, 79002-970, Campo Grande, MS (e-mail: cacilda@cnpqc.embrapa.br).

Introdução

O Pantanal brasileiro vem sendo explorado, por mais de dois séculos, pela bovinocultura de corte, em sistema extensivo de forrageiras nativas, abrigando um efetivo bovino de aproximadamente 3,5 milhões de cabeças. No entanto, nas últimas décadas tem ocorrido um aumento na introdução de gramíneas exóticas, principalmente do gênero *Brachiaria* (Syn. *Urochloa*). Num contexto em que o Brasil detém aproximadamente 20% de toda diversidade do planeta, e só no Pantanal existem segundo Pott e Pott (1999), 1800 espécies de plantas, das quais 210 são da família *Poaceae*, totalizando 2,1% do total mundial, Allem e Vals (1987) consideraram um contra-senso o descaso com o material nativo que sequer foi estudado, e cujo potencial de aproveitamento está sendo ignorado, ameaçando assim, a sustentabilidade do sistema.

SANTOS et al. (2002) constataram, que as espécies *Axonopus purpusii*, *Mesosetum chaseae* e *Andropogon hypogynus*, tiveram participação expressiva e menos variável na dieta de bovinos criados no sistema extensivo do Pantanal. Assim sendo, a grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*) destaca-se como forrageira de bom potencial na criação de gado devido a diversas características de interesse, entre as quais, a produtividade, capacidade de recuperação de campos degradados e a resistência à seca. Porém, os conhecimentos básicos sobre a espécie ainda são insuficientes para a definição de estratégias de cultivo e manejo do germoplasma forrageiro.

Em 2006 foi implantado, pela Embrapa Pantanal, um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *M. chaseae*, na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, formado por populações provenientes de diferentes fitofisionomias e sub-regiões pantaneiras. Desde sua implantação, o BAG passou por algumas avaliações, dentre elas, as de descritores fenotípicos (SANTOS et al., 2009), determinação do número cromossômico e comportamento meiótico (SILVA et al., 2009), modo de reprodução, autofecundação controlada, germinabilidade e viabilidade das sementes (experimentos em andamento) e receptividade dos estigmas.

Várias características necessitam ser avaliadas num BAG, pois proporcionam a formação da base de dados dos descritores, com indicativos quanto ao potencial dos acessos. Entre os vários caracteres, está o vigor polínico, pois a viabilidade do pólen é um parâmetro importante, uma vez que, além de evidenciar a potencialidade reprodutora masculina da espécie, contribui em estudos taxonômicos, ecológicos, paleológicos, fornecendo informações básicas para a aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de melhoramento ou cultivo (ALEXANDER, 1980). Com base nessa premissa, objetivou-se avaliar o vigor polínico de 10 acessos de *M. chaseae*, presentes no BAG da Embrapa Pantanal.

Material e Métodos

Foram avaliadas amostras de 10 acessos da grama-do-cerrado, obtidos do BAG da Embrapa Pantanal, localizado na fazenda Nhumirim, sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Corumbá, MS. Foram coletadas inflorescências, no período de antese, fixadas em álcool 70% e armazenadas refrigeradas. Em laboratório, foram extraídas as anteras, seccionando-as transversalmente, possibilitando assim, a remoção dos grãos de pólen de três anteras da mesma flor, que foram corados e avaliados. Os grãos de pólen foram analisados através dos corantes: lugol 2%, carmim propiônico 1% e safrablau (safranina + azul de astra), totalizando 10 flores de 10 inflorescências diferentes para cada acesso. Para cada corante, foram montadas 10 lâminas, de cada acesso, onde foram contados 100 grãos de pólen ao acaso. Foram considerados inviáveis os grãos de pólen que apresentaram o tamanho visivelmente anormal, coloração fraca, protoplasma reduzido e/ou ausente, e viáveis os que apresentavam a exina intacta, protoplasma bem corado, com distribuição homogênea.

Os dados de porcentagem de viabilidade do pólen foram transformados pela raiz quadrada e submetidos a ANOVA usando o PROC GLM do SAS (2009), por meio do seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + T_j + (AT)_{ij} + e_{ijk},$$

onde: Y_{ijk} = caráter observado na k -ésima repetição do acesso i do tratamento j ; μ = média geral; A_i = efeito do acesso i ; T_j = efeito de tratamento j ; $(AT)_{ij}$ = efeito da interação acesso e tratamento e e_{ijk} = erro experimental.

As diferenças entre médias foram realizadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Observou-se que houve efeito significativo ($P < 0,05$) da porcentagem de viabilidade do pólen entre acessos, porém, não houve diferença entre os corantes testados. Em média, os acessos de *M. chaseae*, apresentaram alta viabilidade do grão de pólen, cujas médias variaram de 64,5% a 94,4% (Tabela 1). Segundo Souza et al. (2002), a viabilidade polínica é considerada alta para valores acima de 70%, e esses percentuais não causariam prejuízos em trabalhos de melhoramento da espécie. Apesar de ter havido valores médios abaixo de 70% (acessos 04 e 07; 64,5 e 66,1%, respectivamente) esses valores médios não diferiram estatisticamente dos acessos que apresentaram médias entre 73,2 a 76,9%. O acesso 09 destacou-se, pois apresentou porcentagem média de pólen viável acima daquelas dos acessos 02, 03, 04, 05 e 07. Já os acessos 01, 06, 08 e 24 apresentam maior vigor polínico comparado com os acessos 07 e 04. Interessante notar que esses acessos são provenientes de áreas de campo não inundáveis. Estudos mais aprofundados são importantes para verificar esta tendência.

Tabela 1. Médias de porcentagem da viabilidade polínica de acessos de *Mesoseum chaseae*, seguidas das fitofisionomias de coleta

Acessos	Fitofisionomias	Médias de % de viabilidade do pólen
1	Campo limpo não inundável	88,1ab
2	Campo limpo inundável	76,9bc
3	Campo limpo não inundável	73,2bc
4	Campo limpo inundável	64,5c
5	Caronal	75,5cb
6	Campo limpo	86,1ab
7	Borda de campo cerrado	66,1c
8	Campo cerrado não inundável	83,4ab
9	Borda de cordilheira com predominância de babaçu	94,4a
24	Reserva, campo limpo sem presença de gado há mais de 10 anos	84,63ab

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As diferenças significativas encontradas entre os acessos, revelam a ocorrência de variabilidade genética, podendo ser decorrente das condições edafo-climáticas e da grande plasticidade fenotípica presente na espécie. Essa variabilidade intra-específica, em especial nas espécies nativas, produz características que são muito importantes e devem ser levadas em consideração na determinação de estratégias de cultivo e conservação genética.

Neste contexto, o ponto crucial das pastagens nativas do Pantanal é a conservação *in situ* dos Recursos Genéticos Vegetais (RGVs). Os acessos de *M. chaseae* representados em BAG estão sendo conservados nas regiões de origem, tanto pela conservação genética em reserva, (representada pelo acesso 24), presente em área protegida, com ausência de gado, a mais de 10 anos (Tabela 1), considerada conservação ativa, quanto pela conservação *on farm*, que corresponde ao manejo contínuo de populações de plantas no sistema tradicional, realizado por comunidades locais (pantaneiros), permitindo assim, a conservação dos processos evolutivos e de adaptação das populações. Neste contexto, as tentativas de introduções de espécies exóticas devem ser feitas com critérios técnicos, de preferência em áreas onde não há possibilidade de manejo de espécies forrageiras nativas, pois ainda há pouco conhecimento sobre o real potencial de aproveitamento das espécies nativas.

Os resultados obtidos neste estudo, além de promoverem a valoração e o uso sustentável dos RGVs, contribuem no pré-melhoramento para o reconhecimento dos BAGs, como estruturas importantes para o futuro, pois a suposição básica dos programas de melhoramento genético

vegetal baseia-se na identificação de cultivares superiores a partir da manipulação genética existente no germoplasma de determinada espécie. Dentre os fatores mais importantes para o sucesso desses programas destacam-se a seleção de genótipos e os cruzamentos. Portanto, a eficácia dos cruzamentos, tanto entre variedades e cultivares de uma espécie como entre espécies, depende diretamente da viabilidade do pólen.

Conclusões

Todos os acessos de *Mesosetum chaseae* aqui estudados, apresentaram alto vigor polínico, podendo ser utilizados futuramente nas etapas de pré-melhoramento e melhoramento da espécie.

Agradecimentos

A Embrapa, Fundect e CNPq pelo apoio financeiro e a Fundação Araucária, pela bolsa concedida. A todos os funcionários da fazenda Nhumirim que colaboram na manutenção do Banco de Germoplasma, em especial ao Sr. Nelson Gomes Rodrigues.

Referências

- ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen from fungi, yeast and bacteria. **Stain Technol.**, Baltimore, v. 55, p. 13-18, 1980.
- ALLEM, A. C.; VALLS, J. F. M. **Recursos forrageiros nativos do Pantanal Mato-Grossense**. Brasília: EMBRAPA-DDT. (Brasília: EMBRAPACENARGEN, Documentos, 8), 1987. 339 p.
- POTT, A., POTT, V. J. Flora do Pantanal - listagem atual de fanerógamas. In: Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal, 2, 1999. **Anais...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 1999. p. 297.
- SANTOS, S. A.; COSTA, C.; SOUZA, G. S. Identificação da composição botânica da dieta de bovinos criados em pastagens nativas na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 1648-1662, 2002.
- SANTOS, S. A.; SILVA, L. A. C.; ABREU, U. G. P.; JANK, L.; OGIHARA, K. L.; PARRILI, M.; MATSUHARA, S. A. Avaliação de Descritores Fenotípicos de Populações da Grama-do-cerrado no Pico de Seca, Pantanal. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS, 2, 2009, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2009. Cd-rom.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User's guide**. Version 9.12. Cary: 2009.
- SILVA, L. A. C.; PAGLIARINI, M.S.; SANTOS, S. A.; VALLE, C.B.; JUNK, L. Determinação do número cromossômico e microsporogênese de populações naturais de *Mesosetum chaseae* Luces, gramínea nativa do Pantanal, Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS, 2, 2009, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2009. Cd-rom.
- 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 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa degener*). **Ciência Agrotécnica**, v.26, p.1209-1217, 2002.