



DESIDRATAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN DE DIFERENTES SUBESPÉCIES DE *M. esculenta*.

Renata R. Passos¹, Livia de J. Vieira², Tainan da S. Oliveira³, José Raniere F. Santana⁴, Carlos Alberto da Silva Ledo⁵, Alfredo A. C. Alves⁵ e Fernanda V. D. Souza⁵

¹ Aluna de Bacharel em Ciências Agrárias da Universidade do Recôncavo da Bahia. E-mail: renatarpassos_@hotmail.com

² Aluna de doutorado Biotecnologia - Universidade Estadual de Feira de Santana. E-mail: liviabiol@gmail.com

³ Aluna de Bacharel em Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade do Recôncavo da Bahia. E-mail: tainantso@gmail.com

⁴ Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana. E-mail: jose.raniere@gmail.com

⁵ Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mail: ledo@cnpmf.embrapa.br; alfredoalves3@gmail.com; fernanda@cnpmf.embrapa.br.

Resumo: A assincronia de florescimento é um fator limitante no melhoramento genético de muitas espécies e por isso a importância dos estudos direcionados para a conservação de pólen. Este trabalho teve como objetivo avaliar a tolerância do pólen das subespécies *Manihot esculenta* à desidratação por diferentes períodos de exposição em câmara de fluxo laminar, visando a estratégia de criopreservação. Como material vegetal foram utilizados anteras do acesso de *M. esculenta* (BGM 260), *M. flabelifolia* (FLA 029V-01) e *M. peruviana* (PER 002V), mantidos no Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Para a avaliação da tolerância à desidratação do pólen as anteras foram depositadas em envelopes abertos de papel alumínio e foram submetidas diretamente à exposição por diferentes períodos (15, 20, 25 e 30 minutos). Para avaliação da viabilidade polínica após a desidratação foi utilizado o método de reação fluocromática. O teor de umidade após desidratação variou de 88% (15 minutos de exposição) a 77% (30 minutos de exposição). O teste de viabilidade possibilitou a visualização de tubos polínicos em todos os tratamentos, com exceção dos grãos de pólen desidratados por 30 minutos da subespécie *M. esculenta*. Os resultados apontaram que a medida que o teor de umidade é reduzido, os grãos de pólen das subespécies de *Manihot esculenta* perdem drasticamente a sua capacidade de germinação.

Palavras-chave: polinização, viabilidade polínica, mandioca.

Introdução

A conservação de pólen é importante para subsidiar novos cruzamentos, para pesquisas básicas, assim como para o intercâmbio e preservação de germoplasma (FERES, 2009). Dentre as técnicas de conservação,



somente a criopreservação (armazenamento em nitrogênio líquido a -196°C) pode garantir um armazenamento de germoplasma em longo prazo. Protocolos de criopreservação de pólen de diversas espécies como *Mangifera indica*, *Carica papaya*, *Carica cauliflora*, *Citrus limon*, *Vitis vinifera*, *Vitis labrusca*, entre outra, já foram estabelecidos (SHIVANNA & SAWHNEY, 1997). O sucesso da conservação do pólen depende de vários fatores, como o estágio fisiológico da flor, a temperatura e umidade relativa do ambiente de armazenamento, assim como do grau de umidade do grão de pólen (GIORDANO et al., 2003). A desidratação é uma das etapas de maior importância nos sistemas experimentais utilizados na criopreservação, sendo que o teor de umidade da célula tem que compreender uma taxa específica capaz de garantir a integridade celular no ultracongelamento e na reidratação sem comprometer as funções celulares. Neste sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes tempos de exposição em câmara de fluxo laminar para a desidratação de grãos de pólen de mandioca como estudo preliminar para os trabalhos de criopreservação de pólen de mandioca.

Material e Métodos

Como material vegetal foram utilizadas anteras do acesso de *Manihot esculenta* spp. *esculenta* (BGM 260), *Manihot esculenta* spp. *flabelifolia* (FLA 029V-01) e *Manihot esculenta* spp. *peruviana* (PER 002V), mantidos no Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura. As flores foram coletadas durante a antese e levadas ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais. Para a avaliação da tolerância do pólen à desidratação, anteras de cada subespécie foram depositadas em envelopes abertos de papel alumínio e submetidas diretamente à exposição em câmara de fluxo laminar por diferentes períodos (15, 20, 25 e 30 minutos). Foram utilizados 50 anteras para cada tratamento. Como controle da viabilidade polínica foram utilizadas anteras sem desidratação.

Determinou-se o grau de umidade do grão de pólen na base úmida para todos os tratamentos, adotando a mesma metodologia utilizada para determinação do grau de umidade de sementes (BRASIL, 1992). Para avaliação da viabilidade polínica após a desidratação foi utilizado o método de reação fluorométrico. Para visualização dos tubos polínicos os estigmas foram depositados em lâminas de vidro, com três gotas do corante anilina azul e cobertos com lamínulas de vidro. As lâminas foram levadas ao microscópio óptico de fluorescência OLYMPUS U-RFL-T.

Resultados e Discussão

O teor de umidade após desidratação variou de 88% (após 15 minutos de exposição) a 77% na subespécie (após 30 minutos de exposição). Os resultados da viabilidade polínica obtidos pelo método

de reação fluorocromática mostrou grande variação entre os tratamentos nas três sub-espécies avaliadas e possibilitou a visualização de tubos polínicos em todos os tratamentos, com exceção dos grãos de pólen desidratados por 30 minutos da subespécie *M. esculenta* (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1. Teor de umidade - TU (%) e porcentagem de pólen viável (PV) de grãos de pólen de diferentes subespécies de *Manihot* após diferentes períodos de exposição em câmara de fluxo laminar.

| Tempo de Exposição | <i>M. esculenta</i> | | <i>M. flabellifolia</i> | | <i>M. peruviana</i> | |
|--------------------|---------------------|----|-------------------------|----|---------------------|----|
| | TU(%) | PV | TU(%) | PV | TU(%) | PV |
| 0 minuto | 100 | 71 | 100 | 81 | 100 | 78 |
| 15 minutos | 88 | 33 | 88 | 72 | 82 | 27 |
| 20 minutos | 81 | 20 | 83 | 28 | 84 | 36 |
| 25 minutos | 83 | 38 | 78 | 27 | 80 | 38 |
| 30 minutos | 78 | 0 | 77 | 3 | 79 | 14 |

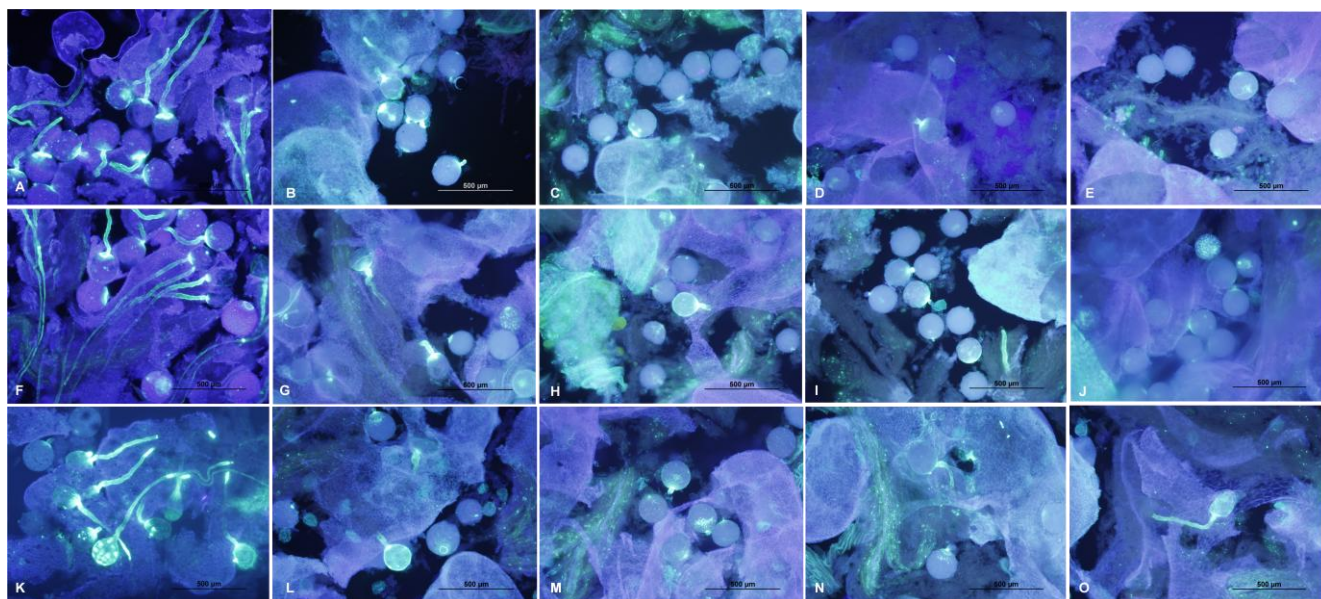


Figura 1. A – Pólen de *M. esculenta* controle (sem desidratação); B – pólen após 15 minutos de desidratação; C – pólen após 20 minutos de desidratação; D - pólen após 25 minutos de desidratação e E - pólen após 30 minutos de desidratação. F – Pólen de *M. flabellifolia* controle (sem desidratação); G – pólen após 15 minutos de desidratação; H - pólen após 20 minutos de desidratação; I - pólen após 25 minutos de desidratação e J - pólen após 30 minutos de desidratação. K – Pólen de *M. peruviana* controle (sem desidratação); L – pólen após 15 minutos de desidratação; M - pólen após 20 minutos de desidratação; N - pólen após 25 minutos de desidratação e O - pólen após 30 minutos de desidratação.

Os resultados mostram que mesmo no tratamento controle não há 100% de polens viáveis, o que pode estar relacionado a diferentes fatores, como etapa do desenvolvimento floral, hora de coleta,



temperatura, etc. Por outro lado, à medida que se submete o pólen ao tratamento de desidratação, a viabilidade cai drasticamente, comprometendo severamente qualquer tentativa de conservação, nestas condições. Prováveis danos à membrana, causados pelo tratamento de desidratação, podem estar relacionados e esta queda abrupta da viabilidade com a manutenção de um teor de umidade considerado ainda relativamente alto. Diferenças entre as três espécies foram observadas, sendo a *M. flabellifolia* mais resistente à desidratação, pelo menos nos primeiros 15 minutos e *M. esculenta* mais susceptível ao tratamento de 30 minutos e a *M. peruviana*, que apesar da queda de viabilidade aos 15 minutos ter sido a mais marcante, foi das três variedades, a que se manteve com índices de viabilidade mais estáveis entre os três últimos tempos de desidratação.

Conclusão

Os acessos de *M. esculenta* avaliados neste trabalho demonstraram-se pouco tolerantes à desidratação já no tempo mínimo de 15 minutos proposto no trabalho, demandando estudos relativos a estrutura da membrana do pólen da mandioca, assim como novas estratégias de desidratação para subsidiar sua conservação.

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa concedida à L. de J. Vieira e ao CNPq pela bolsa concedida à T. da S. Oliveira.

Referências Bibliográficas

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- FERES, J. M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.**: Implicações para a conservação. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) –Universidade de São Paulo, 2009.
- GIORDANO, L. B. ARAGÃO, F. A. S., BOITEUX, L. S. **Melhoramento genético do tomateiro**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 24, n.219, p. 43-57, 2003.
- SHIVANNA, K. R.; SAWHNEY, V. K. **Pollen biotechnology for crop production and improvement**. SHIVANNA, K. R.; CRESTI, M.; CIAMPOLINI, F. (ed), Pollen development and pollen-pistil interaction. Cambridge. p. 15-39. 1997.