



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS**

**GENÉTICOS VEGETAIS**



**ALEXSANDRO DOS SANTOS SOUSA**

**VIABILIDADE E AÇÃO DE LECTINAS NA  
GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE GRÃOS DE PÓLEN DE  
DENDEZEIRO (*ELAEIS GUINEENSIS* JACQ. –  
ARECACEAE)**

FEIRA DE SANTANA - BA  
2015

**ALEXSANDRO DOS SANTOS SOUSA**

**VIABILIDADE E AÇÃO DE LECTINAS NA  
GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE GRÃOS DE PÓLEN DE  
DENDEZEIRO (*ELAEIS GUINEENSIS* JACQ. –  
ARECACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudinéia Regina Pelacani  
Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis R. dos Santos

Feira de Santana – BA  
2015

## Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

S696v Sousa, Alexandro dos Santos  
Viabilidade e ação de lectinas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de dendezeiro (*Elaeis Guineensis* Jacq. – Arecaceae) / Alexandro dos Santos Sousa. – Feira de Santana, 2015.  
56 f. : il.

Orientadora: Claudinéia Regina Pelacani.  
Coorientador: Francisco de Assis R. dos Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2015.

1. *Elaeis Guineensis* Jacq. 2. Polén de dendezeiro – Germinação *in vitro*. I. Pelacani, Claudinéia, orient. II. Santos, Francisco de Assis R. dos. Coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 634.614

**BANCA EXAMINADORA**

(MESTRADO)

---

Prof. Dr. Ronaldo Fernandes Pereira  
CODEVASF/SE – Companhia de Desenvolvimento dos Vales São Francisco e  
Parnaíba/Sergipe

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lívia de Jesus Vieira  
EMBRAPA Mandioca e Fruticultura – Cruz das Almas/BA

---

Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos  
Co-Orientador e Presidente da Banca

Feira de Santana - BA  
2015

Aos meus filhos, Aíla, Kauê e Ísis dedico, pois são a razão da maior alegria e provavelmente as mais importantes ferramentas de minha evolução espiritual.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de estar aqui aprendendo e adquirindo aprimoramento moral.

A minha mãe Helena dos Santos Sousa, pelo esforço e suor derramado pelos filhos e por iluminar sempre o meu caminho.

A Sílvia Letícia pelo cuidado e esforço exaustivo com nossos filhos em minha ausência e pelo carinho incondicional, mesmo nas adversidades sempre vê o melhor e me apoia em minha jornada espiritual.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudinéia Regina Pelacani, por ter aceitado me orientar no programa, espero ter suprido as expectativas não dando trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos, pelo apoio incondicional na realização do trabalho, pelo aprendizado desde a iniciação científica, na formação acadêmica e principalmente pessoal.

Ao biólogo Dr. Paulino Pereira Oliveira, pelas sugestões e discussões valiosas, sempre em momentos oportunos.

Ao Mestre/PPGBot Rodolfo de França Alves, pelo companheirismo e pelo apoio nas coletas e por realizarmos juntos nossas atividades de produção acadêmica.

Aos colegas da pós-graduação, pelos momentos de alegria e de preocupações.

Aos colegas do Laboratório de Micromorfologia Vegetal/UEFS e do Laboratório de Germinação-Horto/UEFS pelos momentos de descontração e pelos exemplos de esforço de cada um ao executar seus trabalhos.

Aos meus familiares mais próximos, por acreditarem em meu potencial e por torcerem por mim.

Aos membros do grupo Griô Capoeira, por demonstrarem sua amizade e por seguirem firmes com o trabalho, mesmo com minha distância.

Aqueles que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

À CAPES e à REDE PINDORAMA/CNPq (#470643/2013-7, #303862/2013-0), pelo suporte financeiro para efetivação deste projeto.

Uma ideologia não se constrói com palavras usadas por conveniência, mas vivendo-a intensamente! – Um estado de espírito!

## RESUMO

No Brasil, pesquisas com grãos de pólen da família Arecaceae estão relacionados à melissopalinoLOGIA e palinotaxonomia, sendo escassos aqueles voltados à fisiologia do pólen. Estudos de biologia reprodutiva relacionados à polinização são de grande importância nas diversas culturas, visto que a partir dos seus resultados pode se obter parâmetros a serem utilizados visando o aumento considerável da produção de plantas cultivadas, bem como no tamanho e na qualidade dos frutos, contribuindo para bons rendimentos econômicos dos produtores. A germinação de grãos de pólen *in vitro* também permite verificar seu vigor reprodutivo, sendo importante ferramenta em programas de melhoramento genético de plantas, auxiliando na seleção de genótipos mais eficazes para cruzamentos e formação de híbridos. O capítulo um deste trabalho teve como propósito avaliar o tipo de meio de cultura e as implicações da escolha dos micronutrientes que fazem parte da sua composição, bem como do tratamento prévio das amostras. Foi observado que o pólen de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) apresentou aumento nas taxas de germinação depois de ser desidratado por um período de quatro horas e que o meio de cultura com apenas ácido bórico e nitrato de cálcio, além da sacarose como fonte de energia, são eficientes para exibir o potencial germinativo. O capítulo dois consta da avaliação de proteínas glicoconjugadas (lectinas) sobre a germinabilidade polínica do dendezeiro. Foram discutidas as interações metabólicas desses processos, bem como o papel das lectinas que são importantes reguladores sobre a reconhecimento e reconhecimento do pólen no pistilo, podendo atuar como fatores de incompatibilidade genética. Foi avaliada a germinação em meio BCa (boro e cálcio) com adição das lectinas: Lectina de *Crotalaria pallida* Aiton (CPL), Concanavalina A (ConA) e Jacalina (JAC), em duas concentrações. Verificou-se aumento das taxas de germinação na presença das lectinas CPL e ConA e inibição da germinação na presença da JAC. Os resultados deste trabalho agregam valores informativos sobre a compreensão da biologia reprodutiva de dendezeiro (Arecaceae) ocorrente na “Costa do Dendê”/Bahia e ampliam as discussões sobre os processos que envolvem a germinação de grãos de pólen e formação dos tubos polínicos.

**Palavras-chave:** palmeiras, biologia reprodutiva, tubo polínico, glicoconjugados, melhoramento genético.



## ABSTRACT

In Brazil, research on Arecaceae pollen grains are related to melissopalynology, the palynotaxonomy, being scarce the physiology of pollen. Reproductive biology studies pollination are of great importance in different cultures, from their results can obtain parameters to be used to obtain a considerable increase in the production of crops, as well as the size and quality of fruits, helping for good economic income of the producers. *In vitro* pollen germination also allows you to check its viability and reproductive strength, and are important tools in breeding programs of plants, assisting in the selection of the most effective genotypes and training hybrids. The chapter one of this work consists of evaluation of the type of culture medium and implications on the choice of micronutrients which form part of its composition, as well as the pretreatment of specimens. It was observed that oil palm pollen (*Elaeis guineensis* Jacq.) Showed an increase in germination rates after being dissected for a period of four hours and the culture medium with only boric acid and calcium nitrate, in addition to the power source (sucrose) are efficient to display their germination potential. Chapter two contained in the evaluation glycoconjugate (lectins) on the pollen germination of oil palm, which was discussed metabolic interactions of these processes. Lectins are important regulators and operate in recognition and acknowledgment of pollen on the pistil and can act as genetic incompatibility factors. Germination was evaluated in BCa means (boron and calcium) with the addition of lectins: *Crotalaria pallida* lectin (CPL), Concanavalin A (ConA) and Jacalin (JAC) in two concentrations. An increase of the germination rate in the presence of ConA and CPL lectins and inhibition in the presence of JAC. The results of this study were valuable, since aggregate informative values and extend discussions on the processes involving the germination of pollen grains and formation of pollen tubes of oil palm.

**Keywords:** palm, pollen germination, pollen tube, glycoconjugates, breeding

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	10
<b>A Família Arecaceae</b>	10
<b>Dendezeiro (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.)</b>	10
<b>Germinabilidade polínica</b>	12
<b>Lectinas</b>	13
<b>Referências</b>	16
<b>CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DE MEIO DE CULTURA NA GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE GRÃOS DE PÓLEN DE DENDEZEIRO (<i>ELAEIS GUINEENSIS</i> JACQ. – ARECACEAE)</b>	19
1.1 <b>Introdução</b>	22
1.2 <b>Metodologia</b>	24
1.2.1 <b>Coleta e armazenamento dos grãos de pólen</b>	24
1.2.2 <b>Processamento em laboratório</b>	24
1.2.3 <b>Viabilidade polínica</b>	25
1.2.4 <b>Métodos de desidratação e Germinação <i>in vitro</i></b>	25
1.2.5 <b>Análise estatística</b>	25
1.3 <b>Resultados</b>	26
1.4 <b>Discussão</b>	30
1.5 <b>Referências</b>	33
<b>CAPÍTULO 2 – AÇÃO DE LECTINAS NA GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE GRÃOS DE PÓLEN DE DENDEZEIRO (<i>ELAEIS GUINEENSIS</i> JACQ. – ARECACEAE)</b>	37
2.1 <b>Introdução</b>	40
2.2 <b>Metodologia</b>	42
2.2.1 <b>Coleta e armazenamento dos grãos de pólen</b>	42
2.2.2 <b>Processamento em laboratório</b>	42
2.2.3 <b>Viabilidade polínica</b>	43
2.2.4 <b>Germinação <i>in vitro</i></b>	43
2.2.5 <b>Análise estatística</b>	43
2.3 <b>Resultados</b>	44
2.4 <b>Discussão</b>	48
2.5 <b>Referências</b>	51
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	56

## INTRODUÇÃO GERAL

### A FAMÍLIA ARECACEAE

A família Arecaceae é constituída por um grupo de plantas com características peculiares, comumente conhecidas como palmeiras. Apresenta distribuição pantropical e é constituída por 240 gêneros e 2700 espécies devidamente catalogadas (LORENZI et al., 2010).

No Brasil, espécies dessa família ocorrem em praticamente todos os tipos vegetacionais, incluindo áreas alagáveis (SOUZA; LORENZI, 2005). No estado da Bahia destaca-se a região conhecida como “Costa do Dendê”, localizada no baixo sul, onde encontram-se diversas plantações de dendê, piaçava e outras palmeiras que são utilizadas para produção de óleos e de pólen apícola (GUIMARÃES; MATTOS, 2012).

Quanto ao uso as palmeiras são fonte de alimento, de bebidas nutritivas e fermentadas, utilizadas como materiais de construção, fibras, marfim vegetal, resinas, ceras, muitos tipos de óleos e estimulantes. Muitas delas são usadas para ornamentação em projetos de paisagismo, por se destacarem de plantas arbustivas apresentando porte elegante e principalmente pela sua folhagem (BALLICK; BECK, 1990).

### O DENDEZEIRO (*ELAEIS GUINEENSIS* JACQ.)

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) (Fig. 1) é uma importante palmeira produtora de óleo (em inglês “oil palm” ou “palma-aceitera” nos países de língua espanhola), de origem africana trazida para América pelos escravos. É cultivado principalmente na África, na Ásia e nas Américas Central e do Sul (SILVA, 2006).

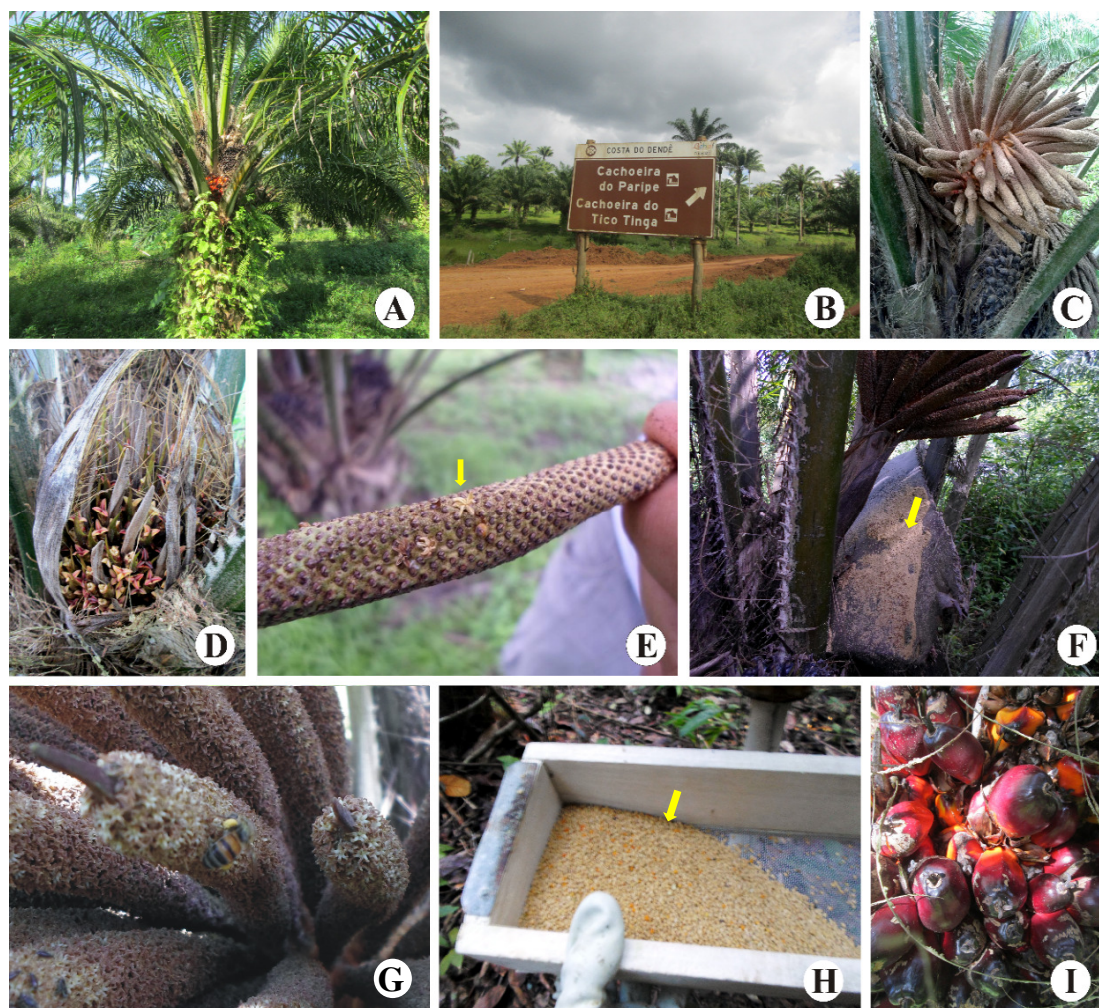
O cultivo do dendezeiro se destaca na agricultura mundial por possuir elevada produção de óleo por unidade de área, alcançando uma produtividade média de 4 a 5 toneladas de óleo por hectare/ano (BOARI, 2008).

No Brasil, os plantios comerciais e agroindustriais estão localizados principalmente nas regiões Norte e Nordeste. A região Norte é a responsável pela maior produção nacional de dendê com plantio em uma área maior que 60.000 hectares e cerca de 80% da produção nacional, com destaque atual para o estado do Pará (GOMES et al., 2009; CARVALHO et al., 2001).

No Nordeste, a Bahia tem uma produção marginal de 10.000 a 12.000 toneladas de óleo de dendê em uma área estimada em 31 mil hectares, dos quais quase 20 mil

hectares são de dendezeiros subespontâneos na Mata Atlântica localizadas na região da “Costa do Dendê” no baixo sul do Recôncavo baiano (MESQUITA, 2002).

Esses plantios apresentam exploração da produção com uma baixa manutenção agrícola das culturas. Nesses dendezeiros subespontâneos já foi verificada a existência de variabilidade genética, que poderá ser explorada em programa de melhoramento do gênero (CHIA, 2008).



**Figura 1:** A – Dendezeiro (*Elaeis guineensis*), B – Área de coleta do material polínico (“Costa do Dendê”), C – Inflorescência masculina, D – Inflorescência feminina, E – Detalhe da raqui iniciando antese com abertura de botões florais, F – Detalhe da quantidade de pólen produzido por uma inflorescência, G – Detalhe do forrageio de *Apis mellifera* L., H – Pólen apícola coletado por apicultor, I – Detalhe dos frutos utilizados para extração de óleos.

Além da produção de óleo, o dendezeiro é utilizado como pasto apícola, para produção de pólen apícola monofloral de *Apis mellifera* L., que é bastante apreciado para consumo por conta da textura, coloração e do sabor adocicado. Atualmente, os maiores produtores brasileiros deste produto *in natura* são os estados da Bahia, Santa Catarina e Sergipe (ALVARELLI et al., 2011).

Dentre os fatores que podem influenciar nos processos reprodutivos e no desenvolvimento dos cachos de *Elaeis guineensis* destacam-se as condições climáticas e topográficas, propriedades químicas e físicas do solo e a disponibilidade hídrica. O dendezeiro é altamente responsivo as modificações no ambiente, mostrando variações no desempenho dos genótipos quando submetidos a diferentes condições ambientais (RAFII et al., 2002).

As principais características buscadas no melhoramento genético do dendezeiro são a resistência a pragas, doenças e o porte reduzido associado à alta produtividade (BARCELOS et al., 2002).

As taxas de viabilidade e germinação de grãos de pólen de *Elaeis guineensis* (dendezeiro), *Elaeis oleifera* (Kunth.) Cortés (Caiaué) e de seus híbridos interespecíficos podem variar muito e apesar da facilidade de hibridização têm-se verificado problemas na reprodução dos híbridos interespecíficos na geração F1 e um dos fatores que podem afetá-la é a viabilidade e germinabilidade polínica (SOARES et al., 2008; CHIA et al., 2009).

#### **GERMINABILIDADE POLÍNICA**

Nas Angiospermas, a fase inicial da germinação dos grãos de pólen é a sua hidratação e ativação do metabolismo, que fornecem um rápido crescimento do tubo polínico na direção do saco embrionário, onde ocorre a fertilização (EDLUND et al., 2004).

A germinação de grãos de pólen *in vitro* permite verificar a sua viabilidade, sendo de grande importância nos estudos de biologia reprodutiva e em programas de melhoramento. O método geral consiste em germinar uma pequena amostra num meio de cultura apropriado e observar em microscópio, depois de determinado período, o número de grãos que produzem tubo polínico viável, com comprimento maior que o diâmetro do pólen (SALLES et al., 2006).

Pesquisas sobre a germinação em grãos de pólen têm sido um foco atual da comunidade científica, pois os grãos de pólen são importantes modelos biológicos propícios a diversos estudos experimentais (SHIVANNA; SAWHNEY, 2005).

Estudos de biologia reprodutiva sobre a polinização são de grande importância nas diversas culturas, pode-se obter um aumento considerável dos níveis de produção, bem como no tamanho e na qualidade dos frutos, contribuindo para bons rendimentos econômicos dos produtores. Dessa forma, estudos de germinação e viabilidade polínica são ferramentas importantes para produção de frutos, tendo em vista que a taxa de pólen germinado é proporcional à quantidade de sementes e frutos produzidos (VIANA et al., 2007).

Baixas taxas germinativas de grãos de pólen de *E. guineensis* além de afetar a produção dos cultivos, dificultam ou inviabilizam o emprego de estratégias de melhoramento genético que visam a introgressão de genes do caiaué no dendezeiro. A estratégia atual dos programas de melhoramento é a avaliação de híbridos F1 e a seleção dos melhores genótipos para reprodução e uso em plantios comerciais ou para obtenção de gerações avançadas de retrocruzamentos (CHIA et al., 2009).

Os grãos de pólen apresentam maior viabilidade principalmente 24 horas após a deiscência das anteras. Este fenômeno de maior capacidade de germinação do pólen, após deiscência das anteras, está relacionado com o sucesso da fertilização que depende não só da produção e do vigor polínico, mas também da receptividade do estigma (AGUILERA; VALENZUELA, 2013).

## **LECTINAS**

As lectinas são glicoproteínas que interagem especificamente com carboidratos, mas sem modificá-los. Atuam principalmente na reconhecimento celular e são moléculas que apresentam um ou diversos sítios de ligação com seus respectivos carboidratos. As lectinas produzem redes tridimensionais por ligação cruzada de glicoconjugados, que permitem a sua detecção, devido à sua precipitação ou aglutinação celular (SHARON; LIS, 2004).

Ao se remover a porção glicídica de uma lectina não se afeta a atividade biológica da molécula (SHARON; LIS, 1989). A função da parte glicídica, comum entre as lectinas, tem sido questionada e justificada basicamente por diminuir a degradação proteolítica, a desnaturação por taninos e por influenciar a associação com outras moléculas, bem como na solubilidade e viscosidade em solução aquosa, e por

interferir na capacidade de atuar como agente anticoagulante e aumentar a estabilidade térmica (KILPATRICK, 1986).

Na formação do complexo carboidrato-lectina ocorre uma tolerância na conformação de isômeros, de modo que lectinas podem interagir com moléculas que apresentam mudanças nas posições de grupamentos hidroxilas ou de ligações tipo alfa ou beta (RUDIGER, 1998).

As lectinas vegetais podem ocorrer em qualquer parte do corpo da planta, normalmente são extraídas de sementes e podem ser classificadas quanto a ocorrência, estrutura molecular e especificidade aos carboidratos. Van Damme et al. (1998), propuseram uma classificação para lectinas das angiospermas em sete grupos: *Lectinas de leguminosas* – as mais estudadas, devido as propriedades fisiológicas; *Lectinas ligantes com quitina* – presente em grupos taxonômicos não relacionados (Poaceae e Solanaceae por exemplo); *Lectinas inativadoras de ribossomos* – impossibilitam a síntese proteica e promovem morte celular; *Lectinas jacalinas* – estruturalmente bem conservadas e pouco estudadas; *Lectinas de monocotiledôneas* – exclusivas e com alto grau de similaridade; *Lectinas do floema de cucurbitáceas* – apesar de apresentarem especificidade para quitina, não possuem um domínio característico de outras lectinas com especificidade a quitina; *Lectinas de amarantáceas* – estruturalmente e bioquimicamente bem conservadas, mas poucas foram identificadas (< 10).

SOUTHWORTH (1975) realizou um trabalho pioneiro na indicação do uso de lectinas na formação do tubo polínico de *Lilium longiflorum* Thunb., desde então diversos autores seguiram essa linha de pesquisa, identificando lectinas que atuam no reconhecimento pólen-pistilo (FERRARI et al., 1981; CARVALHO, 1990; MATVEEVA et al., 2004; SOUSA et al., 2013).

Com relação a germinabilidade polínica, já se sabe que as lectinas têm forte influência no reconhecimento do pólen e na sua futura germinação sobre o estigma, pois as lectinas atuam na polarização da membrana celular regulando canais iônicos específicos, estando envolvida inclusive em processos de incompatibilidade genética (FERRARI et al., 1981; CARVALHO, 1990). Ainda se desconhece a presença de lectinas endógenas em grãos de pólen (RUDIGER; GABIUS, 2001). Bem como as interações e implicações metabólicas das lectinas na germinabilidade polínica, que são o foco deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- AGUILERA, F.; VALENZUELA, L. R. Time trend in the viability of pollen grains in the 'Picual' olive (*Olea europaea* L.) cultivar. **Palynology**, v. 37, n. 1, p. 28-34, 2013.
- ALVARELLI, L. G.; SANTOS, S. S. F.; LEÃO, M. V. P.; SANTOS, M. M. E. C.; BRAGA, T. C.; MOREIRA, R. M.; BARRETO, L. M. R. C. Índices microbiológicos na rota de coleta ao beneficiamento do pólen apícola em Canavieiras, estado da Bahia. **Magistra**, v. 23, (Esp.), p. 22-25, 2011.
- BALLICK, M. J.; BECK, H. T. **Useful Palms of the world: A synoptic bibliography**. New York, Columbia University Press, 1990, 724p.
- BARCELOS, E.; AMBLARD, P.; BERTHAUD, J.; SEGUIN, M. Genetic diversity and relationship in American and African oil palm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 1105-1114, 2002.
- BOARI, A. de J. **Estudos realizados sobre o amarelecimento fatal em dendezeiros (*Elaeis guineensis* Jacq.)**. Belém, EMBRAPA, 2008, 67p.
- CARVALHO, A. R. V. de; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M. **O Dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.)**. Rio de Janeiro, Embrapa Agrobiologia, Documentos, 2001, 45p.
- CARVALHO, H. F. Aspectos moleculares e biológicos das lectinas. **Ciência e Cultura**, v. 42, p. 884-893, 1990.
- CHIA, G. S.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; ROCHA, R. N. C. Germinação *in vitro* de pólen de híbridos interespecíficos entre o caiuê e o dendezeiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1569-1571, 2009.
- EDLUND, A. F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function – The Role of diversity in pollination. **Plant Cell**, v. 16, p. 84-97, 2004.



FERRARI, T. E.; BRUNS, D.; WALLACE, D. H. Isolation of plant glycoprotein involved with the control on intercellular recognition. **Plant Physiology**, v. 67, p. 270-277, 1981.

GOMES, M.; BIONDI, A.; BRIANEZI, T.; GLASS, V. **O Brasil dos agrocombustíveis: Impactos das lavouras sobre a terra, o meio e a sociedade: Gordura Animal, Dendê, Algodão, Pinhão-Manso, Girassol e Canola**. Centro de Monitoramento dos Agrocombustíveis, 2009, 69p.

GUIMARÃES, C. A. L.; MATTOS, L. A. **Piaçava da bahia (*Attalea funifera* Martius): do extrativismo à Cultura agrícola**. Ilhéus, Editus, 2012, 262p.

KILPATRICK, D. C. Carbohydrate and protein conformation. **Biochemical Journal**, v. 239, p. 808-806, 1986.

LORENZI, H.; NOBLICK, L.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira: Areaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa, Instituto Plantarum da Flora Ltda, 2010, 384p.

MATVEEVA, N. P.; ANDREYUK, D. S.; LASAREVA, E. A.; ERMAKOV, I. P. The Effect of concanavalin A on membrane potential and intracellular pH during activation *in vitro* of Tobacco pollen grains. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 51, n. 4, p. 494-499, 2004.

MESQUITA, A. S. Do azeite de dendê de Ogum ao oil palm commodity – Uma oportunidade que a Bahia não pode negar. **Bahia Agrícola**, v. 5, n. 7, p. 22-27, 2002.

RAFII, M. Y.; RAJANAIDU, N.; JALANI, B. S.; KUSHAIRI, A. Performance and heritability estimations on oil palm progenies tested in different environments. **Journal of Oil Palm Research**, v. 14, p. 15-24, 2002.

RUDIGER, H. Plant lectins – More than just tools for glycoscientists – Occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. **Acta Anatomica**, v. 161, p. 130-152, 1998.

RUDIGER, H.; GABIUS, H. J. Plant lectins – Occurrence, biochemistry, functions and application. **Glycoconjugate**, v. 18, p. 589-613, 2001.

SALLES, L. A.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SILVA, A. B. da. Sacarose e pH na germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 170-174, 2006.

SHARON, N.; LIS, H. **Lectins**. London, Chapman e Hall, 1989, 127p.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: From hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, p. 53R-62R, 2004.

SHIVANNA, K. R.; SAWHNEY, V. K. **Pollen biotechnology for crop production and improvement**. New York, Cambridge University Press, 2005, 468p.

SILVA, J. S. O. **Produtividade de óleo de palma na cultura do dendê na Amazônia Oriental: influência do clima e do material genético**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2006, 95p.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOUSA, A. S.; SANTOS, F. A. R.; REGO, E. J. L. Viability and action of CPL lectin on *in vitro* germinability of pollen grains of *Malpighia emarginata* DC. (Malpighiaceae). **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 53-58, 2013.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2005, 640p.

SOUTHWORTH, D. Lectins stimulate pollen germination. **Nature**, v. 258, p. 600-602, 1975.

VAN DAMME, E. J. M.; PEUMANS, W. J.; BARRE, A.; ROUGÉ, P. Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Plant Sciences**, v. 17, n. 6, p. 575-692, 1998.

VIANNA, M. R.; MARCO JUNIOR, P. de; CAMPOS, L. A. O. Manejo de polinizadores e o incremento da produtividade agrícola: uma abordagem sustentável dos serviços do ecossistema. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 144-147, 2007.

## **CAPÍTULO I**

**AVALIAÇÃO DE MEIO DE CULTURA NA GERMINAÇÃO *IN VITRO*  
DE GRÃOS DE PÓLEN DE DENDEZEIRO (*ELAEIS GUINEENSIS*  
JACQ. – ARECACEAE)**

## RESUMO

Os estudos sobre germinabilidade de grãos pólen são de grande importância para programas de melhoramento genético e conservação das espécies. O objetivo deste trabalho foi definir um protocolo para avaliar a germinação de pólen de *Elaeis guineensis* a partir de meios de cultura. Amostras de pólen foram coletadas de plantas de dendezeiro cultivadas no município de Nilo Peçanha (Bahia, Brasil). Previamente, foi usada solução azul de anilina em lactofenol para determinar a viabilidade do pólen. Foram utilizados dois meios de cultura para avaliar a taxa de germinação dos grãos de pólen: (M1) meio BK - Brewbaker e Kwack e (M2) – BCa, meio com adição de boro e cálcio. Ambos os meios foram usados com o teor de sacarose de 20% e pH 6,5. Os grãos de pólen foram desidratados em temperatura ambiente e em sílica gel durante 4 horas e posteriormente colocados em lâminas contendo os meios, mantidos numa placa de petri com papel filtro umedecido com água destilada, armazenados em BOD a 30°C durante 24 horas. Foram contados 1000 grãos de pólen para determinação das taxas de viabilidade e taxa de germinação. Os experimentos foram realizados com cinco amostras avaliadas por ANOVA e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com delineamento inteiramente casualizado. A maior taxa de viabilidade foi de 93,8% em grãos de pólen frescos. As maiores taxas de germinação foram de 25,5% para M1 e 63,7% para M2. Não houve correlação positiva entre a viabilidade e germinabilidade tanto para M1 como em M2 (correlação de Pearson e Spearman, respectivamente). Grãos de pólen desidratados apresentaram maiores taxas de germinação, principalmente quando a germinação foi conduzida no meio BCa (M2).

**Palavras-chave:** melhoramento genético, fisiologia vegetal, tubo polínico, viabilidade polínica, biologia reprodutiva.

## ABSTRACT

Studies of pollen grains germination are of great importance for breeding and species conservation programs. This study aimed to establish a protocol to evaluate culture media for pollen germination of *Elaeis guineensis*. Pollen samples were collected from oil palm plants grown in the municipality of Nilo Peçanha (State of Bahia, Brazil). Previously, it was used a solution of aniline blue in lactophenol to determine the viability of the pollen grains. Two culture media were used to evaluate the germination rate of the pollen grains: (M1) BK - Brewbaker and Kwack medium and (M2) BCa, medium with addition of boron and calcium. Both media were used with sucrose content of 20% and 6.5 pH. The grains were dried at room temperature and silica gel for 4 hours and later were placed on slides containing means, kept in a Petri dish with filter paper wetted with distilled water, stored in chamber at 30 ° C for 24 hours. The experiments were conducted on five samples evaluated by ANOVA and Tukey test at 5% in DIC. The greater viability rate was 93.8% in fresh pollen grains. The highest germination rates were 25.5% and 63.7% for M1 to M2, respectively. There was no positive correlation between viability and germination both M1 and M2 (Pearson's and Spearman's correlation, respectively). Dried pollen grains presented higher germination rates, mainly if the germination were conduct on M2.

**Keywords:** breeding program, plant physiology, pollen tube, pollen viability, reproductive biology.

## 1.1 INTRODUÇÃO

As palmeiras pertencem à família Arecaceae que apresenta distribuição pantropical e é constituída por 240 gêneros e 2700 espécies devidamente catalogadas. (LORENZI et al., 2010).

Quanto ao uso, as palmeiras são fonte de alimento, de bebidas nutritivas e fermentadas, materiais de construção, fibras, marfim vegetal, muitos tipos óleos e estimulantes (BALLICK; BECK, 1990).

*Elaeis guineensis* Jacq. (Dendezeiro) é uma espécie muito importante entre as palmeiras domesticadas. De acordo com Boari (2008) a cultura do dendê destaca-se na agricultura mundial, pois apresenta elevada produção de óleo por unidade de área, alcançando uma produtividade média de 4 a 5 toneladas de óleo por hectare ao ano. Outro fator de importância econômica é a capacidade de produção de combustível proveniente de uma fonte de energia renovável.

No Brasil, as maiores parcelas de cultivo do dendê estão situadas na região amazônica – mais de 60.000 hectares, sendo o estado do Pará o maior produtor brasileiro, tanto do azeite de palma, quanto do óleo de palmiste, responsável por 80% da produção nacional (CARVALHO et al., 2001).

Por serem importantes modelos biológicos, os grãos de pólen têm atraído a atenção de pesquisadores para estudos diversos, sendo aplicados, especialmente, em espécies de elevado valor econômico (SHIVANNA; SAWHNEY, 2005).

Os estudos sobre polinização agrícola destacam-se pela obtenção de um aumento considerável dos níveis de produção da cultura. A análise da germinação e viabilidade polínica são ferramentas importantes, tendo em vista que a taxa de pólen germinado é proporcional à quantidade de sementes e frutos produzidos (VIANA et al., 2007).

A viabilidade polínica é comumente utilizada em estudos de biologia reprodutiva e melhoramento genético para determinação e seleção de genótipos, onde testes colorimétricos são usados para determinar taxas de grãos de pólen que apresentam conteúdo celular (SOUZA et al., 2014).

A germinação de grãos de pólen *in vitro* permite verificar sua viabilidade, sendo de grande importância em programas de melhoramento atuando como parâmetro de seleção de genótipos. O método consiste em germinar por determinado período uma pequena amostra de grãos de pólen em meio apropriado. É estabelecido então o número de grãos de pólen que produziram tubo polínico viável – sendo considerados aqueles

que apresentam comprimento maior que o diâmetro do grão de pólen (SALLES et al., 2006).

A manutenção da viabilidade polínica está relacionada aos fatores intrínsecos à espécie, bem como às condições de armazenamento dos grãos. Para se obter estimativas confiáveis de viabilidade do pólen armazenado é necessário dispor de um meio de cultura que possibilite a expressão do seu potencial fisiológico para a formação do tubo polínico (SALLES et al., 2006).

A maior parte dos tubos polínicos tem seu crescimento interrompido antes de obter o tamanho normalmente alcançado no estigma. A composição do meio e o pH estão entre os fatores que afetam a sua germinação (CHEUNG; WU, 2008).

Os grãos de pólen das angiospermas invariavelmente precisam de uma fonte de carbono, boro e frequentemente a composição do meio deve prover de outros nutrientes para promover a germinação (GALLETTA, 1983).

Souza et al. (2014) avaliaram cinco tipos de meio na germinação *in vitro* de Bromelaceae e apontam a importância de se ajustar e determinar o meio de cultura onde será efetuada a germinação dos grãos de pólen. Segundo os mesmos autores, a variedade de resultados encontrados e a eficiência do uso de meios deve-se ao fato de que cada espécie pode apresentar diversidade em seus aspectos fisiológicos. Dentre as variáveis que envolvem esse processo são necessários ajustes da temperatura, pH, concentração de sacarose, presença ou ausência de íons específicos e luminosidade.

A literatura recente mostra que no melhoramento genético de dendê pode haver problemas na frutificação e formação de cachos devido à baixa viabilidade de grãos de pólen em híbridos (CHIA, 2009; MOURA et al., 2010). Dessa forma é necessário o desenvolvimento de trabalhos que gerem mais informações relacionadas a germinabilidade polínica desse grupo. O objetivo deste trabalho foi definir um protocolo para avaliar a germinação de pólen de *Elaeis guineensis* a partir de meios de cultura.



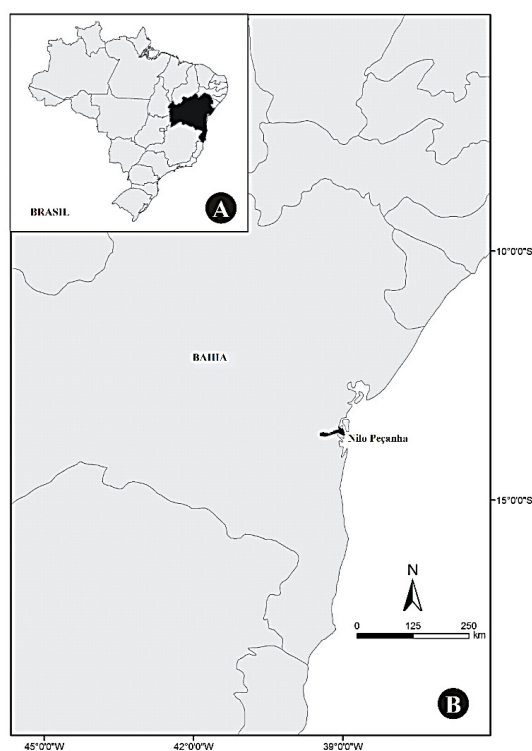
## 1.2 METODOLOGIA

### 1.2.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE PÓLEN

Os grãos de pólen foram coletados entre as 6:00 h e 8:00 h, logo após a antese de inflorescências de populações de *E. guineensis* (dendezeiro), de plantas localizadas na “Costa do Dendê” do Recôncavo baiano, no município de Nilo Peçanha/Bahia, latitude: 13°36'13" sul e longitude: 39°6'14" oeste (Fig. 1). Os grãos de pólen foram colocados em tubos Falcon de 15 ml, mantidos em caixa de isopor com uma lâmina d'água na parte inferior, a fim de manter o potencial de umidade relativa, por um período máximo de 6 horas.

### 1.2.2 PROCESSAMENTO EM LABORATÓRIO

Sob condições controladas no Laboratório de Germinação do Horto Florestal/UEFS, uma alíquota das amostras do pólen foi separada para acetólise láctica (RAYNAL; RAYNAL, 1971) para realização de análises morfométricas dos grãos de pólen. Testes preliminares foram utilizados para determinar o melhor teor de sacarose (5%, 10%, 20%, 30%), o pH (6,0, 6,5, 7,0) e condições de germinação na presença ou ausência de luz. A efetivação dos experimentos ocorreu com cinco amostras (mensais) coletadas no período de outubro/2014 a fevereiro/2015, cada amostra com 4 repetições.



**Figura 1.** Localização da área do estudo. **A** - Brasil destaque do estado da Bahia, **B** – Município de Nilo Peçanha, onde foi coletado os grãos de pólen de dendezeiro (*Elaeis guineensis*).

### 1.2.3 VIABILIDADE POLÍNICA

Para a determinação da viabilidade dos grãos de pólen, foi adotado o teste de azul de anilina em lactofenol (KEARS; INOUE, 1993). Foram considerados viáveis os grãos de pólen de coloração azul e não viáveis os pálidos ou esbranquiçados. A taxa de viabilidade foi determinada em 1.000 grãos de pólen para cada amostra e expressa em porcentagem.

### 1.2.4 TIPOS DE DESIDRATAÇÃO E GERMINAÇÃO *IN VITRO*

Quanto ao procedimento de desidratação foram utilizados três tipos: 1) pólen fresco/controle (PF); 2) pólen exposto em condições ambiente (25 °C por 4 horas – PS1); pólen exposto em condições controladas de desidratação, tipo câmara seca, contendo uma camada ao fundo de sílica gel, a 25 °C e 4 horas (PS2).

A taxa de germinação ocorreu com a exposição dos grãos de pólen em dois meios: (M1) meio BK ( $H_3BO_3$  0,01% +  $KNO_3$  0,01% +  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,02% +  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  0,03% + Ágar 0,3%) (BREWBAKER; KWACK, 1963) e (M2) meio BCa ( $H_3BO_3$  0,01% +  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  0,03% + Ágar 0,3%), ambos ajustados com sacarose a 20% e pH 6,5.

Posteriormente aos tratamentos de desidratação, os grãos de pólen foram dispostos em quatro lâminas contendo os respectivos meios de germinação, M1 e M2. O conjunto de lâminas contendo os grãos de pólen foram mantidos em placas de Petri, com papel filtro umedecido com água destilada e armazenadas em B.O.D. (*Biological Oxygen Demand*) a 30 °C durante 24 horas. As taxas de germinação foram determinadas em 1000 grãos de pólen (250/lâmina) para cada tratamento de cada amostra.

Os grãos de pólen foram considerados germinados quando o comprimento do tubo polínico foi maior que o dobro do diâmetro do grão de pólen (SOUSA et al., 2013). Os grãos de pólen germinados foram corados com azul de anilina a 1% e em seguida foram fotomicrografados em microscópio óptico de campo claro.

### 1.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para efeito de análise estatística o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, considerando cinco amostras. Os dados relativos a viabilidade e germinabilidade foram analisados através da ANOVA (Analysis of variance), com 95% de confiabilidade e para efeito de diferenças entre tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, analisado em esquema fatorial 3

x 2 (PF, PS1 e PS2 x M1 e M2), e pela Correlação de Pearson e Spearman, utilizando o software livre Assistat 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2009).

## RESULTADOS

*Elaeis guineensis* apresenta grãos de pólen tricotomossulcados ocorrendo em mônades, com diâmetro c. 46,3 µm (Fig. 2A-B). É pela abertura em forma de Y que o tubo polínico se exterioriza em sua região central. Os tubos polínicos têm comprimento variável com o estágio de desenvolvimento e diâmetro entre 14,0 µm e 22,0 µm (Fig. 2C-F), observados em vista polar.

Durante a realização dos ensaios para efetivação dos experimentos foram feitos testes de germinação na presença e ausência de luz. A partir dos resultados desses testes preliminares foram estabelecidas a concentração ideal de sacarose (20%), nível de pH = 6,5 e na ausência de luz, que foram utilizados nos experimentos posteriores.

Não houve diferença significativa entre a viabilidade dos grãos de pólen quando comparados tipos de dessecação (PF, PS1 e PS2). Contudo os grãos de pólen dessecados em sílica apresentaram maior taxa de viabilidade em relação aos grãos de pólen frescos (Tabela 1), que apresentaram as menores taxas de viabilidade.

**Tabela 1.** Viabilidade de grãos de pólen (%) de *Elaeis guineensis* determinada com lactofenol azul de anilina: PF – pólen fresco, PS1 – pólen dessecado a 25 °C por 4 h, PS2 – dessecado em sílica gel a 25 °C por 4 h.

Amostras	PF	PS1	PS2
I – Out/2014	93,0	89,0	86,0
II – Nov/2014	96,0	93,0	90,0
III – Dez/2014	97,0	93,0	91,0
IV – Jan/2015	88,0	82,0	78,0
V – Fev/2015	95,0	90,0	88,0
<b>Médias*</b>	<b>93,8</b>	<b>89,4</b>	<b>86,6</b>
Erro	1,6	2,0	2,3

\* Médias não diferem estatisticamente por ANOVA a 95%

A taxa de germinação *in vitro* dos grãos de pólen nos diferentes tratamentos apresentaram diferença significativa ( $F = 50,14$ ,  $p < 0,001$ ).

Os valores médios de germinabilidade de PF foram os menores em ambos os meios testados (M1 = 15,4% e M2 = 22,0%). Os valores mais elevados de germinabilidade foram obtidos com os grãos de pólen desidratados por 4 h sem e com sílica (PS1 e PS2, respectivamente) e germinados no meio M2 (Tabela 2). Esse tipo de

resultado mostra que os grãos de pólen do dendê apresentam algum mecanismo de tolerância a desidratação e que isso pode estar estimulando o aumento da germinação.

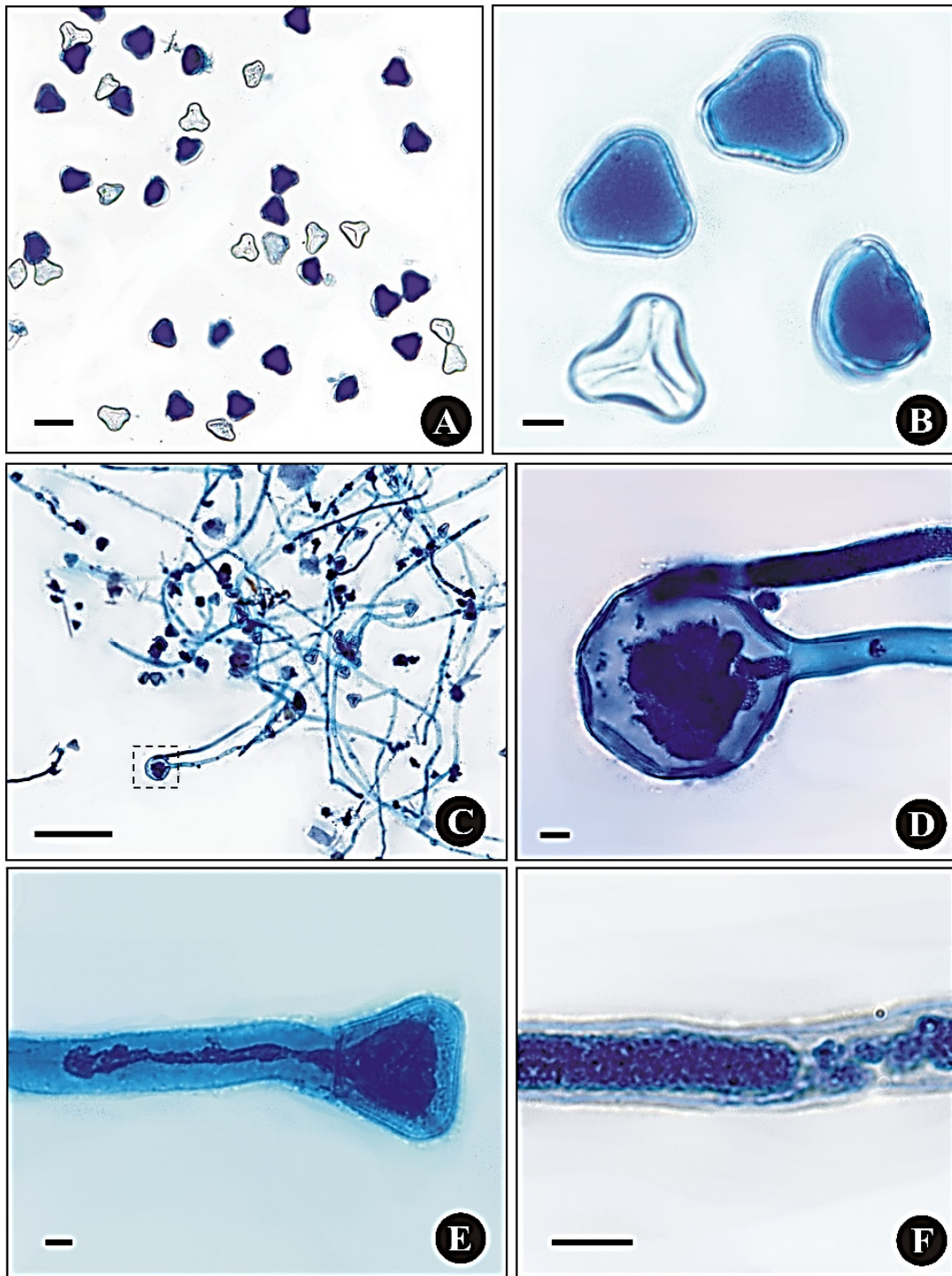
**Tabela 2.** Germinabilidade (%) dos grãos de pólen de *Elaeis guineensis* em diferentes tratamentos: M1 – meio BK, M2 – meio BCa, PF – pólen fresco, PS1 – pólen dessecado a 25 °C por 4 h, PS2 - dessecado em sílica gel a 25 °C por 4 h.

Meios de Cultura	Tratamentos		
	PF	PS1	PS2
Amostras M1	8,0	16,5	18,6
	11,1	18,9	22,4
	12,5	20,3	23,1
	19,7	24,4	25,8
	25,7	31,3	37,8
<b>Médias*</b>	<b>15,4<sup>b</sup></b>	<b>22,3<sup>b</sup></b>	<b>25,5<sup>b</sup></b>
Erro	3,1	2,6	3,2
Amostras M2	14,5	50,6	56,2
	18,8	55,6	61,2
	21,5	57,6	63,8
	22,7	58,6	62,7
	32,3	65,1	74,6
<b>Médias *</b>	<b>22,0<sup>b</sup></b>	<b>57,5<sup>a</sup></b>	<b>63,7<sup>a</sup></b>
Erro	3,0	2,4	3,0

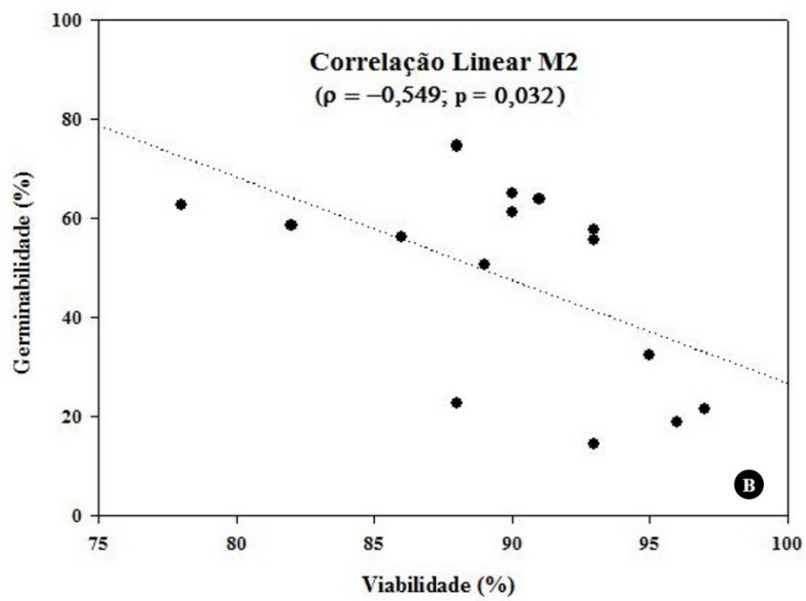
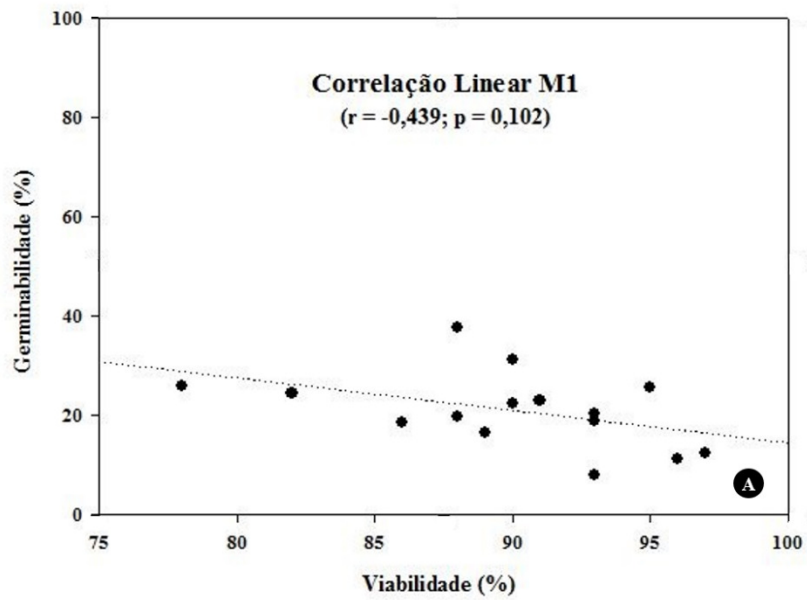
\* Médias seguidas pela mesma letra, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% probabilidade

A aplicação do teste de normalidade de Shapiro-Wilk ( $p = 0,05$ ) revelou que os dados de viabilidade apresentaram normalidade ( $p$ -valor = 0,38), enquanto que os dados de germinabilidade para M1 foram normais ( $p$ -valor = 0,93) e para M2 não normais ( $p$ -valor = 0,02). Desta forma, foi escolhida a correlação de Pearson (Fig. 3A) para M1 e a correlação de Spearman para M2 (Fig. 3B).

As taxas de viabilidade polínica foram altas (78-97%), enquanto as taxas de germinação foram, em sua maioria, baixas (8 - 37,8% M1; 14,5 - 74,6% M2), assumindo comportamento inversamente proporcional. Os testes estatísticos demonstraram correlação negativa moderada entre viabilidade e germinabilidade tanto para o meio M1 como M2 ( $r = -0,439$  e  $\rho = -0,549$ , respectivamente).



**Figura 2.** Viabilidade e germinabilidade de grãos de pólen de *Elaeis guineensis*. **A, B** – grãos de pólen viáveis (escuro) corados com lactofenol azul de anilina, **C** - germinação dos grãos de pólen, detalhe do inchaço da zona clara no ápice do tubo polínico (quadrado pontilhado), **D** – Destaque do inchaço da zona clara evidenciando fibras do córtex realizando a expansão do ápice e a presença do conteúdo citoplasmático, **E** - fibras de actina do protoplasto direcionando a formação do tubo, **F** - fibras de actina polarizadas com maior concentração na região central dos tubos polínicos. (Escala = A, C -50µm; B, D, F - 10 µm).



**Figura 3.** **A** – Correlação de Pearson para M1, **B** – Correlação de Spearman para M2, 5% de probabilidade entre as taxas de viabilidade e germinação.

### 1.3 DISCUSSÃO

O sucesso da germinação *in vitro* de grãos de pólen depende de vários fatores tanto endógenos quanto exógenos tais como o estado nutricional das plantas, horário e método de coleta dos grãos de pólen, fotoperíodo, temperatura, período de incubação e composição do meio de cultura (SOARES et al., 2008; SOUZA et al., 2014). O ajustamento inicial da composição do meio da concentração de sacarose (a 20%) e seu pH (6,5) foi importante para testar a eficácia dos dois meios utilizados para a promoção da formação tubo polínico de *E. guineensis*.

Para verificação da viabilidade polínica por um método colorimétrico, o lactofenol azul de anilina (Fig. 2A, B) foi selecionado por sua capacidade de produzir baixa taxa de falso positivo quando comparados a outros métodos (SOUSA et al., 2013).

O meio BK (M1) foi desenvolvido em 1963 para testar grãos de pólen de espécies com dificuldades de germinação *in vitro* em relação aos meios convencionais, contendo apenas diferentes concentrações de sacarose e/ou do ácido bórico. A distinção básica do meio BK está na adição de íons inorgânicos ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{H}^+$ ), além do boro, que estimula a germinação e o crescimento do tubo polínico, uma vez que esses são elementos indispensáveis à germinação do pólen (BHOJWANI; BATHNAGAR, 1974; STANLEY; LINSKENS, 1974).

O meio BCa, contendo apenas sacarose, ácido bórico e nitrato de cálcio também é bastante utilizado em testes de germinabilidade de grãos de pólen de diversas fruteiras, como pêra (SALLES et al., 2006), laranja (PIO et al., 2007), acerola (SOUSA et al., 2013), banana (SOUZA et al., 2014), apresentando taxas significantes de germinação, acima de 60%. Esse meio apresentou taxas significantes de germinabilidade, o que se explica por apresentar além da fonte de energia (sacarose), os íons considerados essenciais para germinabilidade polínica ( $\text{H}^+$ ,  $\text{B}^{3+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ).

Segundo Bastos; Carvalho (2004), os prótons de hidrogênio mantêm o pH ácido propiciando abertura de canais iônicos e ativação metabólica de enzimas, enquanto o cátion trivalente de boro liga-se aos carboidratos formando um complexo açúcar-borato, que atua no transporte de membrana desses açúcares que serão usados no fornecimento de energia para formação do tubo polínico.

O cátion bivalente de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) possui papel fundamental na polarização do citoesqueleto e das fibras de actina (Fig. 2C, E, F), no seu bidirecionamento

(crescimento na região central no sentido apical do tubo polínico e crescimento no córtex no sentido contrário) e na movimentação de organelas através de fibras de miosina (KIRKBY; RÖMHELD, 2007; KONRAD et al., 2011; QIN; YANG, 2011; HEPLER et al., 2012; STEINHORST; KUDLA, 2013; CAI et al., 2015).

Além disso, o íon  $\text{Ca}^{2+}$  regula as fibras de actina e outras proteínas na região apical do tubo polínico denominada de Zona Clara (Fig. 2D). Essa região é livre de amiloplastos e elementos vacuolares, mas que apresenta organelas do sistema de endomembranas e mitocôndrias, atuando no intumescimento dessa porção distal do tubo polínico, que provavelmente proporciona sua ruptura e liberação das células espermáticas para posterior fecundação, sendo considerada como indicativo do vigor da germinabilidade polínica para estudos de biologia reprodutiva (HEPLER et al., 2012; ROUNDS; BEZANILLA, 2013; ROUNDS et al., 2014; HEPLER; WINSHIP, 2015).

Apesar de não ter alcançado alto desempenhos na germinação dos grãos de pólen de *Elaeis guineensis*, o meio M1 (BK) tem sido empregado com sucesso para diversas espécies agrícolas, ornamentais e florestais (AKORODA, 1984; RATHORE; CHAUHAN, 1985; BOWES, 1990; CONNOR; TOWILL, 1993; KAKANI et al., 2005; PRASSAD et al., 2011).

O meio M1 (BK) difere de M2 (BCa) pela presença dos íons  $\text{K}^+$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , ambos atuam como cofatores enzimáticos das vias metabólicas da respiração celular, essencial para ativação do metabolismo de grãos de pólen (MAATHUIS, 2009).

Konrad et al. (2011) identificaram que no crescimento do tubo polínico canais proteicos regulados pelo gradiente de  $\text{Ca}^{2+}$  apresentam dupla função, regulando também canais de  $\text{K}^+$  e concentrações elevadas desse íon podem inibir absorção do íon  $\text{Mg}^{2+}$ , deste modo não fica evidente a necessidade da adição desses íons no meio de cultura.

Foi observado nos experimentos que a germinação do pólen de *E. guineensis* só ocorria em taxas elevadas após sua desidratação. Edlund et al. (2004) e Cheung; Wu (2008) descreveram que a fase inicial da germinação dos grãos de pólen é a sua hidratação e ativação do metabolismo, que fornecem um rápido crescimento do tubo polínico na direção do saco embrionário, onde ocorrerá a fertilização, deste modo os grãos de pólen em linhas gerais necessitam sofrer estresse hídrico para posteriormente serem reidratados.

Chia et al. (2009) realizando experimentos de cruzamentos de hibridização interespecífica entre o caiaué (*Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés) e o dendezeiro (*E. guineensis*), encontraram taxas de germinação mais baixas que o presente trabalho, isso



pode ter sido devido ao tempo de desidratação dos grãos de pólen que foi procedido em temperatura ambiente por 24 h, que pode ter ocasionado desidratação excessiva, ao invés de 4 h usadas em nossos experimentos.

Apesar da existência de publicações nas quais testes colorimétricos são usados como parâmetro de vigor polínico (NUNES et al., 2012; CABRAL et al., 2013), as correlações realizadas (Fig. 3) entre viabilidade e germinabilidade para ambos os meios estudados são negativas. Isto significa que não se deve usar a colorimetria como indicativa da viabilidade polínica, pois ela apenas pode apontar para a presença de conteúdo celular, o que necessariamente não implica a formação do tubo polínico e posterior fecundação.

Desta forma, conclui-se que o meio BCa (M2) é eficiente para realização de experimentos de germinação *in vitro* de *E. guineensis* (dendezeiro), nas condições dispostas de concentração de sacarose e íons, pH, temperatura e tempo de incubação na ausência de luz. Quanto à desidratação dos grãos de pólen os melhores resultados foram obtidos a partir do uso de desidratação controlada em sílica gel por período de quatro horas. No entanto fica evidente a necessidade de comparação com testes de germinação *in vivo*.

## 1.4 REFERÊNCIAS

- AKORODA, M. O. Estimating pollen viability for controlled hybridization in white yam. **Crop Research**, v. 24, p. 11-22, 1984.
- BALLICK, M. J.; BECK, H. T. **Useful palms of the world: A synoptic bibliography**. New York, Columbia University Press, 1990,724p.
- BASTOS, A. R. R.; CARVALHO, J. G. Absorção radicular e redistribuição do boro pelas plantas e seu papel na parede celular. **Revista Universitária Rural, Seropédica**, v. 24, n. 2, p. 47-66, 2004.
- BHOJWANI, S. S.; BHATNAGAR, S. P. **The embryology of angiosperms**. New Delhi, Sylark Painters, 1974, 368p.
- BOARI, A. de J. **Estudos realizados sobre o amarelecimento fatal em dendezeiros (*Elaeis guineensis* Jacq.)**. Belém, EMBRAPA, 2008, 67p.
- BOWES, S. A. Long term storage of narcissus anthers and pollen in liquid nitrogen. **Euphytica**, v. 48, n. 3, p. 275-278, 1990.
- BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollengermination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, p. 859-865, 1963.
- CABRAL, J. C.; ROSSI, A. A. B.; KLEIN, M. E.; VIEIRA, F. S.; GIUSTINA, L. D. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes calorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 2780-2788, 2013.
- CAI, G.; PARROTTA, L.; CRESTI, M. Organelle trafficking, the cytoskeleton, and pollen tube growth. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 57, p. 63-78, 2015.
- CARVALHO, A. R. V. de; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M. **O Dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.)**. Rio de Janeiro, Embrapa Agrobiologia, Documentos, 2001, 45p.
- CHEUNG, A. Y.; WU, H. Structural and signaling networks for the polar cell growth machinery in pollen tubes. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 547-572, 2008.
- CHIA, G. S.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; ROCHA, R. N. C. Germinação *in vitro* de pólen de híbridos interespecíficos entre o caiuê e o dendezeiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1569-1571, 2009.

- CONNOR, K. F.; TOWILL, L. E. Pollen handling protocol and hydration/dehydration characteristics of pollen for application to long-term storage. **Euphytica**, v. 68, p. 77-84, 1993.
- EDLUND, A. F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function: The role of diversity in pollination. **Plante Cell**, v. 16, p. 84-97, 2004.
- GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana, [s.n.], p. 23-47, 1983.
- HEPLER, P. K.; KUNKEL, J. G.; ROUNDS, C. M.; WINSHIP, L. J. Calcium entry into pollen tubes. **Trends Plant Science**, v. 17, p. 32-38, 2012.
- HEPLER, P. K.; WINSHIP, L. The pollen tube clear zone: Clues to the mechanism of polarized growth. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 57, p. 79-92, 2015.
- KAKANI, V. G. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. **Annals of Botany**, v. 96, p. 59-67, 2005.
- KEARS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot, University Press of Colorado, 1993, 583p.
- KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: Funções absorção e mobilidade. **Informações Agronômicas**, v. 118, p. 1-24, 2007.
- KONRAD, K. R.; WUDICK, M. M.; FEIJO, J. A. Calcium regulation of tip growth: new genes for old mechanisms. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, p. 721-30, 2011.
- LORENZI, H.; NOBLICK, L.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira: Arecaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa, Instituto Plantarum da Flora Ltda, 2010, 384p.
- MAATHUIS, F. J. M. Physiological functions of mineral macronutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 250-258, 2009.
- MOURA, J. I. L.; CIVIDANES, F. J.; PIRES, J. L.; SANTOS, L. P.; VALLE, R. R.; DELABIE, J. H. C.; SANTOS, E. A. Behavior of Curculionidae pollinators on oil palm inflorescences in the state of Bahia, Brasil. **Agrotrópica**, v. 22, p. 50-45, 2010.

- NUNES, R. C.; BUSTAMENTE, F. O.; TECHIO, V. H.; MITTELMANN, A. Morphology and pollen viability of *Lilium multiflorum* Lam. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, p. 180-188, 2012.
- PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. S.; RUFINI, J. C. M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 147-153, 2007.
- PRASSAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, Jr. L. H. Longevity and temperature response of pollen as affected by elevated growth temperature and carbon dioxide in peanut and grain sorghum. **Environmental and Experimental Botany**, v. 70, p. 51–57, 2011.
- QIN, Y.; YANG, Z. Rapid tip growth: insights from pollen tubes. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 22, p. 816-824, 2011.
- RATHORE, V.; CHAUHAN, S. V. S. *In vitro* pollen germination in some Bignoniaceae. **Indian Journal of Forestry**, v. 8, n. 2, p. 99-102, 1985.
- RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de preparation des grains des pollen fragiles. **Adansonia**, v. 2, n. 11, p. 77-79, 1971.
- ROUNDS, C. M.; BEZANILLA, M. Growth mechanisms in tip-growing plant cells. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 243-265, 2013.
- ROUNDS, C. M.; HEPLER, P. K.; WINSHIP, L. J. The apical actin fringe contributes to localized cell wall deposition and polarized growth in the lily pollen tube. **Plant Physiology**, v. 166, p. 139-151, 2014.
- SALLES, L. A.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SILVA, A. B. da. Sacarose e pH na germinação in vitro de grãos de pólen de citros. Lavras. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 170-174, 2006.
- SHIVANNA, K. R.; SAWHNEY, V. K. **Pollen biotechnology for crop production and improvement**. New York, Cambridge University Press, 2005, 468p.
- SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. *In: World congress on computers in agriculture*, Reno, American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOUZA, A. S.; SANTOS, F. A. R.; REGO, E. J. L. Viability and action of CPL lectin on *in vitro* germinability of pollen grains of *Malpighia emarginata* DC. (Malpighiaceae). **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 53-58, 2013.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; BRANCALLEÃO, N.; LEDO, C. A. S.; MARTINELLI, A. P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. **Euphytica**, v. 44, p. 37-42, 2014.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen biology biochemistry management**. Berlin, Springer-Verlag, 1974, 307p.

STEINHORST, L.; KUDLA, J. Calcium: A central regulator of pollen germination and tube growth. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1833, p. 1573-1581, 2013.

VIANNA, M. R.; MARCO Jr, P. de; CAMPOS, L. A. O. Manejo de polinizadores e o incremento da produtividade agrícola: uma abordagem sustentável dos serviços do ecossistema. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, p. 144-147, 2007.

## CAPÍTULO II

AÇÃO DE LECTINAS NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE GRÃOS DE  
PÓLEN DE DENDEZEIRO (*ELAEIS GUINEENSIS* JACQ –  
ARECACEAE)

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a ação das lectinas (proteínas de ligação com carboidratos) na germinabilidade polínica de *Elaeis guineensis* proveniente da “Costa de Dendê” Bahia. Os experimentos usaram lectinas extraída a partir de sementes de *Crotalaria pallida* Aiton. (lectina CPL), *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jacalina) e *Canavalia ensiformis* L. (DC.) (Concanavalina A). Para determinar a taxa de germinação foi utilizado o meio BCa, (Boro e Cálcio) como controle, contendo sacarose a 20% e pH 6,5. Foram adicionas lectinas ao controle em concentrações de 3,0 µg/ml e 5,0µg/ml, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial 3 X 2 + 1 (Lectinas x Concentração + Controle), O pólen foi desidratado em sílica-gel durante 4h e foram montadas lâminas mantidas numa câmara úmida em placas de Petri, armazenadas em B.O.D. a 30 °C durante 24 horas e contados mil grãos de pólen para determinação das taxas de viabilidade e germinabilidade. Com base na análise de variância com teste de Tukey a 5% observou-se diferença entre tratamentos e que o uso da Jacalina propiciou as menores taxas de germinação em ambas as concentrações – respectivamente, 22,5% e 23,1%. As lectinas CPL e Concanavalina A, ambas na concentração de 5,0 µg/ml, proporcionaram taxas de germinação > 81,0%, sendo o valor superior ao tratamento controle. As diferenças em relação às concentrações das lectinas levam a uma discussão e novas possibilidades de estudos relacionados a biotecnologia de pólen, devido sua grande importância em programas de melhoramento genético, biologia reprodutiva e de conservação de espécies.

**Palavras-chave:** melhoramento genético, fisiologia vegetal, glicoconjugados, tubo polínico, biologia reprodutiva.

## ABSTRACT

In order to assess the role of lectins (carbohydrate-binding proteins) on pollen germination of *Elaeis guineensis* (oil palm). Our experiments dealt with lectin extracted from seed of *Crotalaria pallida* Aiton (CpL lectin), *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jacalin) and *Canavalia ensiformis* L. (DC.) (Concanavalin A). Pollen samples were collected on oil palm crops in Bahia State. After being dried in silica gel for 4 hours, pollen grains were mounted on slides, kept in a humid chamber, and stored in B.O.D. at 30 °C for 24 hours. Pollen grains were released on a control medium (BCa) containing sucrose 20%, and pH 6.5 for germination. Experimental blocks in a 3 × 2 + 1 factorial design were used, which were composed of three treatments (lectins) and two concentrations (3.0 µg/ml and 5.0 µg/ml) plus the control medium (without lectin). Pollen grains on Jacalin media presented the lowest germination rates (22.5% and 23.1%), even lower than control treatment (57.0%). The germination of pollen grains used CpL and Concanavalin A, both were recorded on media with 5.0 µg/ml, had rates above 81%, with mean higher than the control. These relationships between high CpL and Concanavalin A concentration and pollen germination of *E. guineensis* open possibilities for studies on pollen biotechnology due the great importance to breeding programs, reproductive biology and conservation of species.

**Keywords:** breeding, plant physiology, glycoconjugate, pollen tube, reproductive biology.



## 2.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a maioria dos estudos com grãos de pólen da família Arecaceae estão relacionados à melissopalínologia, à palinotaxonomia (MORETTI et al., 2000; AIRES; FREITAS, 2001; RAMALHO et al., 2007), sendo escassos aqueles voltados à fisiologia do pólen (SOUSA et al., 2013).

Na região do estado da Bahia conhecida como “Costa do Dendê”, encontram-se diversas plantações de dendê, piaçava e outras palmeiras que são utilizadas na produção de óleo vegetal ou de fibras, e também de forma não racional é uma área utilizada como fonte de produção de pólen apícola (GUIMARÃES; MATTOS, 2012).

A fase inicial da germinação dos grãos de pólen é sua hidratação e ativação do metabolismo, que fornecem um rápido crescimento do tubo polínico em direção do saco embrionário, onde ocorrerá a fertilização (EDLUND et al., 2004). No decurso da ativação metabólica, o grão de pólen começa a excretar compostos produzidos pelo protoplasto. Entre proteínas liberadas pelo grão de pólen encontram-se enzimas, a exemplo da  $\beta$ -expansina e também proteínas e peptídeos que controlam o processo de reconhecimento do pólen, hidratação e crescimento do tubo polínico (LI; COSGROVE, 2001).

Segundo Viana et al. (2007), por meio de estudos sobre a polinização, pode-se obter um aumento considerável dos níveis de produção, bem como no tamanho e na qualidade dos frutos, contribuindo para bons rendimentos econômicos dos produtores. Estudos de germinação e viabilidade polínica são ferramentas relevantes à produção de frutos, tendo em vista que a taxa de pólen germinado é proporcional à quantidade de sementes e frutos produzidos.

A viabilidade polínica é comumente utilizada em estudos de biologia reprodutiva e melhoramento genético para determinação e seleção de genótipos, onde testes colorimétricos são usados para determinar taxas de grãos de pólen que apresentam conteúdo celular (SOUZA et al., 2014).

A germinação de grãos de pólen *in vitro* permite verificar seu vigor reprodutivo, sendo de grande importância em programas de melhoramento, especialmente de plantas frutíferas e de valor comercial. O método em geral consiste em fazer germinar uma pequena amostra de grãos de pólen em meio apropriado, seguida de observação e análise, depois de um determinado período, do número de grãos que produziram tubo polínico viável – aquele com comprimento maior que o diâmetro do respectivo pólen (SALLES et al., 2006).

Pesquisadores têm demonstrado interesse em avaliar diversos fatores físico-químicos associados à germinação do grão de pólen. Deste modo, estudos com grãos de pólen apontam para a verificação do desenvolvimento do tubo polínico com base em diferentes parâmetros: concentrações de íons de diferentes elementos (MA et al., 2000; FAN et al., 2001; ZHANG et al., 2007; GARCÍA-HOYOS et al., 2011), influência de poliaminas (SORKHEH et al., 2011), concentrações de ácido bórico na germinação do pólen (FRANZON et al., 2008).

Alguns autores têm levantado questões que envolvem aspectos da biologia celular, molecular e bioquímica da formação do tubo polínico. Por exemplo, Wolters-Arts et al. (1998) analisaram a função de lipídeos no comportamento do tubo polínico de *Brassica* e *Arabidopsis*; Matveeva et al. (2004) e Wan et al. (2008) abordaram a ação de proteínas glicoconjugadas – lectinas – atuantes na polarização da membrana citoplasmática do pólen de *Nicotiana tabacum* L e *Arabidopsis*, respectivamente.

Grubhoffer (2004) ressalta a importância do estudo das lectinas por estarem presentes em todos os grupos de eucariotos e por apresentarem funções distintas, intermediando diversos processos celulares.

O estudo clássico de Southworth (1975) verificou a influência de diferentes lectinas (concanavalina A e fitohemaglutinina) na formação de tubo polínico de *Lilium longiflorum* Thunb. Desde então, outros estudos têm seguido essa linha de pesquisa (MATVEEVA et al., 2007; SOUSA et al., 2013). As lectinas têm forte influência no reconhecimento do pólen e na sua futura germinação sobre o estigma, no qual envolve processos de incompatibilidade genética (FERRARI et al., 1981; CARVALHO, 1990).

Segundo Rudiger; Gabius (2001), ainda se desconhece se a parede do grão de pólen contém lectinas. Esses compostos são proteínas que interagem especificamente com carboidratos, mas sem modificá-los, e são moléculas que apresentam um ou diversos sítios de ligação com seus respectivos carboidratos. As lectinas produzem redes tridimensionais por ligação cruzada de glicoconjugados, que permitem a sua detecção, devido à sua precipitação ou aglutinação celular (SHARON; LIS, 2004).

Carpes et al. (2007) e Marghitas et al. (2009), ressaltam que além do conhecimento palinológico, deve-se buscar mais informações sobre as características físico-químicas dos grãos de pólen. O objetivo desse estudo foi avaliar a influência de lectinas na germinabilidade polínica e discutir as interações metabólicas da ação destas moléculas.

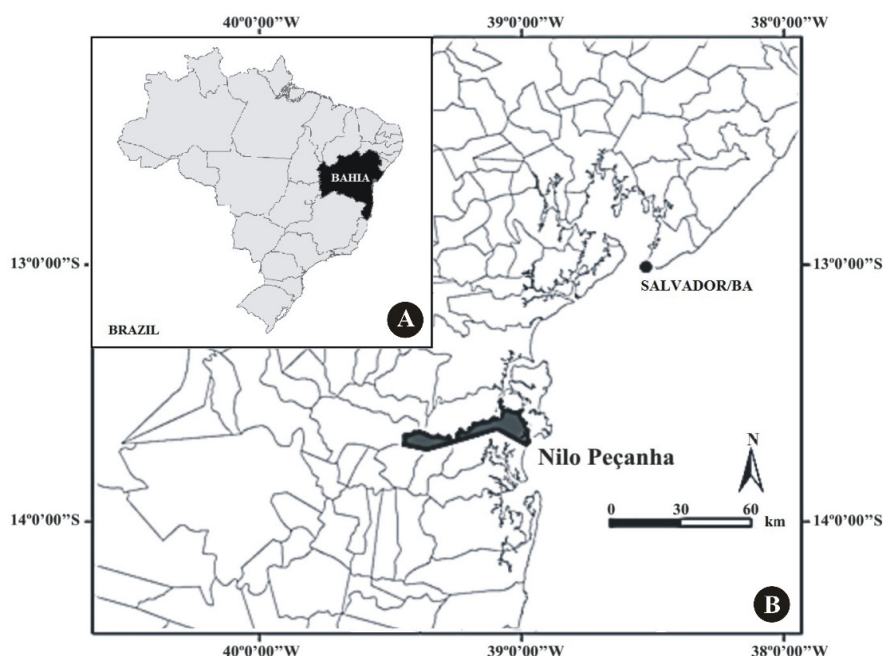
## 2.2 METODOLOGIA

### 2.2.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE PÓLEN

Os grãos de pólen foram coletados entre as 6:00 h e 8:00 h, logo após a antese de inflorescências de populações de *E. guineensis* (dendezeiro), de plantas localizadas na “Costa do Dendê” do Recôncavo baiano, no município de Nilo Peçanha/Bahia, latitude: 13°36'13" sul e longitude: 39°6'14" oeste (Fig. 1). Os grãos de pólen foram colocados em tubos Falcon de 15 ml, mantidos em caixa de isopor com uma lâmina d'água na parte inferior, a fim de manter o potencial de umidade relativa, por um período máximo de 6 horas.

### 2.2.2 PROCESSAMENTO EM LABORATÓRIO

Sob condições controladas no Laboratório de Germinação do Horto Florestal/UEFS, uma alíquota das amostras do pólen foi separada para estudo morfológico fazendo uso da acetólise láctica (RAYNAL; RAYNAL, 1971). Outra parte da amostra teve os grãos de pólen desidratados em ambiente tipo câmara seca, contendo uma camada de sílica gel ao fundo, mantidos a 25 °C por período de 4 horas, para posterior efetivação dos experimentos de viabilidade e germinação que ocorreram em cinco amostras mensais, coletadas no período de outubro/2014 a fevereiro/2015, cada amostra com 4 repetições.



**Figura 1:** Localização da área de estudo. **A** – Brasil, destaque do estado da Bahia, **B** - Sul da Bahia, detalhe do município de Nilo Peçanha onde foram coletadas as amostras de grãos de pólen.

### **2.2.3 VIABILIDADE POLÍNICA**

Para a determinação da viabilidade dos grãos de pólen, foi adotado o teste de azul de anilina em lactofenol (KEARS; INOUE, 1993). Foram considerados viáveis os grãos de pólen de coloração azul e não viáveis os pálidos ou esbranquiçados. A taxa de viabilidade foi determinada em 1.000 grãos de pólen para cada amostra e os resultados expressos em porcentagem.

### **2.2.4 GERMINAÇÃO *IN VITRO***

A germinação foi realizada em meio de cultura controle (BCa) contendo sacarose a 20%,  $H_3BO_3$  a 0,01%,  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  a 0,03%, ágar a 0,3% e pH 6,5. Foram utilizadas três lectinas nos ensaios: Lectina CPL extraída a partir de sementes de *Crotalaria pallida* Aiton. (REGO, 2002) e duas lectinas comerciais: Jacalina (JAC) de *Artocarpus heterophyllus* Lam. – Sigma cod. SRP6176 e Concanavalina A (ConA) de *Canavalia ensiformis* L. (DC) – Sigma tipo VI liofilizada, cod.L7647. As lectinas foram adicionadas ao meio controle em concentrações de 3,0 µg/ml e 5,0 µg/ml. Os grãos de pólen dessecados foram dispostos em lâminas contendo os respectivos meios. O conjunto de lâminas contendo os grãos de pólen foi mantido em placas de Petri, com papel filtro umedecido com água destilada e mantidas em B.O.D. (*Biological Oxygen Demand*) a 30 °C durante 24 horas. As taxas de germinação foram determinadas em 1000 grãos de pólen para cada tratamento por amostra.

Os grãos de pólen foram considerados germinados quando o comprimento do tubo polínico foi maior que o dobro do diâmetro do grão de pólen (SOUSA et al., 2013).

### **2.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Os dados relativos aos grãos de pólen, tanto de viabilidade quanto de germinabilidade, foram analisados através da ANOVA com adicional (Analysis of variance), com 95% de confiabilidade em arranjo fatorial  $3 \times 2 + 1$  (Lectinas  $\times$  Concentração + Controle) e as diferenças entre as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software livre Assistat 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2009).

## 2.3 RESULTADOS

O dendezeiro (*E. guineensis*) apresenta grãos de pólen tricotomossulcados ocorrendo em mônades, com diâmetro c. 46,3  $\mu\text{m}$  (Fig. 2A, B). É pela abertura em forma de Y que o tubo polínico se exterioriza em sua região central (Fig. 2B). Os tubos polínicos têm comprimento variável com o estágio de desenvolvimento e o diâmetro observado nas amostras variou entre 14,0  $\mu\text{m}$  e 22,0  $\mu\text{m}$  (Fig. 2C).

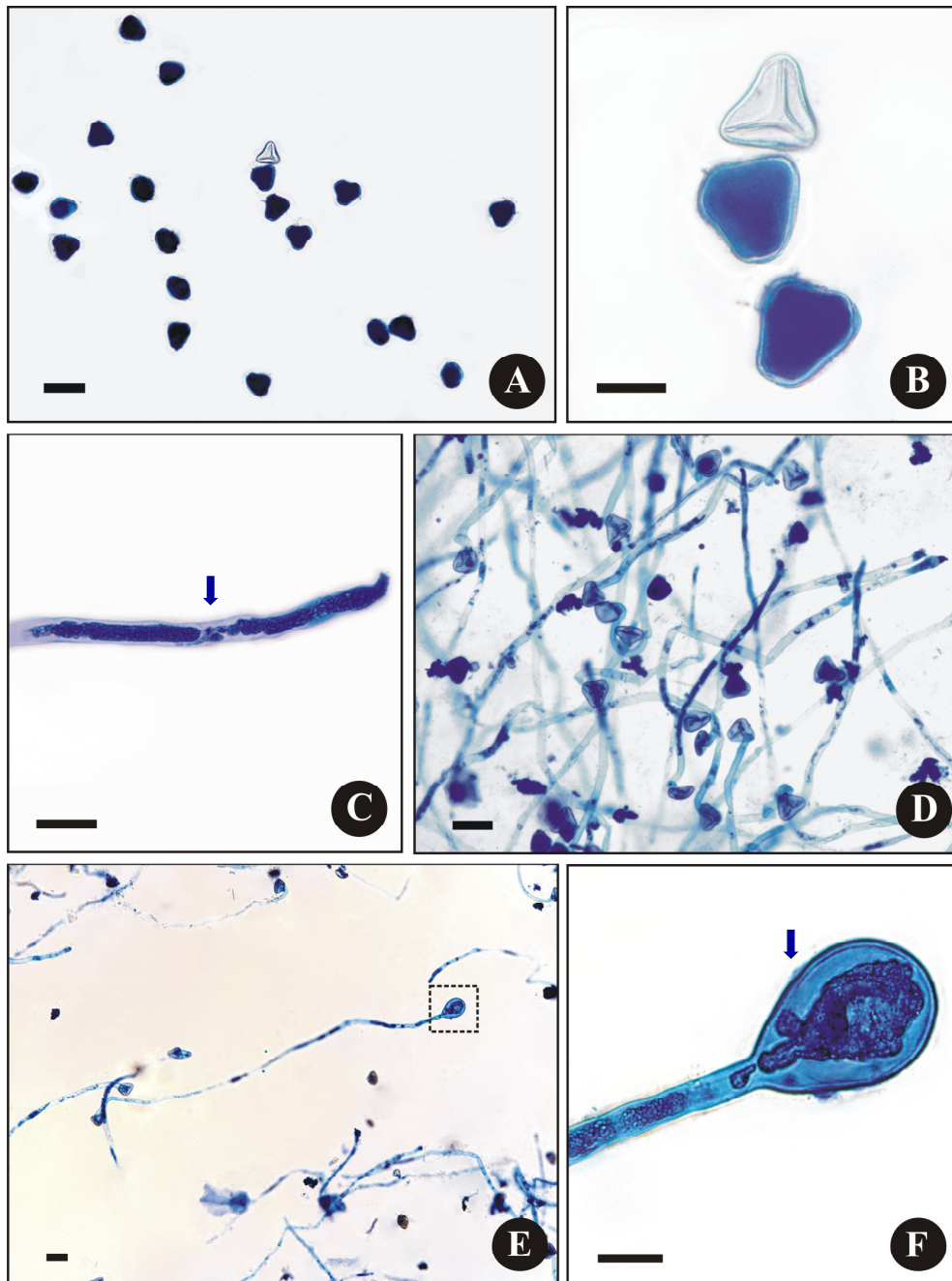
Com relação a germinabilidade (Fig. 2D-F) foi observada diferença significativa entre as médias dos tratamentos com lectinas em relação ao controle, apresentando um valor de teste F (9,07) acima do F tabelado (4,43) e p-valor < 0,001.

Tomando por base a análise de variância, as taxas de viabilidade polínica não apresentaram diferença significativa entre as amostras, mesmo possuindo variação entre 81% e 91%, com média de 87,8% (Fig. 3).

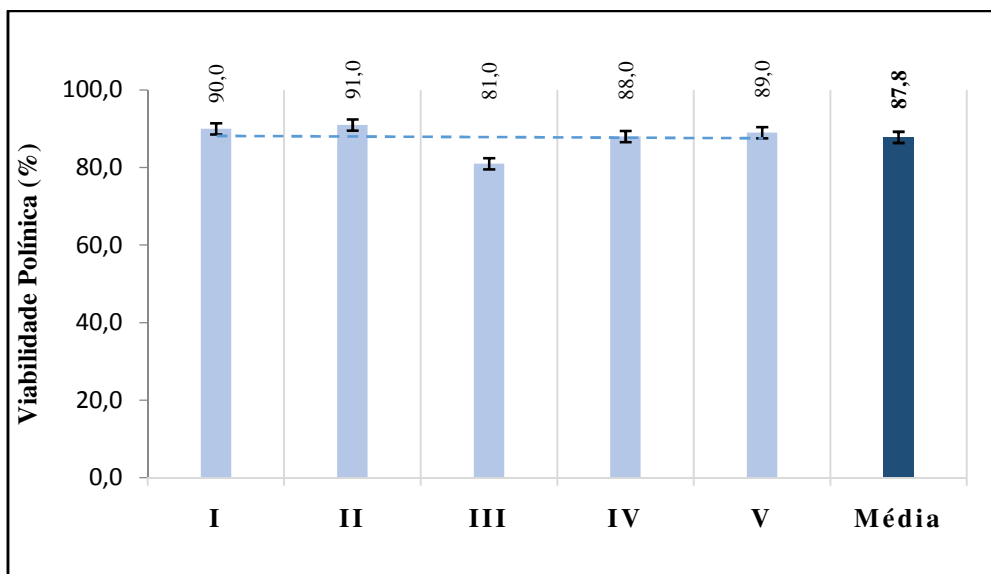
A partir do teste de diferença entre médias, a 5% de probabilidade (Tabela 1) verificou-se que Jacalina (JAC) proporcionou as menores taxas de germinação, em ambas as concentrações (22,5% e 23,1%).

O uso das lectinas CPL e ConA foram efetivas em ambas as concentrações, proporcionando taxas de germinação equivalentes ao do controle (63,7%) quando empregada na menor concentração de 3,0  $\mu\text{g/ml}$ . Quando utilizada na maior concentração (5,0  $\mu\text{g/ml}$ ), a taxa de germinação foi superior a 81% para ambos os compostos.

Os resultados observados demonstram claramente que as lectinas CPL e ConA atuam positivamente sobre o processo metabólico de formação do tubo polínico, em detrimento da lectina JAC que demonstrou atividade inibitória do processo.



**Figura 2:** Viabilidade e germinabilidade dos grãos de pólen de *E. guineensis* (dendezeiro). **A** – Grãos de pólen viáveis (escuro), corados com azul de anilina em lactofenol, **B** – Detalhe da extrusão do tubo polínico na região central da abertura, **C** – Conteúdo celular e fibras de actina (seta) polarizadas em maior concentração na região central dos tubos polínicos, **D** – Germinação de grãos de pólen, **E** – Detalhe do comprimento e inchaço do ápice do tubo polínico (pontilhado), **F** – Fibras do córtex (seta) realizando a expansão e intumescência do ápice, destaque aos componentes celulares na porção central. (Escala = A, D e E - 50µm; B, C e F - 20 µm).



**Figura 3.** Taxa de viabilidade (%) das amostras dos grãos de pólen de *Elaeis guineensis* (Arecaceae), em teste com azul de anilina em lactofenol. Linha de tendência em tracejado.

**Tabela 1.** Taxas de germinação de grãos de pólen de *Elaeis guineensis* (Dendezeiro) em meio de cultura BCa (Controle) e na presença das lectinas (CPL – Lectina de *Crotalaria pallida* JAC - Jacalina e ConA - Concanavalina A), nas concentrações de 3,0 e 5,0 µg/ml.

Amostras	Tratamentos						
	Controle	CPL 3,0	CPL 5,0	JAC 3,0	JAC 5,0	ConA 3,0	ConA 5,0
I	61,2	58,5	81,8	19,8	21,4	56,5	65,5
II	63,8	58,2	79,9	21,3	22,5	57,3	68,1
III	62,7	60,5	78,4	22,1	22,4	62,1	71,4
IV	58,6	73,8	83,3	25,7	25,3	71,5	82,8
V	65,1	79,9	87,6	23,5	23,7	80,2	89,2
<b>Média*</b>	<b>63,7<sup>b</sup></b>	<b>66,2<sup>b</sup></b>	<b>82,2<sup>a</sup></b>	<b>22,5<sup>c</sup></b>	<b>23,1<sup>c</sup></b>	<b>65,5<sup>b</sup></b>	<b>81,9<sup>a</sup></b>
Erro	1,2	4,3	1,6	1,0	0,7	4,5	4,5

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.



## 2.4 DISCUSSÃO

Os experimentos com grãos de pólen do dendezeiro (*E. guineensis*) foram processados com temperatura a 30 °C, tendo em vista que a temperatura na área de estudo ficava em temperatura similar durante as coletas, em torno de 28 a 32 °C, mensuradas com termo higrômetro.

A variação da temperatura é um fator físico que afeta a germinação de grãos de pólen. Kakani et al. (2005) e Acar; Kakani (2010) indicaram que tanto temperaturas altas (acima de 30 °C) e baixas (inferiores a 20 °C) podem afetar a germinabilidade polínica.

No presente estudo foi observado que as taxas de viabilidade estavam na faixa de 81-91%, não apresentando diferença significativa entre as amostras. Chia et al. (2009) observaram em seus estudos que grãos de pólen de dendezeiro (*E. guineensis*) podem apresentar uma ampla gama de viabilidade, (40-95%) dependendo da estação da coleta (seca ou chuvosa), do estado nutricional da planta ou do tipo de híbrido da espécie, por exemplo.

A diminuição da taxa de viabilidade de grãos de pólen após desidratação, o que muitas vezes é observado, como no presente estudo, pode estar relacionada com a perda de permeabilidade da água pela intina durante seu armazenamento e processamento, com a subsequente redução da hidratação como afirma Ferri et al. (2008).

Assim, considerando que foram utilizados grãos de pólen de flores no início da antese, os protocolos utilizados para a viabilidade e capacidade de germinação devem ser comparados com testes com pólen fresco e *in vivo*, possibilitando a avaliação e comparação das taxas de viabilidade e germinação de forma mais concisa.

O pólen deve apresentar elevado potencial de germinação quando em contato com o estigma, tendo em vista que as células reprodutivas do estigma apresentam capacidade de resposta curta, que dura de um a dois dias (SERRANO et al., 2008). Um declínio na taxa de viabilidade do pólen pode reduzir muito a eficácia da fertilização e influenciar negativamente a produção de frutos e sementes (ACAR; KAKANI, 2010).

A ação das lectinas CPL e ConA na estimulação da emissão do tubo polínico se deve à propriedade destas proteínas glicoconjugadas no reconhecimento celular. Quando em contato com a superfície do estigma os grãos de pólen são ativados e são reidratados, projetando seu tubo para baixo sobre o estigma e estilete em direção ao ovário, com posterior fertilização (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002).

As lectinas de leguminosas, a exemplo de CPL e ConA, são as mais estudadas e se caracterizam por apresentar alta homologia, principalmente em relação ao sítio de ligação ao carboidrato presente na superfície celular, fato fundamental na ativação dos processos biológicos mediados por estas proteínas. Lectinas que pertencem ao mesmo grupo podem exibir especificidade anomérica, interagindo com o anômero  $\alpha$ , ou com o anômero  $\beta$  do monossacarídeo. Variações na posição C-2 no monossacarídeo podem ser toleradas por algumas lectinas (exemplo, lectinas específicas para a manose podem interagir com a glucose e com a N-acetilglucosamina). Esses compostos apresentam ativação de sua estrutura quaternária pela presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ , que estão presentes nas lectinas das leguminosas (SHARON; LIS, 1990; POVINELI; FINARDI FILHO, 2002; CRUZ et al., 2005; CHEVREUIL et al., 2007; FERNANDES et al., 2011).

Essas características moleculares apontam a atividade metabólica positiva das lectinas CPL e ConA na formação de tubos polínicos submetidos à germinação *in vitro* em meio de cultura contendo sacarose, com função energética e de reconhecimento, bem como pela presença de cátion  $\text{Ca}^{2+}$ , utilizado no meio de cultura.

Matveeva et al. (2007) identificaram a ação de lectinas endógenas e da ConA que atuam sobre a polarização da membrana citoplasmática em grãos de pólen de *Nicotiana tabacum* L. e consequente ativação metabólica e formação dos tubos polínicos, Wan et al. (2008) efetuaram estudos de biologia molecular e destacaram a importância das lectinas RLK (Receptor Like Kinase), do grupo das leguminosas, no desenvolvimento e no metabolismo de grãos de pólen para formação do tubo polínico em *Arabidopsis*. Albrecht et al. (2005); Colcombet et al. (2005); Hord et al. (2006) efetuando estudos mutagênicos, identificaram que estas lectinas (RLK) atuam não somente na germinabilidade, mas têm papel de controlar o desenvolvimento dos grãos de pólen por regular o crescimento do endotécio, lamela média e tapete nas anteras e que uma mutação em genes que traduzem essas lectinas promovem esterilidade masculina.

Com relação a Jacalina (JAC), é sabido que a jaqueira é conhecida por inibir a germinação de sementes de outras plantas, talvez isso seja um efeito reflexo da JAC sobre as sementes desses grupos vegetais, tendo em vista que essas lectinas estão presentes em raízes e sementes, podendo apresentar atividade exógena (PERDOMO; MAGALHAES, 2007).

A JAC pode ter apresentado atividade inibitória, em ambas as concentrações, sobre a germinabilidade dos grãos de pólen de *E. guineensis* por possuir estrutura formada de associações covalentes de monômeros idênticos, que assumem forma de prisma e apresenta diversidade estrutural, resultando em uma variação de número e distribuição espacial de seus constituintes e ligantes (SOL et al., 2006).

SOL et al. (2006) afirmaram que se desconhece a função e disposição dos locais de união com carboidratos, desse tipo de lectina (JAC). Desta forma, esta estrutura prismática radial pode ter ocasionado inibição com fechamento de canais iônicos, pois apresentam arquitetura molecular semelhante a lectinas de defesa celular tanto de organismos animais quanto vegetais.

Além disso, Hanna et al. (2007; 2008) verificaram que a JAC sofre glicosilação por moléculas formadas por ligações glicosídicas do tipo beta, a exemplo da  $\beta$ -metil-D-galactose e sofre inibição quase que total por moléculas com ligações do tipo alfa,  $\alpha$ -metil-D-galactose. A sacarose utilizada no meio de cultura deve ter promovido inibição da JAC, por possuir ligação glicosídica do tipo  $\alpha$ 1-2 entre D-glicose e D-frutose. Estas moléculas diferem da galactose apenas pela posição do grupo funcional hidroxila.

Estudos voltados ao uso de lectinas associadas à germinabilidade de pólen podem resultar na melhoria de algumas plantas de interesse econômico, uma vez que as lectinas podem ser usadas de modo a aumentar a germinação de pólen no estigma e, conseqüentemente, elevar as taxas de fertilização, ocasionando aumento na produção de frutos e sementes.

Assim, para cada espécie de planta a ser testada existe uma concentração ideal a ser adicionada a um meio de cultura para germinação *in vitro*. Esse conhecimento pode até ser de utilidade no auxílio de polinização agrícola, ou para produção de híbridos em estudos de biologia reprodutiva, propiciando cruzamentos interespecíficos e intergenéricos.

Baseado nos aspectos morfofisiológicos, os grãos de pólen de dendezeiro podem ser submetidos à germinação em meio com lectinas, tendo em vista que favorecem altas taxas de germinação. Por sua vez, deve ser precedida da escolha do tipo de lectina e da concentração apropriada.

## 2.5 REFERÊNCIAS

ACAR, I.; KAKANI, V. G. The effects of temperature on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of *Pistacia* spp. **Scientia Horticulturae**, v. 125, p. 569-572, 2010.

AIRES, E. R. B.; FREITAS, B. M. Caracterização palinológica de algumas amostras de mel do estado do Ceará. **Ciência Agronômica**, v. 32, p. 22-29, 2001.

ALBRECHT, C.; RUSSINOVA, E.; HECHT, V.; BAAIJENS, E.; VRIES, S. de. The *Arabidopsis thaliana* somatic embryogenesis Receptor-Like Kinases 1 and 2 control male sporogenesis. **Plant Cell**, v. 17, n. 12, p. 3337- 3349, 2005.

CARPES, S. T.; BEGNINI, R.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1818-1825, 2007.

CARVALHO, H. F. Aspectos moleculares e biológicos das lectinas. **Ciência e Cultura**, v. 42, p. 884-893, 1990.

CHEVREUIL, L. R.; PANDO, S. C.; NINA JUNIOR, A. R.; BARIANI, A.; GONÇALVES, J. F. C.; SANTOS, A. L. W. Atividade de proteínas hemaglutinantes em sementes de leguminosas arbóreas da flora amazônica. **Revista Brasileira de Neurociências**, v. 5, n. 2, p. 1020-1022, 2007.

CHIA, G. S.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; ROCHA, R. N. C. Germinação *in vitro* de pólen de híbridos interespecíficos entre o caiúê e o dendezeiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1569-1571, 2009.

COLCOMBET, J.; BOISSON-DERNIER, A.; ROS-PALAU, R.; VERA, C. E.; SCHROEDER, J. I. Arabidopsis somatic embryogenesis receptor kinases1 and 2 are essential for tapetum development and microspore maturation. **Plant Cell**, v. 17, p. 3350-3361, 2005.

CRUZ, P. H.; CAMPOS, E. P.; MARTÍNEZ, L. M.; ORTIZ, B.; MARTÍNEZ, G. Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína-carbohidrato. **Revista de Educación Bioquímica**, v. 24, n. 1, p. 21-27, 2005.

EDLUND, A. F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. **Plant Cell**, v. 16, p. 84-97. 2004.

- FAN, L.; WANG, Y.; WANG, H.; WU, W. *In vitro Arabidopsis* pollen germination and characterization of the inward potassium currents in *Arabidopsis* pollen grain protoplasts. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 361, p. 1603-1614, 2001.
- FERNANDES, A. V.; RAMOS, M. V.; GONÇALVES, J. F. C.; MARANHÃO, P. A. C.; CHEVREUIL, L. R.; SOUZA, L. A. G. Seeds of Amazonian Fabaceae as a source of new lectins. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 3, p. 237-244, 2011.
- FERRARI, T. E.; BRUNS, D.; WALLECE, D. H. Isolation of plant glycoprotein involved with the control on intercellular recognition. **Plant Physiology**, v. 67, p. 270-277, 1981.
- FERRI, A.; GIORDANI, E.; PADULA, G.; BELLINI, E. Viability and *in vitro* germinability of pollen grains of olive cultivars and advanced selections obtained in Italy. **Advances in Horticultural Science**, v. 22, p. 116-122, 2008.
- FRANZON, M. R. C.; RASEIRA, M. C. B.; JÚNIOR, A. W. Germinação *in vitro* de pólen de guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* BERG). **Ceres**, v. 53, n. 305, p. 129-134, 2008.
- GARCÍA-HOYOS, A.; SÁNCHEZ-ROBLES, J.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, L. A. Y.; LEÓN-GONZÁLEZ, F. de. Reproducción sexual e influência de substratos en el desarrollo de *Malpighia glabra* L. (MALPIGHIACEAE). **Polibotánica**, v. 32, p. 119-133, 2011.
- GRUBHOFFER, L.; KOVAR, V.; RUDENKO, N. Tick lectins: structural and functional properties. **Parasitology**, v. 129, p. S113-S125, 2004.
- GUIMARÃES, C. A. L.; MATTOS, L. A. **Piaçava da Bahia (*Attalea funifera* Martius): Do extrativismo à cultura agrícola**. Ilhéus, Editus. 2012, 262p.
- HANNA, E. S.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; BERNARDES, E. S.; PANUNTO-CASTELO, A.; SOUSA, M. V.; ALMEIDA, I. C.; BROCCHI, M. Evidence for glycosylation on a DNA-binding protein of *Salmonella enterica*. **Microbial Cell Factories**, v. 6, n. 11, 2007.
- HANNA, E. S.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; MENDES, G. M. T.; SOARES, S. G.; BROCCHI, M. Cloning, expression and purification of a glycosylated form of the DNA-binding protein Dps from *Salmonella enterica* Typhimurium. **Protein Expression and Purification**, v. 59, n. 2, p. 203-214, 2008.

HORD, C. L.; CHEN, C.; DEYOUNG, B. J.; CLARK, S. E.; MA, H. The BAM1/BAM2 Receptor-Like Kinases are important regulators of *Arabidopsis* early anther development. **Plant Cell**, v. 18, n. 7, p. 1667-1680, 2006.

KAKANI, V. G.; REDDY, K. R.; KOTI, S.; WALLACE, T. P.; PRASAD, P. V. V.; REDDY, V. R.; ZHAO, D. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. **Annals of Botany**, v. 96, p. 59-67, 2005.

KEARS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot, University Press of Colorado, 1993, 583p.

LI, L. C.; COSGROVE, D. J. Grass Group I pollen allergens ( $\beta$ -Expansins) lack proteinase activity and do not cause wall loosening via proteolysis. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, p. 4217-4226, 2001.

MA, L. G.; FAN, Q. S.; YU, Z. Q.; ZHOU, H. L.; ZHANG, F. S.; SUN, D. Y. Does aluminum inhibit pollen germination via extracellular calmodulin? **Plant and Cell Physiology**, v. 41, n. 3, p. 372-376, 2000.

MARGHITAS, L. A.; STANCIU, O. G.; DEZMIREAN, D. S. *In vitro* antioxidant capacity of honeybee collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. **Food Chemistry**, v. 115, p. 878-883, 2009.

MATVEEVA, N. P.; ANDREYUK, D. S.; LASAREVA, E. A.; ERMAKOV, I. P. The Effect of Concanavalin A on membrane potential and intracellular pH during activation *in vitro* of Tobacco pollen grains. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 51, n. 4, p. 494-499, 2004.

MATVEEVA, N. P.; LAZAREVA, E. A.; KLYUSHNIK, T. P.; ZOZULYA, S. A.; ERMAKOV, I. P. Lectins of the *Nicotiana tabacum* pollen grain walls stimulating *in vitro* pollen germination. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 54, n. 5, p. 619-625, 2007.

MORETI, A. C. de C. C.; CARVALHO, C. A. L. de; MARCHINI, L. C.; OLIVEIRA, P. C. F. de. Espectro polínico de amostras de mel de *Apis mellifera* L., coletadas na Bahia. **Bragantia**, v. 59, p. 1-6, 2000.

PERDOMO, M.; MAGALHÃES, L. M. S. Ação alelopática da jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*) em laboratório. **Floresta e Ambiente**, v. 14, n. 1, p. 52-55, 2007.

- POVINELI, K. L.; FINARDI FILHO, F. The multiple functions of plant lectins. *Nutrire*; **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 135-156, 2002.
- RAMALHO, M. R.; SILVA, M. D. S.; CARVALHO, C. A. L. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 38-45, 2007.
- RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de preparation des grains des pollen fragiles. **Adansonia**, Ser. v. 2, n. 11, p. 77-79, 1971.
- REGO, E. J. L.; CARVALHO, D. D.; MARANGONI, S.; OLIVEIRA, B.; NOVELLO, J. C. Lectins from seeds of *Crotalaria pallida* (smooth rattlexbox). **Journal Phytochemical**, v. 60, n. 5, p. 441-446, 2002.
- RUDIGER, H.; GABIUS, H. J. Plant Lectins: Occurrence, Biochemistry, Functions and Application. **Glycoconjugate**, v. 18, p. 589-613, 2001.
- SALLES, L. A.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SILVA, A. B. da. Sacarose e pH na germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 170-174, 2006.
- SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DALL'AGNOL, M. Autoincompatibilidade em plantas. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1083-1090, 2002.
- SERRANO, I.; SUÁREZ, C.; OLMEDILLA, A.; RAPOPORT, H. F.; RODRÍGUEZ-GÁRCIA, M. I. Structural organization and cytochemical features of the pistil in olive (*Olea europaea* L.) var. Picual at anthesis. **Sexual Plant Reproduction**, v. 21, n. 2, p. 99-111, 2008.
- SHARON, N.; LIS, H. Legume lectins - A large family of homologous proteins. **FASEB Journal**, v. 4, n. 3, p. 198-208, 1990.
- SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: From hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, p. 53R-62R, 2004.
- SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **World congress on computers in agriculture**, Reno, American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

- SOL, F. G.; NAGANO, C. S.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H.; SANZ, L.; CALVETE, J. J. Lectinas. **Investigación y Ciencia**, v. 361, p. 58-67, 2006.
- SORKHEH, K.; SHIRAN, B.; ROUHI, V.; KHODAMBASHI, M.; WOLUKAU, J. N.; ERCISLI, S. Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of almond (*Prunus dulcis* Mill.) to temperature, polyamines and polyamine synthesis inhibitor. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, p. 749-757, 2011.
- SOUSA, A. S.; SANTOS, F. A. R.; REGO, E. J. L. Viability and Action of CPL lectin on *in vitro* germinability of pollen grains of *Malpighia emarginata* DC. (Malpighiaceae). **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 53-58, 2013.
- SOUTHWORTH, D. Lectins stimulate pollen germination. **Nature**, v. 258, p. 600-602, 1975.
- SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; BRANCALLEÃO, N.; LEDO, C. A. S.; MARTINELLI, A. P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. **Euphytica**, v. 44, p. 37-42, 2014.
- VIANNA, M. R.; MARCO JUNIOR, P. de; CAMPOS, L. A. O. Manejo de polinizadores e o incremento da produtividade agrícola: Uma abordagem sustentável dos serviços do ecossistema. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 144-147, 2007.
- WAN, J.; PATEL, A.; MATHIEU, M.; KIM, S.; XU, D.; STACEY, G. A lectin receptor-like kinase is required for pollen development in *Arabidopsis*. **Plant Molecular Biology**, v. 67, p. 469-48, 2008.
- WOLTERS-ARTS, M.; LUSH, W. M.; MARIANI, C. Lipids are required for directional pollen-tube growth. **Nature**, v. 392, p. 818-821, 1998.
- ZHANG, J.; LIU, J.; CHEN, Z.; LIN, J. *In vitro* germination and growth of lily pollen tubes is affected by calcium inhibitor with reference to calcium distribution. **Flora**, v. 202, p. 581-588, 2007.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fica evidente, com os resultados deste trabalho, a necessidade de se avaliar de forma peculiar o método de preparação de meios de germinação *in vitro*, de forma que atendam às necessidades metabólicas dos grãos de pólen de *E. guineensis*, propiciando taxas de germinação próximas do que ocorre *in vivo* ou até mesmo mais altas. Deste modo, os resultados de germinabilidade *in vitro* podem ser utilizados como parâmetros de avaliação de germoplasma em pesquisas de biologia reprodutiva e melhoramento de plantas.

No que se refere ao uso de lectinas, poucos trabalhos têm sido publicados sobre suas atividades metabólicas e suas interações bioquímicas. Portanto, mais dados são necessários para completar o mosaico de conhecimento das suas propriedades estruturais e funcionais. O presente estudo discute as implicações de interações bioquímicas na germinabilidade polínica, tendo em vista que já era evidente a influência das lectinas no processo de formação dos tubos polínicos.

Pesquisas com lectinas associadas à biotecnologia de pólen podem influenciar na melhoria de algumas plantas de interesse econômico, uma vez que as lectinas podem ser usadas de modo a aumentar a germinação de pólen no estigma. Este tipo de estudo gera resultados que podem ser usados em biologia reprodutiva, de modo a aumentar a germinação de pólen no estigma e, conseqüentemente, aumentar a produção de frutos e sementes. No entanto é preciso mais estudos, não só de cada cultura, como também para cada lectina comercial que possa ser usada para esta finalidade.

Além disso, o uso de lectinas em programas melhoramento genético, pode auxiliar e propiciar cruzamentos interespecíficos e intergenéricos eficazes, promovendo a geração de híbridos com características de introgressão de genes associados à produtividade ou à defesa contra pragas e doenças.