



AVALIAÇÃO DA PEROXIDASE COMO INDICATIVO DE VIABILIDADE DO PÓLEN DE *GOSSYPIUM* SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXPOSIÇÃO AO SOL

Laísa Nogueira Allem¹; Amanda Alves Branquinho²; Guilherme da Silva Pereira³;
Lucia Vieira Hoffmann⁴; Paulo Augusto Vianna Barroso⁴

¹ Bolsista DTI Embrapa Algodão, laisabio@yahoo.com.br; ² Bolsista CNPQ Embrapa Algodão;
³ Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas ESALQ-USP; ⁴ Embrapa Algodão

RESUMO- As mudanças climáticas têm ocasionado o aumento da temperatura terrestre, uma das causas do chamado aquecimento global. Tal fenômeno pode ocasionar impactos na agricultura, pois várias espécies de plantas podem ter restrição de produtividade devido à diminuição da quantidade de grãos de pólen viáveis. Métodos que determinam a viabilidade do pólen podem ser importantes se forem práticos e permitirem a avaliação de genótipos quanto à resistência ao estresse térmico, útil em programas de melhoramento genético. O presente estudo teve como objetivo comparar genótipos de algodão quanto à viabilidade do pólen, utilizando um substrato da enzima peroxidase, para comparação de flores diretamente expostas ao sol, sujeitas a um maior aquecimento, com flores sombreadas. Os polens viáveis mostravam-se escuros em observação ao microscópio ótico, devido à atuação da enzima presente nos grãos de pólen. Para o dia mais quente foi constatada diferença significativa entre a viabilidade do pólen em ambos os tratamentos, mas não para os dias mais frios. O uso dos substratos de peroxidases/ mieloperoxidase p-fenilendiamina diHCL e catecol é eficiente para indicar viabilidade de polens de algodão, com indicativo de que possa, inclusive, demonstrar a perda de viabilidade devido ao aquecimento por exposição ao sol.

Palavras-chave: Algodão, aquecimento global, peroxidase, pólen.

INTRODUÇÃO

Segundo estudos, a temperatura do planeta deve aumentar entre 1,4 °C e 5,8 °C nos próximos 100 anos, sendo que as mudanças climáticas originadas pelo acúmulo de gases de efeito estufa podem acarretar impactos na agricultura (PINTO, 2004).

O estresse térmico leva a alterações fisiológicas nas plantas, podendo reduzir seu crescimento e produtividade (SILVA, 2000). Trabalhos indicam que a antese é a fase mais sensível da planta, dessa forma, o aumento da temperatura pode ocasionar queda da fertilidade da flor (WALTER, 2010), sendo que resultados de pesquisas demonstram que temperaturas de 40 °C reduzem significativamente a viabilidade do pólen (PARZIES et al., 2005).

Neste contexto de aquecimento global, métodos que determinam viabilidade de pólen são úteis por permitirem avaliação de vários genótipos quanto à resistência ao estresse térmico, o que pode ser utilizado em programas de melhoramento genético (SILVA, 2000).

Neste trabalho comparou-se cinco genótipos de algodão quanto à viabilidade do pólen em flores diretamente expostas ao sol e em flores protegidas da luminosidade solar direta, para uma possível inferência de um genótipo mais resistente a altas temperaturas.

METODOLOGIA

Flores expostas e protegidas do sol de cinco genótipos de algodão (Roceis Texacala, BJ 3125, MC Nair 220, Mebane B-1 e Big MX) foram coletadas entre 9 e 10 horas da manhã no plantio do campo da Fazenda Capivara em Santo Antônio de Goiás e acondicionadas em sacos de papel até o laboratório, onde o pólen foi espalhado em lâminas de microscópio. Este procedimento foi realizado em cinco dias diferentes.

O teste utilizado para análise da viabilidade dos grãos de pólen foi o descrito por Rodriguez-Riano e Dafni (2000), com modificações, que detecta a presença da mieloperoxidase. A solução é composta por um reagente indicador de peroxidase (p-fenilenodiamina diHCL e catecol, Sigma 390-1) e 200 µL de peróxido de hidrogênio 3% (diluído em tampão fosfato salino pH 7.4) adicionado a tampão Triz HCl diluído em água destilada 1:9 (pH 6.3). A solução foi pré-aquecida à 37 °C e então adicionada 120 µL por lâmina. Após quatro minutos foi feita a contagem dos grãos de pólen em microscópio ótico Zeiss com aumento de 30 vezes, onde se observou a diferença de coloração.

Para validação da metodologia foi feito um teste com grãos de pólen mortos (colhidos com 30 horas de antecedência) e grãos de pólen frescos, com a finalidade de avaliar diferenças na coloração.

As análises estatísticas das porcentagens obtidas foram baseadas em testes paramétricos e não-paramétricos, dependendo dos resultados obtidos. Para dados paramétricos foi utilizada a análise da variância (ANOVA) comparando-se as médias usando o teste de Tukey a 5%. Já para os dados não-paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis comparando-se as médias usando o teste Student-Newman-Keuls a 5% de probabilidade. O programa estatístico utilizado para as análises foi o BioEstat 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os polens mortos não apresentaram coloração pelo substrato da mieloperoxidase e os vivos sim, apresentando-se pretos quando observados ao microscópio ótico, na validação inicial. A

média de viabilidade do pólen entre as variedades foi de 88% para as flores expostas e para as protegidas foi de 90%.

Sabe-se que a exposição das plantas a elevadas temperaturas do solo e do ar resultam numa redução no seu crescimento, desenvolvimento e produtividade (BURKE et al., 2004). Segundo dados da estação meteorológica da Embrapa Arroz e Feijão, as temperaturas registradas nos dias de experimento variaram entre 19,6 °C e 25 °C. O primeiro dia de análise apresentou a temperatura mais alta e os resultados apontaram diferença significativa entre a viabilidade de polens em flores expostas e protegidas do sol, enquanto nos demais dias não foi observada diferença estatística (Gráfico 1). Sugere-se que o resultado observado tem forte relação com a temperatura, visto que para os experimentos foram utilizados os mesmos genótipos em diferentes dias, minimizando a possibilidade de esta diferença estar relacionada aos genótipos analisados primeiramente.

Considerando todos os dias de experimento, não se detectou diferença significativa entre os genótipos para os tratamentos (exposta e protegida), não podendo inferir, portanto, um genótipo mais resistente ao estresse térmico. Quando analisadas flores expostas e protegidas dentro de cada genótipo também não foi constatada diferença estatística.

Para flores expostas ao sol a viabilidade do genótipo Roceis Texacala variou entre 71% e 97%, no genótipo BJ 3125 entre 57% e 98%, no genótipo MC Nair 220 entre 47% e 98%, no genótipo Mebane B-1 entre 67% e 96% e no genótipo Big MX entre 89% e 100% (Gráfico 2).

Nas flores protegidas do sol no genótipo Roceis Texacala a viabilidade dos grãos de pólen variou entre 82% e 100%, no genótipo BJ 3125 entre 57% e 99%, no genótipo MC Nair 220 entre 75% e 96%, no genótipo Mebane B-1 entre 79% e 99% e no genótipo Big MX entre 78% e 100% (Gráfico 2).

Em outros estudos a viabilidade do pólen sob diferentes temperaturas também foi avaliada. Segundo Walter et al. (2010), a temperatura crítica, acima da qual a esterilidade de espiguetas de arroz começa a aumentar, fica entre 33 e 34 °C. Em *Hordeum sp* (PARZIES et al., 2005) a viabilidade do pólen foi significativamente superior quando a 20 °C em comparação a 40 °C.

Este teste mostrou-se de execução bem mais simples que a verificação da germinação dos polens em meio de cultura em diferentes temperaturas (PEREIRA et al., 2009), e mede a sensibilidade à temperatura em uma fase diferente, que é a formação do grão.

CONCLUSÃO

O uso dos substratos de peroxidases/ mieloperoxidase p-fenilendiamina diHCL e catecol é eficiente para indicar viabilidade de polens de algodão, com indicativo de que possa, inclusive, demonstrar a perda de viabilidade devido ao aquecimento por exposição ao sol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BURKE, J. J.; VELTEN, J.; OLIVER, M. J. In Vitro Analysis of Cotton Pollen Germination. **Agronomy Journal**, v. 96, p. 359-368, 2004.

PARZIES, H. K.; SCHNAITHMANN, F.; GEIGER, H. H. Pollen viability of *Hordeum spp* genotypes with different flowering characteristics. **Euphytica**, v. 145, p. 229–235, 2005.

PEREIRA, F. R. A; MIGLIORE, L. D. S.; LUCENA, M. G.; HOFFMANN, L.V.; LUCENA, V. S.; CARVALHO, L. P. Avaliação da viabilidade de pólen de *Gossypium* como possível indicativo de tolerância a altas temperaturas por meio da germinação *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. **Sustentabilidade da cotonicultura brasileira e expansão dos mercados: anais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. p. 1437-1442,

PINTO, H. S.; ASSAD, E. D.; LUCHIARI, J. R. E. O aquecimento global e a agricultura. **Saneas**, p. 34-37, ago., 2004.

RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to assess pollen viability. **Sex Plant Reproduction**, v. 12, p. 241–244, 2000.

SILVA, S. C. T. F.; LEITE, I. C.; BRAZ, L.T. Avaliação da viabilidade do pólen como possível indicativo de tolerância a altas temperaturas em genótipos de tomateiro. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 2, p. 156-165, 2000.

WALTER, L. C.; STRECK N. A.; ROSA H. T.; KRUGER, C. A. M. B. Mudança climática e seus efeitos na cultura do arroz. **Ciência Rural**, v. 40, n. 11, p. 2411-2418, nov., 2010.

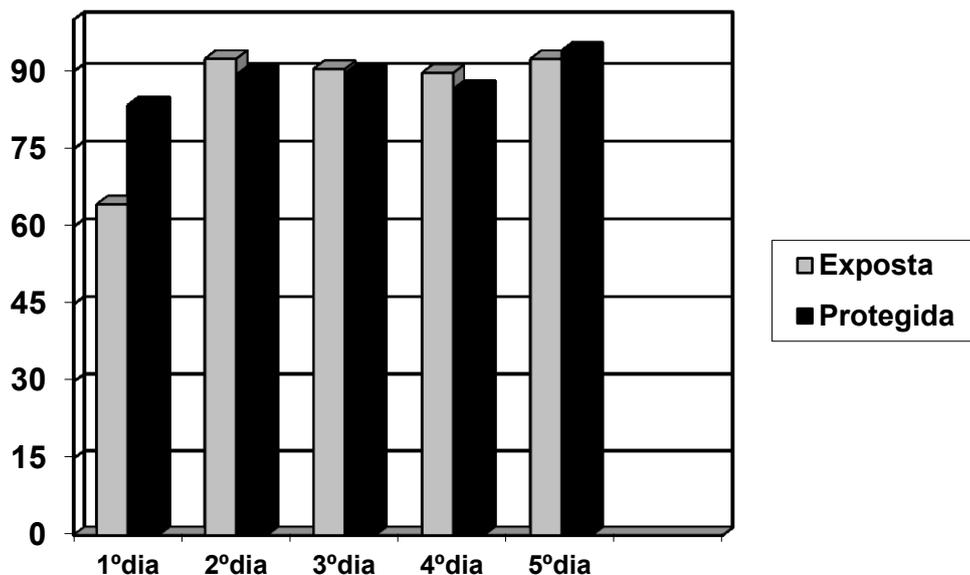


Gráfico 1- Média da viabilidade do pólen (%) entre os tratamentos nos diferentes dias/ temperatura analisados. Temperaturas: 1º dia: 25 °C, 2º dia: 22,1 °C, 3º dia: 22 °C, 4º dia: 20,6 °C, 5º dia: 19,6 °C.

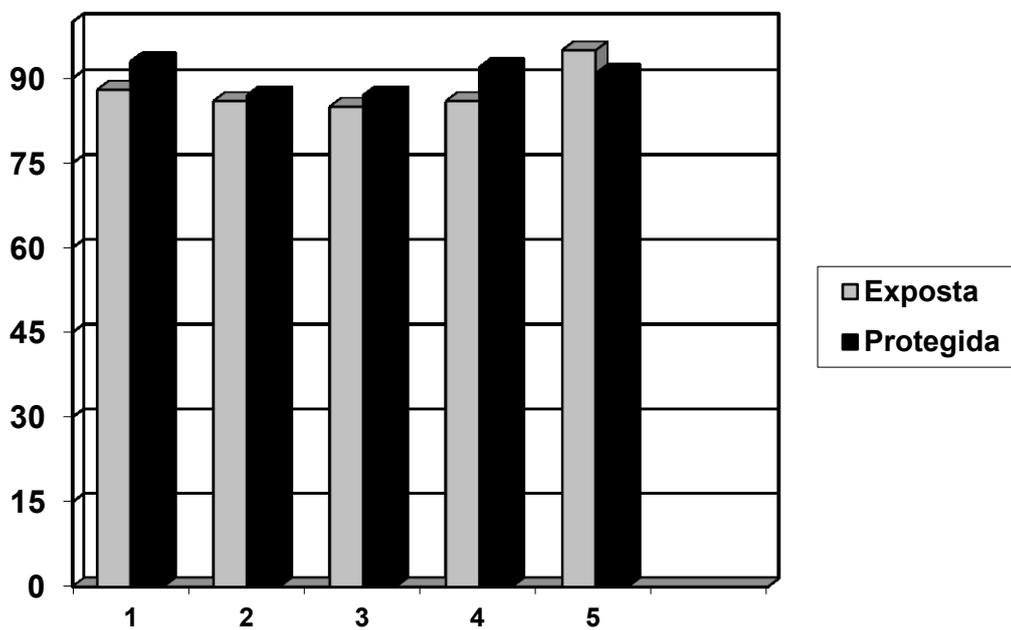


Gráfico 2- Comparação entre médias da viabilidade do pólen (%) entre os genótipos de flores expostas e protegidas do sol. 1- Roceis Texacala; 2- BJ 3125; 3- MC Nair 220; 4- Mebane B-1; 5- Big MX.