



ANAIS - II CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS

11-SESSÃO PÔSTER 01

25/09/2012 17:30-18:30

CAMAROTE A/B

[Trabalho 60]

CONSERVAÇÃO DE PÓLEN DE CANA-DE-AÇÚCAR

ADRIANE LEITE DO AMARAL;

EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS, MACEIO, AL, BRASIL;

adriane.amaral@embrapa.br

Resumo: A conservação de pólen tem aplicações importantes no melhoramento genético de cana-de-açúcar. Entre as diversas aplicações, a realização de cruzamentos entre variedades assincrônicas no florescimento possibilita a exploração de novas combinações genéticas, isoladas pelas diferentes épocas de floração. Com o objetivo de viabilizar a realização de cruzamentos entre variedades assincrônicas no florescimento foi desenvolvida metodologia para coleta e conservação de pólen de cana-de-açúcar. A pesquisa foi conduzida em parceria entre Embrapa-Ridesa na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, em Murici (AL) e em laboratórios, pertencentes à Embrapa Tabuleiros Costeiros e ao Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar, localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Os grãos-de pólen foram conservados com controle de temperatura (Freezer a -18°C) e com redução de umidade (20% de teor de água). Quando analisada a *viabilidade in vivo*, através de cruzamentos com pólen armazenado por 30-60 dias, foram obtidas mais de uma centena de plantas (139). Parte destas plantas foram submetidas a Teste de Paternidade (19) e confirmaram a origem de pólen conservado (6). Estes resultados demonstram que é possível armazenar e manter viável o pólen de cana-de-açúcar para realizar cruzamentos entre variedades assincrônicas no florescimento em Alagoas/Brasil.

Palavras-chave: grãos-de-pólen, *Saccharum* spp., viabilidade polínica

Introdução

A conservação de grãos de pólen é uma ferramenta importante nos programas de melhoramento genético de plantas porque permite preservar a viabilidade dos gametas masculinos por longos períodos, sob condições artificiais. Entre as diversas aplicações da conservação de pólen de cana, pode-se considerar a realização de cruzamentos sem sincronia floral, para explorar novas combinações genéticas; a possibilidade de formar bancos de pólen, sendo esta uma nova proposta para intercâmbio e conservação de germoplasma *ex situ*; além da aplicação em ferramentas biotecnológicas, como a transformação genética. Em cana-de-açúcar, ainda não foi desenvolvido um protocolo para conservação e armazenagem de pólen que seja de ampla utilização e capaz de suprir a demanda de cruzamentos entre variedades com ausência de sincronia no florescimento (Alellyx Applied Genomics, 2008). São raros os estudos com pólen de cana-de-açúcar. Estudos iniciais com preservação de pólen de cana, publicados por Sartoris (1942) e King (1945), não apresentaram resultados expressivos e, de acordo com Krishnamurth (1977) também não permitiram repetibilidade. Estudo mais recente que demonstra a possibilidade de armazenar pólen de cana, ficou restrito a períodos curtos de até 14 dias (4°C e 90-100% UR) com baixa viabilidade do pólen (3-22%)(Moore & Nuss, 1987). Esta baixa eficiência na conservação do pólen vem inviabilizando a aplicação dessa técnica em programas de melhoramento genético. Devido a isso, esta pesquisa teve como objetivo o desenvolvimento de metodologia de coleta e conservação de pólen de cana-de-açúcar que viabilize cruzamentos entre variedades assincrônicas no florescimento.

Material e Métodos

Os grãos de pólen de cana-de-açúcar foram coletados durante o período de floração de abril a julho de 2009, na Estação de Floração e Cruzamentos de cana-de-açúcar da Ridesa, localizada na Serra do Ouro (09°13'S;35°50'W) com altitude de 450m e distante do litoral 34km, em Murici (AL).

Para obtenção do pólen foram utilizadas as inflorescências de quatro variedades assincrônicas, NCO 310 (precoce); PO79-87 e Mex52-17 (intermediarias) e RB 95-64 (tardia). As inflorescências foram colhidas na medida em que atingiram o estágio de

antese. Foram coletadas 10 panículas/variedade nas primeiras horas da manhã (antes das 7 horas). Para a extração dos grãos de pólen, as panícula foram agitadas e friccionadas dentro dos sacos de papel e os mesmos, com presença de algumas anteras, foram imediatamente acondicionados em frascos plásticos com tampa rosca (80mL).

Para a desidratação em pré-armazenagem, foi utilizado sílica gel azul, com capacidade de adsorção de até 30% de seu peso em água. A desidratação ocorreu por um período de 2 horas em geladeira (4°C), em momento anterior a estocagem no freezer. Para avaliar a viabilidade dos grãos de pólen foram utilizados análises citológicas, mediante coloração com solução de Lugol. A viabilidade do pólen foi aferida aos 30 e 60 dias após a armazenagem.

Após o teste de viabilidade foram realizados cruzamentos artificiais do tipo biparental. Como genitores masculinos foram utilizados os pólen armazenados por 30 e 60 dias em freezer e com desidratação em sílica e, como genitores femininos, as variedades com florescimento tardio e que apresentavam flores com estigmas receptivos (RB 011595, RB 966927, RB 01465 , H 73-852 e CP 69). Para cada genitor feminino, um mínimo de 4 panículas, em colmos de 3m de comprimento, foram mantidos imersos em Solução Nutritiva de *Mangelsdorf* com reposição diária de nutrientes para a realização dos cruzamentos (Cesnick & Míocque, 2004). Para tanto, quatro panículas com estigmas receptivos/variedade foram polinizadas com amostras de pólen armazenado, mediante uso de pincéis. Imediatamente à polinização, as panículas foram cobertas com campânulas e mantidas dentro da mata, por 20 dias, para favorecer a ocorrência de fertilização-fecundação. Para o desenvolvimento e maturação das sementes foram esperados 15 dias da fertilização. As sementes foram secas e mantidas em câmara fria até a semeadura. Uma amostra de 2g sementes/variedade foi semeada em caixas com substrato. Cerca de 40 dias após a semeadura foram avaliados o número de plantas desenvolvidas a partir do cruzamento com pólen armazenado. Uma amostra de plantas foram submetidas a teste de paternidade, com marcadores moleculares do tipo microssatélites.

Resultados e Discussão

Os pólen das quatro variedades de cana-de-açúcar se mantiveram viáveis, de 20 a 70%, quando armazenados por períodos de 30 a 60 dias (Tabela 1). Cruzamentos com polens armazenados por 30 e 60 dias, resultaram na obtenção de mais de uma centena

de plantas (n=139). Parte das plantas obtidas foram submetidas a Teste de Paternidade (n=19) e confirmaram a origem de pólen conservado (n=6). Estes resultados comprovam que é possível armazenar e manter viável o pólen de cana-de-açúcar quando a finalidade é realizar cruzamentos entre variedades assincrônicas no florescimento em Alagoas/Brasil.

Tabela 1. Obtenção de plantas via cruzamentos, com pólen desidratado e conservado em freezer, durante 30 e 60 dias. Rio Largo – AL, 2011.

Genitores		Pólen			Plantas	
fêmea	macho	Viabilidade ¹	Conservação ²	Germinadas	teste paternidade	origem confirmada
RB011595	NCO 310	50%	60 dias	2	1	1
RB 966927	PO 79-87	70%	30 dias	62	4	2
RB 01465	Mex 52-17	65%	30 dias	30	3	1
H 73-852	Mex 52-17	65%	30 dias	39	11	2
CP 69	RB 95-64	20%	30 dias	4	0	0
Total	-	-	-	137	19	6

¹Viabilidade em Lugol no momento do cruzamento (com 30 ou 60 dias de conservação)

²Tempo de armazenamento em freezer

Conclusão

A metodologia de conservação de pólen de cana-de-açúcar permite manter a viabilidade para a realização de cruzamentos entre variedades assincrônicas no florescimento.

Agradecimentos

Técnicos agrícolas do CECA-UFAL/RIDESAL e aos funcionários da Estação de Cruzamentos da Serra do Ouro/RIDESAL. Suporte financeiro: Embrapa

Referências Bibliográficas

ALELLYX APPLIED GENOMICS. Informações relevantes sobre a cana-de-açúcar para a regulamentação de variedades transgênicas, **White Paper Sugarcane-Allelyx**. 43p. 2008. <https://portal.ilsa.org/rf/scientific/BrasilDocuments/Shared%20Documents/Workshop%20Documents/White%20Paper%20sugarcane.pdf> (Acesso: junho 2011).

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da cana-de-açúcar**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 307 p.

KRISHNAMURTHI, M. 1977. The sugar cane pollen. **In: CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS**, 16, **Proceedings...** Brasil, ISSCT Impress, p.157-164, 1977.

MOORE, P.H; NUSS, K.J. Flowering and flower synchronization. **In:** "Sugarcane improvement through breeding". D.J. HEINZ, ed. Elsevier, Amsterdam. P. 273-311. 1987.