

Viabilidade de grãos de pólen de *Paspalum notatum* armazenados em nitrogênio líquido

Naiana B. Dinato¹, Izulmé R. I. Santos², Eduardo Leonardez Neto³, Ailton F. de Paula¹, Alessandra P. Fávero⁴

1. Estudante de Pós - graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular - UFSCar; *nanadinato@hotmail.com

2. Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Brasília/DF

3. Professor Doutor do departamento de Genética e Evolução da UFSCAR – São Carlos/SP

4. Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos/SP

Palavras Chave: *Paspalum*, desidratação, grãos de pólen, nitrogênio líquido

Introdução

O gênero *Paspalum* tem um grande potencial para ser utilizado em programas de melhoramento para produção de forrageiras. Contudo, muitas espécies apresentam dessincronia de florescimento, inviabilizando assim a utilização das mesmas em cruzamentos intra e interespecíficos. Para evitar essa situação, é indicada a criopreservação de grãos de pólen, visando a manutenção da viabilidade dos gametas masculinos por diferentes períodos. A viabilidade do pólen pode ser influenciado por fatores fisiológicos, genéticos, físicos e pelas condições de armazenamento, como temperatura e umidade. A longevidade do grão de pólen está relacionada também com o teor de água, pois este influencia na conservação e armazenamento do mesmo. Dado que quando a temperatura é sub-zero, a célula atinge um super-resfriamento, formando cristais de gelo no meio intracelular e extracelular que causam danos às células (2). Portanto, é necessário reduzir o teor de água para contribuir também na redução da atividade metabólica e ação microbiana (3). Vários métodos são utilizados para a redução do teor de água dos grãos de pólen, como o uso de sais saturados (LiCl, MgCl₂, NaOH, Mg(NO₃)₂, NH₄NO₃ e KCl), sílica gel e dissecação à vácuo. Segundo Connor e Towill (1993), os grãos de pólen podem sobreviver aos procedimentos de secagem e respondem com sucesso ao armazenamento em temperaturas de - 80°C e a - 196°C, se a umidade for mantida dentro de certos limites. Esse trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade de grãos de pólen de *Paspalum notatum* desidratados com sais saturados e sílica gel e armazenados em nitrogênio líquido (- 196°C).

Resultados e Discussão

O estudo foi realizado na Embrapa Pecuária Sudeste, localizada na cidade de São Carlos, SP, com um acesso de *Paspalum notatum*. Foram colhidas inflorescências da espécie citada, e colocadas em casa de vegetação. As inflorescências foram cobertas com saquinhos e no dia seguinte à coleta, agitou-se as flores levemente pela manhã, após a deiscência das anteras para a liberação de grãos de pólen, que foram colocados em placa de petri e levados para a desidratação utilizando os sais saturados: LiCl (75%), MgCl₂ (75%), NaOH (75%) e sílica gel (15 g). Colocaram-se os grãos de pólen em caixas gerbox com os sais saturados e manteve-se as caixas fechadas por diferentes intervalos de tempo (30, 60 e 120 minutos) à temperatura de 25°C. Após esse período, as amostras de grãos de pólen foram armazenadas em cápsulas de gelatina dentro de criotubos. Estes foram imersos em nitrogênio líquido por 24 h. Após a retirada dos tubos do criotank, os grãos de pólen foram analisados quanto a sua viabilidade, por meio do uso do teste de tetrazólio

0,25%. Para cada tratamento houve seis repetições. A testemunha foi considerada como a amostra de grãos de pólen recém colhida, sem criopreservação.

As soluções salinas saturadas produzem umidade relativa do ar própria de cada sal em uma determinada temperatura.

Observou-se que os melhores tratamentos de desidratação de grãos de pólen foram com LiCl por 30 minutos e a sílica gel por 120 minutos, que apresentaram viabilidade estatisticamente iguais à testemunha.

A escolha de qual tratamento utilizar depende da disponibilidade de sais e do tempo disponível para realizar o trabalho, além do custo da pesquisa, uma vez que a sílica gel tem menor custo que o cloreto de lítio.

A viabilidade do grão de pólen sob condição natural, foi entre 65% a 70%. O armazenamento do pólen em nitrogênio líquido nessas condições, ou seja, sem desidratação, não foi satisfatório, pois após a retirada as amostras, obteve-se apenas 37% de grãos de pólen viáveis.

Tabela 1. Viabilidade de grãos de pólen de *Paspalum notatum* após cada tratamento com agentes de desidratação.

Tempo/Trat	MgCl ₂	NaOH	Sílica gel	LiCl
30	60,25 b	46,08 c	42,50 c	68,91 a
60	55,58 b	50,33 c	55,41 b	60,67 b
120	45,17 c	57,25 b	67,42 a	49,33 c
T	68,50 a	65,25 a	65,25 a	66,58 a

T – valores da testemunha

Conclusão

O estudo aponta que a desidratação dos grãos de pólen com cloreto de lítio e sílica gel resultaram em um adequado armazenamento a longo prazo, pois a viabilidade permaneceu a mesma que a de grãos de pólen recém-colhidos.

Agradecimentos



REFERÊNCIAS

- 1 - CONNOR, F. K.; TOWILL, L. E. Pollen-handling protocol and hydration/dehydration characteristics of pollen for application to long-term storage. *Euphytica*, Wageningen, v. 68; p. 77-84, 1993.
- 2 - SANTOS, I. R. I. Criopreservação: Potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal*, v. 12, (Esp.), p. 70-84, 2000.
- 3 - STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. E. Pollen: Biology, Biochemistry, Management. New York: Springer-Verlag, 1974.