

Conservação de Grãos de Pólen de Coqueiro em Diferentes Condições de Armazenamento

Caroline de Araujo Machado¹; Catrine Regina Feitosa Moura²; Ana da Silva Léo³; Semíramis Rabelo Ramalho Ramos⁴; Francisco Elias Ribeiro⁵

Resumo

O armazenamento do grão de pólen, além de possibilitar o cruzamento entre cultivares de ciclos diferentes, permite a perpetuação de populações de plantas macho-estéreis, utilizadas na formação de híbridos. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes condições de temperatura a longo prazo para o armazenamento de grãos de pólen dos acessos de coqueiro AVC e GPY. Foram selecionadas plantas com sete anos de idade dos acessos de coqueiro: AVC e GPY, do BAG de Coco da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Os grãos de pólen foram liberados das flores masculinas foram coletados do recipiente e acondicionados em criotubos para conservação de os grãos de pólen dos acessos e foram armazenados em diferentes de condições de armazenamento. O armazenamento foi realizado em diferentes condições de armazenamento: geladeira a -4 °C, freezer a -20 °C, freezer a -80 °C e nitrogênio líquido -196°C por 730 dias. Foi determinada a viabilidade dos grãos de pólen utilizando o corante carmim acético 1% e germinação in vitro em meio de Lora. Houve diferença significativa entre as condições de armazenamento, Sendo que o grão de pólen armazenado nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C obtiveram as melhores porcentagens de viabilidade por corante para os dois acessos. A melhor condição de armazenamento aos 730 dias para os acessos de coqueiro AVC e GPY é de -80 °C por germinação do tubo polínico. Nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C ambos os acessos apresentam maior viabilidade por corante carmim acético a 1%. O acesso GPY

¹ Bióloga, mestre em Agroecossistemas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, camachado1@hotmail.com.

² Engenheira-agrônoma, mestre em Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, catrinefeitosa@hotmail.com.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

⁴ Engenheira-agrônoma, doutora em Melhoramento Genético de Plantas, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, semiramis.ramos@embrapa.br.

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, elias.ribeiro@embrapa.br.

apresenta maior viabilidade após 730 dias de conservação por germinação do tubo polínico.

Palavras-chave: *Cocos nucifera* L., recursos genéticos, conservação.

Introdução

A introdução do coqueiro no Brasil e sua adaptação aos solos arenosos da costa brasileira permitiu o surgimento de uma classe produtora, ocupando um ecossistema com poucas possibilidades de outras explorações comerciais, cuja cadeia produtiva é muito diversificada e de grande significado social (SIQUEIRA et al., 2002).

O armazenamento do grão de pólen possibilita o cruzamento entre cultivares de ciclos diferentes, permite a perpetuação de populações de plantas macho-estéreis, utilizadas na formação de híbridos. Fatores como a duração do tempo de receptividade do estigma, longevidade do grão de pólen na planta, diferenças no período de florescimento entre plantas macho-férteis e macho-estéreis e conservação dos recursos genéticos são alguns aspectos que reforçam a importância da preservação da viabilidade de grãos de pólen durante o armazenamento, sob condições artificiais (GANESHAN, 1986).

Para o sucesso do armazenamento a médio e longo prazos, é necessário o domínio de técnicas de coleta, secagem, armazenamento e testes de viabilidade do pólen. Para isso, metodologias referentes a estas técnicas devem ser desenvolvidas, visto que cada espécie se porta diferentemente frente aos referidos processos, o que pode comprometer a viabilidade do pólen (SOUSA et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes condições de armazenamento a longo prazo de grãos de pólen dos acessos de coqueiro anão vermelho de Camarões - AVC e gigante da polinésia - GPY.

Material e Métodos

Foram selecionadas plantas com sete anos de idade dos acessos de coqueiro: anão vermelho de Camarões (AVC) e Gigante da Polinésia (GPY), do BAG de Coco da Embrapa Tabuleiros Costeiros, situado no campo experimental de

Itaporanga, localizado em Itaporanga d'Ajuda-SE. Em cada planta matriz foi marcada uma espata próxima à maturação e antes da sua abertura as mesmas foram retiradas das plantas e armazenadas em recipiente plástico. Os grãos de pólen foram liberados das flores masculinas foram coletados do recipiente e acondicionados em criotubos para conservação de os grãos de pólen dos acessos GPY e AVC foram armazenados em diferentes de condições de armazenamento. O armazenamento foi realizado em diferentes temperaturas: -4 °C, -20 °C, -80 °C e -196°C. A viabilidade dos grãos de pólen foi avaliada por corante carmin acético a 1% e pela germinação in vitro utilizando o meio de Lora (LORA et al., 2006), depois de 730 dias de armazenamento. Para a avaliação da viabilidade por corante, uma amostra do pólen foi colocada em lâmina acrescentando-se uma gota de carmin acético 1% e homogeneizando-a. Em seguida, a lâmina foi colocada em placa de Petri e mantida em incubadora biológica por 25 a 30 minutos em temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Em microscópio Leica DMLS, objetiva 10x, as lâminas foram analisadas quanto ao número de grãos viáveis e inviáveis por quadrante. Foram considerados como grãos de pólen viáveis aqueles corados de vermelho (pela reação da presença de atividade enzimática) e com paredes intactas e como não viáveis os incolores ou corados de vermelho com ruptura das paredes. Para o cálculo da porcentagem foi considerada a seguinte fórmula: Viabilidade do pólen (%) = N° de grãos corados/ N° de grãos contados x 100.

O delineamento experimental de cada ensaio de seleção de meio de cultura foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 (quatro condições de armazenamento x 2 acessos de coqueiro) e três repetições. As médias da viabilidade dos grãos de pólen dos ensaios foram submetidas à análise da variância pelo teste de Tukey 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

Houve diferença significativa entre as condições de armazenamento (Tabela 1). Sendo que o grão de pólen armazenado nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C obtiveram as melhores porcentagens de viabilidade por corante para os dois acessos.

Tabela 1. Viabilidade por corante aos 730 dias de acessos de coqueiro AVC e GPY em diferentes condições de armazenamento. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.

Condições de armazenamento	AVC	GPY
Geladeira a -4°C	86,58 aA	80,57 aA
Freezer a -20 °C	86,05 aA	70,48 aB
Freezer a -80 °C	88,45 aA	89,96 bA
Nitrogênio Líquido a -196 °C	65,71 bA	65,71 cA
CV (%)	4,48	

Médias seguidas por letras maiúsculas na coluna e minúsculas na coluna e nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

De acordo com Sousa (2002), valores acima de 70% são considerados como alta viabilidade do pólen, de 31 a 69% como média e até 30%, baixa. Pelo método de corante todas as condições de armazenamento apresentaram alta viabilidade, entretanto pela germinação do tubo polínico (Tabela 2) a viabilidade foi média nas condições de armazenamento de -4 °C, -20 °C e 80 °C foram altas e para -196 °C foram as mais baixas. A temperatura de -80 °C para ambos os acessos (Tabela 2), foi a que possui maior porcentagem de germinação. Para o acesso GPY, as melhores temperaturas de armazenamento é -20 e -80 °C.

Tabela 2. Viabilidade por germinação *in vitro* do tubo polínico aos 730 dias de acessos de coqueiro AVC e GPY em diferentes condições de armazenamento. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013.

Condições de armazenamento	AVC	GPY
Geladeira a -4°C	0 cA	0 cB
Freezer a -20 °C	0 cA	63,60 bA
Freezer a -80 °C	18,41 aA	78,81 aA
Nitrogênio Líquido a -196 °C	3,02 bA	19,84 cA
CV (%)	21,69	

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

Conclusões

A melhor condição de armazenamento aos 730 dias para os acessos de coqueiro AVC e GPY é de -80 °C por germinação do tubo polínico. Nas temperaturas de -4 °C, -20 °C e -80 °C ambos os acessos apresentam maior viabilidade por corante carmim acético a 1%. O acesso GPY apresenta maior viabilidade após 730 dias de conservação por germinação do tubo polínico.

Agradecimentos

A Embrapa, Bioversity Internacional/COGENT e PROBIO/MMA pelo aporte de recursos financeiros e a CAPES pela concessão de bolsa de mestrado.

Referências

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GANESHAN, S. Viability and fertilizing capacity of onion pollen (*Allium cepa* L.) stored in liquid nitrogen (-196°C). **Tropical Agricultural**, London, v. 63, n. 1, p. 46-48, 1986.

SIQUEIRA, L. A., ARAGÃO, W. M., TUPINAMBÁ, E. A. **A introdução do coqueiro no Brasil, importância histórica e agrônômica**. 2002. 24 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 47). Disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>>.

SOUSA, V. A.; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação in vitro do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham) **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 147-151, 2010.

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 e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1209-1217, 2002.

OETTERER, M.; SARMENTO, S. B. S. Propriedade dos açúcares. In: OETTERER, M.; REGISTRANO D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. p. 135-564.

PAIVA, M. C. et al. Caracterização química dos frutos de quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 57-63, 1997.

STOVER, R. H; SIMMONDS, N. W. **Bananas**. 3. ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1987.

TREVELYAN, W. E.; FORREST, R. S.; HARRISON, J. S. Determination of yeast carbohydrates with the anthrone reagent. **Nature**, London, v. 11, n. 170, p.626-7, 1952.