

Viabilidade do Pólen de Milho

Adriano Balbinot¹, Robson M. Delai²; Amir José Klein Werle³

¹Acadêmico do curso de Agronomia-FAG, ²Professor do curso de Agronomia da Faculdade Assis Gurgacz - Avenida das Torres n. 500, CEP: 85.806-095, Bairro Santa Cruz. Cascavel, PR.; ³Msc. pesquisador Syngenta Seeds Ltda.

t_balbinot@hotmail.com, robson@fag.edu.br, amirjkw@yahoo.com.br

Resumo: O milho é uma gramínea da família Poaceae, tribo de Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L., é um cereal essencialmente americano, pois é nesse continente que se encontram os seus parentes selvagens mais próximos: *Teosinte* e *Tripsacum*. O presente trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental da Syngenta Seeds Ltda, tendo o objetivo de verificar a viabilidade do pólen. Grãos de pólen de duas linhagens de milho foram colocados em três tratamentos diferentes, água, câmara fria e ambiente natural, onde esses grãos de pólen ficaram, 0, 12, 24, 36 horas. A porcentagem de germinação dos grãos de pólen foram analisada pela quantidade de sementes em cada espiga. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa SISVAR, análise de regressão quadrática ou de 2º grau. Os resultados obtidos indicam que os genótipos a ambiente bem como o número de horas influenciam a viabilidade do pólen de milho, assim como o ambiente de câmara-fria apresentou-se como o meio mais adequado para armazenagem do pólen, porém insuficiente para armazenamento por longo período.

Palavras-chave: *Zea mays* L., conservação, pólen

Viability of pollen the maize

Abstract: Maize is a grass family Poaceae, tribe Maydeae, genus and species *Zea mays* L., maize is a cereal essentially American, because it is that continent which are their closest wild relatives, teosinte and *Tripsacum*. The present work was developed at the experimental station of Syngenta Seeds Ltda., with the objective of verifying the viability of pollen. Pollen grains from two strains of corn were placed in three different treatments, water, cold-room and natural environment where these pollen grains were, 0, 12, 24, 36 hours. The percentage of germinated pollen grains was analyzed for the amount of seeds in each ear. For the statistical analysis program was used SISVAR, quadratic equation or second degree. The results indicate that the genotypes to the environment as well as the number of hours affecting pollen viability of maize, as well as the environment of cold-room and introduced himself as the most appropriate medium for storing pollen, but not enough storage for a long period.

Keywords: *Zea mays* L., conservation, pollen.

Introdução

O milho é uma gramínea da família Poaceae, Tribo Maydeae, Gênero *Zea* e Espécie *Zea mays* L. A tribo Maydeae caracteriza-se por flores unissexuadas geralmente inflorescências masculinas e femininas separadas nas mesmas plantas. É um cereal de origem

americana, pois é nesse continente que se encontram os seus parentes selvagens mais próximos do *Teosinte* e *Tripsacum* (Werle, *et al.* 2011). A origem do milho tem despertado o interesse de muitos pesquisadores resultando em uma extensa literatura sobre o assunto e inúmeras pesquisas e adaptações, tornando assim o milho uma espécie altamente domesticada, pois não sobrevive sem a intervenção humana (Borém e Miranda, 2007). Por ser um cereal muito importante o milho tornou-se uma das espécies vegetais mais estudadas, onde inúmeros programas de melhoramento trabalham nessa cultura, em busca de novas variedades, híbridos e linhagens que satisfaçam tanto o produtor o consumidor e também as indústrias alimentícias.

Atualmente o milho é produzido em todos os continentes, sendo os maiores produtores os Estados Unidos, China, Brasil e México com, 333, 155, 53 e 21 milhões de toneladas anuais, respectivamente, na safra 2009/2010 a produção mundial de milho foi de 805 milhões de toneladas (USDA, 2010).

Nos programas de melhoramento de milho para o desenvolvimento de novos híbridos, novas linhagens ou novas variedades, há necessidade de se fazer cruzamentos entre diferentes genótipos ou diferentes linhagens existentes, então é comum a necessidade de cruzamentos entre genótipos de ciclos distintos não havendo dessa maneira o sincronismo no florescimento, o que inviabiliza a produção de sementes (Ferreira *et al.*, 2007), surgindo assim em muitos casos a necessidade de conservação e armazenagem do grão de pólen, Sprague e Johnson (1977) relataram que para a preservação da viabilidade de grãos de pólen, faz-se necessário a manutenção de baixos teores de água dos grãos de pólen e temperatura baixas durante o armazenamento e, em alguns casos, a exclusão do oxigênio do interior dos recipientes de armazenamento.

Os métodos de polinização de milho são relativamente simples principalmente pela separação das inflorescências masculinas e femininas. Portanto praticamente qualquer processo de melhoramento pode ser empregado, independentemente de envolver a produção de um ou mais tipos de família, auto-fecundações ou cruzamentos múltiplos. Os métodos de polinização podem ser de dois tipos; i) polinização aberta, normalmente utilizada na produção de poucos cruzamentos mas em grandes quantidades ou de vários cruzamentos com um testador exige isolamento no tempo ou no espaço; ii) polinização manual, permite realizar os diferentes tipos de cruzamentos exigidos pelos delineamentos genéticos em programas de melhoramento de populações (Pinto, 2009).

O milho é uma espécie alógama, ou seja, numa população na qual não se pratica controle de polinização os descendentes são em sua maioria decorrentes de polinização

cruzada, com frequência superior a 95% de produção cruzada. A alogamia é consequência de duas características da espécie: a) monoícia, que caracteriza-se pela presença no mesmo indivíduo de órgão produtores de gameta masculino e femininos na mesma planta porém em estruturas ou inflorescências diferentes; b) protândria, quando órgãos ou gametas masculinos amadurecem antes dos órgãos ou gametas femininos.

Os gametófitos masculinos são produzidos no pendão, inflorescência masculina localizada no ápice da planta, ao passo que os gametófitos femininos são produzidos na espiga ou boneca, inflorescência feminina que se desenvolve na axila de uma ou de duas folhas localizada na parte central da planta (Raven, *et al.*, 2001).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade do pólen em diferentes horários e em diferentes meios de conservação, testando os diferentes horários, após a retirada do pendão.

Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido na Estação Experimental da Syngenta Seeds Ltda. Foram utilizadas sementes de milho híbrido STATUS TL usado como receptor de pólen ou receptor feminino, e sementes de duas linhagens L62 e L28 como doadoras de pólen. O plantio das linhagens ocorreu no dia 20 de Janeiro de 2010 e o plantio do híbrido três dias depois, foram semeadas três linhas de cada linhagem e 18 linhas do híbrido, ambos com 20 m. de comprimento e com espaçamento 0,2 m. entre plantas dentro das linhas, assim foram obtidas 300 plantas viáveis de cada linhagem, 1800 plantas do híbrido que irá receber pólen para constituir os diferentes tratamentos.

O delineamento utilizado foi de blocos completos com tratamentos casualizados, com 3 repetições e cada repetição consta de 3 espigas escolhidas aleatoriamente dentro das parcelas do híbrido para preceder a polinização. O delineamento dos tratamentos foi um fatorial com 3 fatores com; Genótipo (2), Ambiente (3) e Horas (4), formando um fatorial 2 x 3 x 4, sendo horas um fator quantitativo e sua significância deve ser analisada em análise de regressão, com quatro diferentes horas amostradas deverá ser analisada em uma regressão cúbica ou de terceiro grau. Para análises estatísticas foram utilizados o programa estatístico SISVAR.

As bonecas ou inflorescência feminina do híbrido foram cobertas com saquinhos plásticos antes da emissão do estigmas, após 65 dias do plantio foram iniciados os procedimentos de coleta de pólen das linhagens, cobrindo os pendões com sacos de papel para assim proceder à coleta do pólen, após as 4 horas foram batidos os pendões separadamente e

fazendo um *bulk* de pólen de cada linhagem, após isso foram separadas as amostras de grão de pólen para cada repetição e cada tratamento, e levada para seus determinados ambientes.

Os tratamentos utilizados foram:

- a) Linhagens: as linhagens utilizadas foram; L62, L28.
- b) Ambientes: foram utilizados três ambientes distintos; Natural, no ambiente natural as amostras contendo os grãos de pólen foram armazenado no laboratório de manipulação de sementes, com temperatura e umidade ambiente; Câmara Fria: as amostras foram guardadas na câmara fria com temperatura media de 11.3°C e uma umidade de 56%; Água: as amostras foram cobertas com água e armazenadas no laboratório de manipulação de sementes em temperatura ambiente.
- c) Horas: as amostras foram colocadas nos ambientes citados por diferentes horários: 0, 12, 24 e 36 horas de armazenamento, das amostras de grãos de pólen.

A colheita foi feita manualmente bem como a debulha, as sementes das espigas foram contadas e computadas para as análises estatísticas necessárias. As variáveis analisadas foram numero de grãos por espiga, após a contagem foram feita a transformação dos dados Log(10).

Resultados e Discussão

Na tabela 1 podemos ver o resultado da análise de variância do experimento, os resultados demonstram a significância dos diferentes tratamentos; i) o efeito de linhagem, mostrando que o efeito de genótipos influenciam na viabilidade do grão de pólen; ii) de ambiente, mostrando que a forma e local de armazenagem de pólen influencia a viabilidade de pólen; iii) e de horas, indicando que devido a numero de horas o grão de pólen vai perdendo a viabilidade. As interações linhagem x ambiente, ambiente x horas, bem como a interação tripla linhagem x ambiente x horas, apresentaram significância, sendo que apenas a interação linhagem x horas não apresentou interação significativa a 5% de probabilidade pelo teste de F. A presença de interação significativa, implica um maior esforço do pesquisador em detalhar mais a análise dos dados (Zimmermann, 2004). Vale ressaltar que devido a não homogeneidade das variâncias, e a presença de valores iguais a zero, foi procedido da conversão de dados através de Log(10) (Banzatto e Kronka, 2006). O experimento apresentou um coeficiente de variação 8,17% que demonstra boa precisão experimental em que foi conduzido o experimento.

Tabela 1 – Análise de Variância dos dados convertidos de numero de grãos por repetição

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc ^{1, 2}
BLOCO	2	0.004	0.002	0.117	
LINHAGEM (L)	1	0.363	0.3627	19.029	0.000 **
AMBIENTE (A)	2	0.973	0.487	25.534	0.000 **
HORAS (H)	3	56.777	18.926	993.049	0.000 **
LxA	2	0.421	0.211	11.053	0.000 **
LxH	3	0.113	0.038	1.972	0.131 NS
AxH	6	1.442	0.240	12.612	0.000 **
LxAxH	6	0.302	0.050	2.643	0.028 *
ERRO	46	0.877	0.019		
TOTAL	71				

1 - Valores seguidos por **, *, são significativos a 1% , 5% de probabilidade pelo teste de F.

2 – valores seguidos por ns, não significativos pelo teste de F.

Nos gráficos 1, 2 e 3 estão presentes os resultados das análises de regressão, em relação a viabilidade de pólen. Pode-se notar no gráfico 1 que o ambiente natural (AMB1) com 0 horas foi igual aos demais, porem a medida que foram se passando as horas ele apresentou uma maior perda de viabilidade em relação aos demais ambientes, este resultado deve ter sido influenciado pelo temperatura, uma vez que neste ambiente a temperatura é mais elevada em relação ao ambiente de água e câmara-fria, estes resultados concordam com o obtidos por Ferreira, *et al.* (2007), que estudando a conservação e viabilidade do pólen de milho, verificaram que ao decorrer do dia com o aumento da temperatura e umidade relativa do ar houve diminuição na viabilidade do grão de pólen. No ambiente de água (AMB2) a curva de regressão apresentou-se mais constante em relação aos demais ambientes, onde em 0 horas apresentou o mesmo valor que aos demais, e com 36 horas apresentou viabilidade maior em relação ao ambiente natural e menor que o ambiente de câmara-fria (AMB3), esses resultados são efeitos da menor variação de temperatura a que a água sofre, Roy, *et al.* (1995), verificaram que em temperaturas elevadas diminui significativamente a viabilidade do grão de pólen. No ambiente de câmara-fria (AMB3) apresentou os mesmos valores com 0 hora porem com 36 horas apresentou a melhor viabilidade de pólen em relação aos outros ambientes. Com a linhagem L62 (LIN1) o ambiente de câmara-fria apresentou-se resultados melhores para armazenagem do grão de pólen por até 36 horas, e como era de esperar o ambiente natural apresentou e menor valor, se demonstrado assim a incapacidade para armazenagem de pólen desta linhagem neste ambiente.

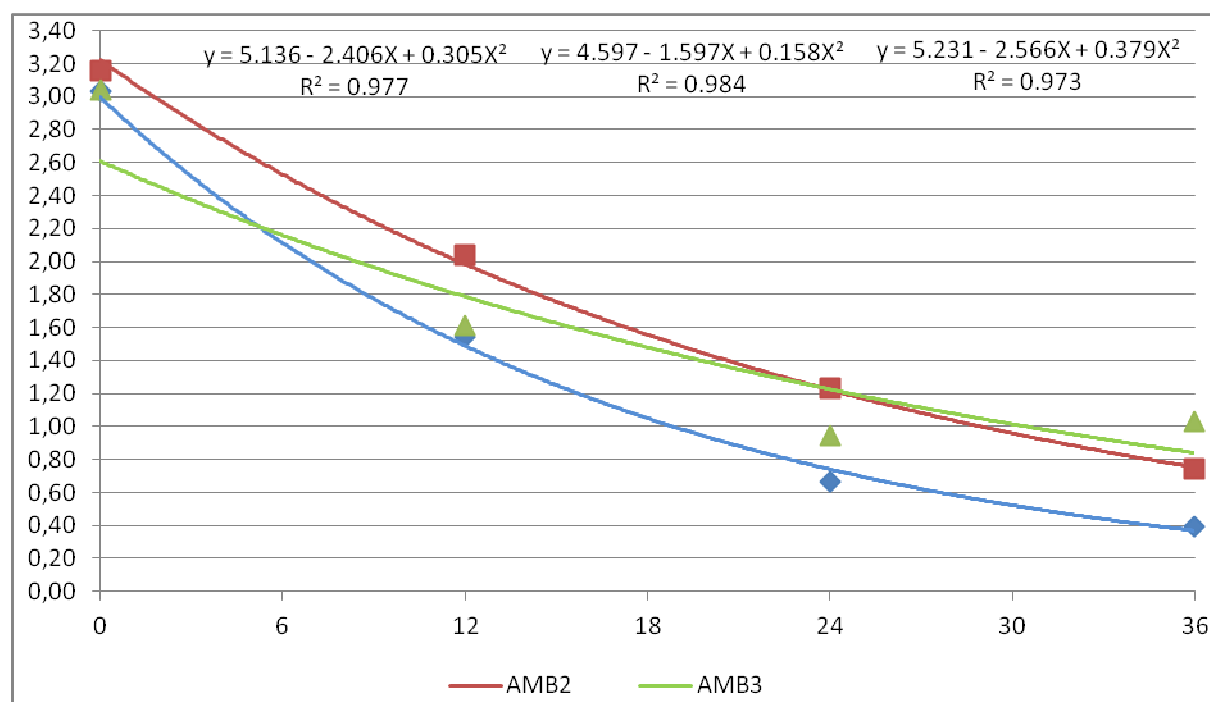


Figura 1 - Resultados da regressão da linhagem L62 (LIN1) no ambiente Natural (AMB1), Água (AMB2) e Câmara-fria (AMB3), em diferentes horas, 0, 12, 24 e 36 horas.

No gráfico 2, estão apresentados os resultados da curva de regressão em relação a linhagem L28 (LIN2), no ambiente natural, a 0 horas apresentou os mesmos valores aos demais ambientes, porém com 12 e 24 horas apresentou valor superior ao ambiente de câmara-fria e inferior em relação ao ambiente de água, o ambiente de água apresentou uma menor curva de regressão sendo mais constantes em relação ao número de horas comparado aos demais ambientes, resultado idêntico ao obtido com a linhagem L62. Para o ambiente de câmara-fria apresentou o menor valor de pólen viáveis ao decorrer das horas apresentando uma possível estabilização após 24 horas.

No gráfico 3 pode ser visto que a linhagem L28 (LIN2) com 36 horas apresentou valores semelhantes nos diferentes ambientes. Assim também mostra que a linhagem L62 no ambiente de câmara-fria, apresenta melhor adaptação para a armazenagem neste ambiente, por até 36 horas. Devido, *et al.* (1984), afirmam que a viabilidade e vitalidade do grão de pólen podem variar de acordo com o genótipo utilizado, resultado confirmado neste trabalho.

Os resultados obtidos em câmara-fria sugerem que o grão de pólen tem uma perda de viabilidade maior nas primeiras horas de armazenagem, porém ao passar das horas mantém uma porcentagem maior de pólen viável em relação aos demais ambientes testados, onde após 24 horas apresenta uma estabilização (*platô*) na perda de viabilidade do pólen. A água mantém uma estabilidade na perda de vigor, apresentando uma curva de regressão menor, ou

seja, comportando-se de forma linear, isso pode ser efeito da menor variação de temperatura sofrida ao decorrer do tempo, porem para armazenagem em períodos mais longos o teor de água inviabiliza o pólen, resultados relatados por Ferreira, *et al* (2007), que por período de 14 dias com teor de umidade de 51,7% armazenado na geladeira, não apresentou pólen viável, já com teores de água menor como 21,7% apresentou 8,8% de pólen viável nas mesmas condições de armazenagem .

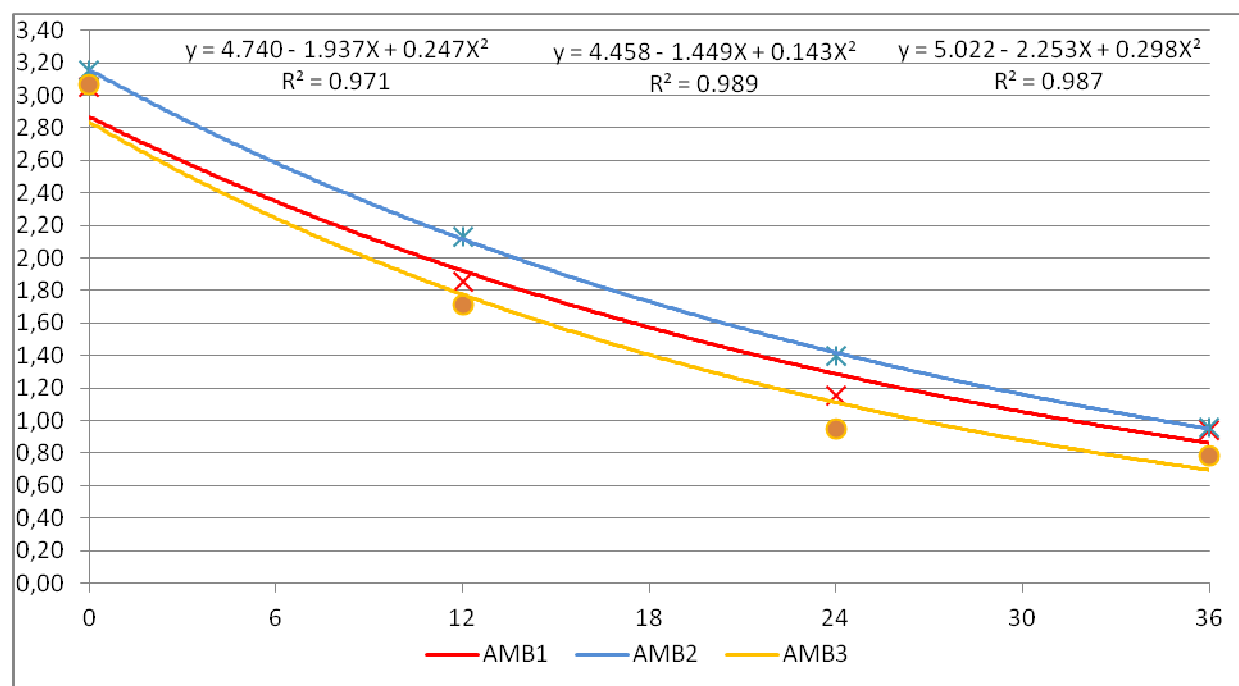


Figura 2 - Resultados da regressão da linhagem L28 (LIN2) no ambiente Natural (AMB1), Água (AMB2) e Câmara-fria (AMB3), em diferentes horas, 0, 12, 24 e 36 horas.

No ambiente natural, pode-se dizer que até 12 horas a viabilidade de pólen é superior a 50%, porem apresentando uma queda acentuada a partir das 12 horas de armazenagem do grão de pólen. Para a maioria das espécies, baixas temperaturas e umidade de armazenamento favorecem a longevidade e viabilidade do grão de pólen, pois diminuem as atividades metabólicas e ação de microorganismos (Devides, *et al.*, 2009). A viabilidade do grão de pólen diminui substancialmente como o armazenamento a decorrer das horas, independente do meio em que for armazenado, resultados igual ao obtido por Ferreira, *et al* (2007). A temperatura bloqueia algumas ações enzimáticas de degradação atrasando o mecanismo de inviabilização. Assim este tipo de armazenamento é o mais indicado, pois o mesmo mantém o pólen com maior viabilidade dentro das primeiras 24 horas, sofrendo uma atenuada perda de viabilidade após este período, mantendo um padrão constante também até 36 horas pós-armazenamento.

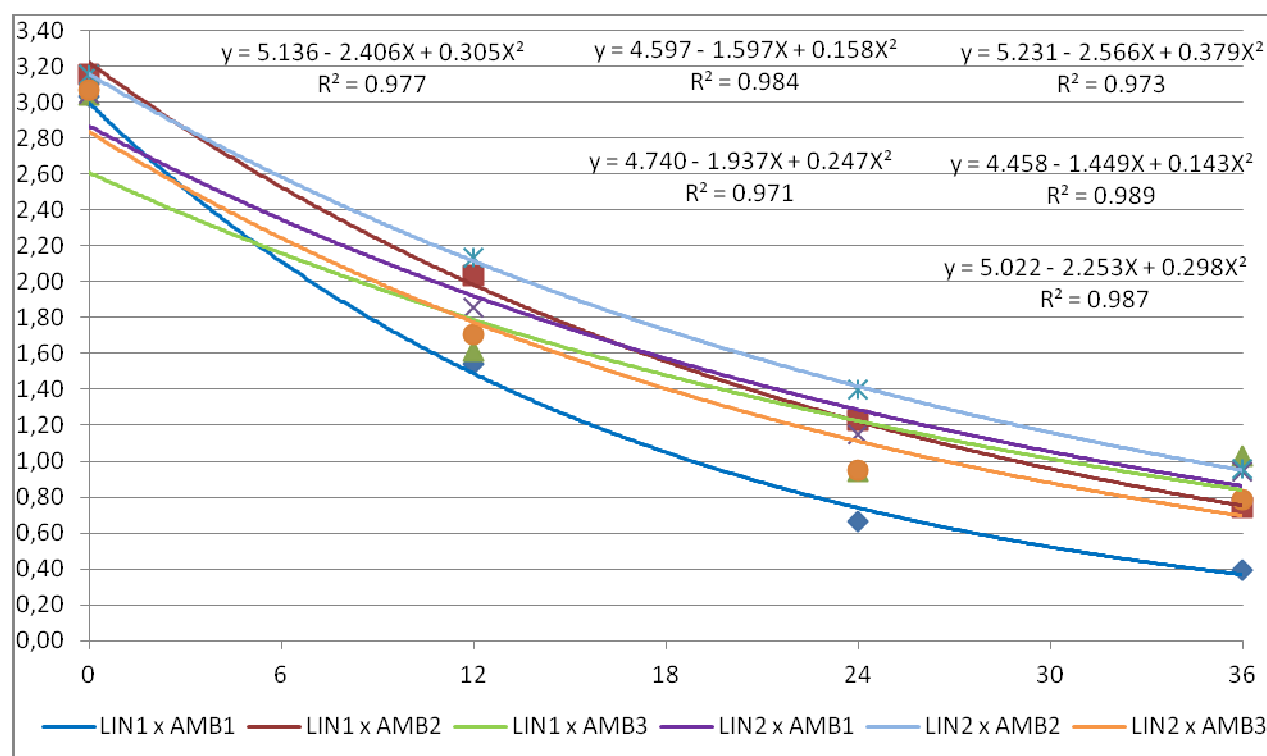


Figura 3 - Resultados da regressão das linhagens 1 e 2 (LIN1 e LIN2) no ambiente Natural (AMB1), Água (AMB2) e câmara-fria (AMB3), em diferentes horas, 0, 12, 24 e 36 horas.

Alguns tipos de proteína e aminoácidos influenciam a viabilidade de pólen, e sua desnaturação ou degradação podem diminuir a viabilidade do grão de pólen, Pálfi e Köves (1984) avaliaram o teor de prolina na germinação de grão de pólen de centeio e milho e identificaram que o seu conteúdo é proporcional a germinação e vitalidade do pólen destas culturas. Porém outros fatores como estado nutricional da planta, condições ambientais e receptividade do estigma podem exercer influencia significativa na viabilidade do grão de pólen (Barnabás, *et al.* 1988). Algumas alterações fisiológicas podem reduzir a viabilidade do grão de pólen como; mudanças na velocidade da respiração celular, conversão de açúcares em ácidos orgânicos, acúmulo de produtos metabólicos como, ácidos orgânicos, alterações dos lipídios (Stanley e Linskens, 1974). Todas essas características em conjunto fazem com que o genótipo influencie na viabilidade do pólen, bem como na significância das interações com ambiente e horas, resultados obtido neste trabalho.

Conclusões

Os resultados obtidos permitem chegar às seguintes conclusões, sobre os genótipos, ambientes e horas estudadas:

- O genótipo, ambiente e o número de horas (tempo) influenciam a viabilidade do grão de pólen;
- O pólen é viável por um determinado período de tempo, sua viabilidade diminuiu com a extensão deste tempo;
- A câmara-fria apresenta-se o meio mais adequado para armazenagem do pólen, devido a suas propriedades conservativas, porem insuficiente para armazenagem por grande período;

Referências

- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237p.
- BARNABÁS, B. KOVACS, G. ABAANYI, A.; PFAHLER, P. Effect of pollen storage by drying and deep freezing on the expression of different agronomic traits in maize (*Zea mays* L.). **Euphytica**, 39: 221-225, 1988.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2007. 525p.
- DAVIDE, L. M. C.; PEREIRA, R. C.; ABREU, G. B.; SOUZA, J. C.; VON PINHO, E. V. R. Viabilidade de pólen de milho em diferentes períodos de armazenamento em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 8:199-206, 2009.
- FERREIRA, C. A.; VON PINHO, E. V. R.; ALVIN, P. O.; ANDRADE, V.; SILVA, T. T. A.; CARDOSO, D. L. Conservação e determinação da viabilidade de grãos de pólen de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 2:159-173, 2007.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análise e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, 6:36-41, 2008.
- PÁLFI, G.; KÖVES, E. Determination of vitality of pollen on the basis of its amino acid content. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, 179:237-240, 1984.
- PINTO, R.J.B. **Introdução ao melhoramento genético de plantas**. 2. ed. Maringá: Eduem, 2009. 351p.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. 906p.
- ROY, S. K.; RAHAMAN, S. M. L.; SALAHUDDIN, A. B. M. Pollination control in relation to seed yield and effect of temperature on pollen viability of maize (*Zea mays*). **Indian of Journal of Agricultural Science**, 65:785-788, 1995.
- SPRAGUE, J. R.; JOHNSON, V. W. Extraction and storage of loblolly pine (*Pinus taeda*) pollen. In: **Southern Forest Tree Improvement Conference**, 14:20-27, 1977.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, biochemistry and management**. New York: Springer verlag, 1974. 172p.

USDA-United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://www.usdabrazil.org.br/home/suppliers-of-us.asp>. 2010>. Acesso em: 03/01/2011.

WERLE, A. J. K. **Avaliação dialélica de linhagens elites e híbridos de milho**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá - UEM, 2011. 70p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

ZIMMERMANN, F. J. P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 402

Recebido em: 25/05/2011

Aceito para publicação em: 08/06/2011