

VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN EM  
VARIEDADES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)  
POLLEN GRAIN VIABILITY IN RICE VARIETIES  
(*Oryza sativa* L.)

NUBLEA TERESA FELKL MANARA \*

RESUMO

Foram realizados estudos referentes a coloração, medições de diâmetro e germinação em meio de cultura, para avaliar a viabilidade dos grãos de pólen de 7 variedades de arroz cultivadas no Estado do Rio Grande do Sul e 11 introduções.

Pelo teste da coloração, todas as variedades mostraram-se semelhantes e com alta viabilidade dos grãos de pólen. Não houve relação entre o diâmetro e a porcentagem de grãos de pólen coloridos.

Não foi conseguida a germinação dos grãos de pólen, possivelmente, devido a deficiências dos meios de cultura utilizados.

SUMMARY

Pollen viability was studied in 7 cultivated rice varieties plus 11 introductions, in Rio Grande do Sul, by staining, diameter measurement and germination in artificial media.

All varieties had similar and high pollen viability when staining was used. No relations between diameter and number of stained pollen grains were observed and pollen did not germinate in artificial media, probably due to deficiencies of the artificial medias used.

INTRODUÇÃO

A maior parte dos trabalhos sobre citologia e citogenética do arroz foi realizado na Ásia (DUARTE 5). Estudos pioneiros neste campo foram publicados por KUWADA (12).

No Brasil, apesar de reconhecida a importância de conhecimentos citogenéticos em trabalhos de genética e melhoramento, o volume de estudos existentes sobre tais aspectos, em arroz, é reduzido.

É por demais evidente a importância que a fertilidade do pólen apresenta para trabalhos de hibridação artificial. A esterilidade do pólen ou mesmo a baixa fertilidade dos indivíduos utilizados como progenitores masculinos, são fatores extremamente negativos quando se tem em mente programas de hibridação artificial ou autofecundações.

A esterilidade do pólen tem sido interpretada com base em um simples gene recessivo, *s* (RAMANUJAN, 18) ou genes recessivos duplicados, no caso de uma linhagem assináptica (RAMANUJAN & PARTHASARATHY, 19).

\* Professora Assistente do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais — UFSM.

O completo abortamento dos grãos de pólen, pode ser o resultado da assínapse dos cromossomos na meiose. Segundo CHANG (4), plantas de arroz, assínápticas, têm sido encontradas na natureza e entre progênies irradiadas com raios X. A meiose destas plantas é completamente anormal, levando a distribuição irregular dos cromossomos e consequentemente a inviabilidade dos grãos de pólen.

Plantas assínápticas encontradas por RAMANUJAN & PARTHASARATHY (19) e JONES & LONGLEY (10), produziram panículas altamente estéreis.

A porcentagem de pólen viável, em linhas normalmente férteis, pode também baixar devido a condições ambientais adversas. Alguns dos fatores conhecidos como responsáveis por baixar a fertilidade do pólen são: baixas temperaturas do ar e da água, alta umidade ou excessivas chuvas na floração, baixa intensidade luminosa, fotoperíodo curto, seca e fertilização nitrogenada. (KUANG & TU 11).

O pólen de arroz pode germinar em temperatura variando entre 10° a 60° C; a temperatura ótima para a germinação do pólen é de 31°-32° C. Os requerimentos em temperatura para o crescimento do tubo polínico são semelhantes, sendo os limites mínimo e máximo de 10° e 50° C, e o ótimo de 30° C. Extremos de umidade atmosférica são desfavoráveis para a germinação dos grãos de pólen. A escuridão baixa a germinação dos grãos de pólen, mas não tem influência sobre a extensão do tubo polínico (NOGUCHI, 1933 apud CHANDRANATHA 3).

WALLACE & KARBASSI (22) referem-se a dificuldade para a germinação de grãos de pólen de gramíneas, em meio artificial. Sucessos, porém, têm sido obtidos por alguns autores em algumas gramíneas como *Zea mays* (BAIR & LOOMIS, 1; BREWBAKER & KWACK, 2 e PFAHLER 17); *Secale cereale* (PFAHLER, 16); *Triticum vulgare* (SEN & VERMA, 20) e *Pennisetum thyphoideum*. (VASIL, 21). A germinação dos grãos de pólen em meio artificial parece ser maior para espécies de polinização cruzada do que para espécies de autofecundação. Isto, segundo WALLACE & KARBASSI (22), pode indicar que o pólen de gramíneas de autopolinização é mais sensível a trocas em seu ambiente ou, por outro lado, pode refletir a maior facilidade de coletar pólen de espécies de polinização cruzada.

Os grãos de pólen quando submetidos a corantes tais como, carmim acético a 2% (FELDMAN 6 e LUZ et alii 14), azul de lactofenol (HOLDEN 8), geléia de carmim e glicerina (HASKELL & WILLS 7), além de outros, se colorem ou não. Segundo HASKELL & WILLS (7) são considerados viáveis os grãos de pólen que se colorem e inviáveis os que não se colorem. YAO et alii (23) utilizaram a coloração dos grãos de pólen por uma solução de iodeto de potássio como índice da viabilidade do pólen em híbridos de arroz. MENDES (15), estudando grãos de pólen de café, considerou "normais" os grãos de pólen coloridos e "anormais" os grãos que não se coloriram.

Levando-se em conta a falta de conhecimentos citogenéticos das variedades de arroz, no Brasil, o presente trabalho tem por objetivo verificar a viabilidade dos grãos de pólen de variedades do Estado do Rio Grande do Sul e de variedades há pouco introduzidas no Estado.

#### MATERIAL E MÉTODOS:

Foram estudadas 7 variedades de arroz cultivadas no Estado do Rio Grande do Sul e 11 variedades introduzidas de outros países. A denominação e a procedência das variedades estudadas são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 — Variedades de arroz utilizadas para o estudo da viabilidade dos grãos de pólen.

VARIEDADE	PROCEDÊNCIA
EEA — 201	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
EEA — 301	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
EEA — 404	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
EEA — 405	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
EEA — 406	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
Japones chumbo	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
Seleção 388	Estação Experimental do Arroz - RS. Brasil
Chiannung	International Rice Research Institut - Filipinas
Dodgya 6-2-2	Estação Agronômica Nacional - Portugal
Fujiminori	Laboratory of Radiation Genetics — Japão
Fukey 71	Laboratory of Radiation Genetics — Japão
IR 8	International Rice Research Institut - Filipinas
Peta	International Rice Research Institut - Filipinas
Reimei	Laboratory of Radiation Genetics — Japão
Taichung N 1	International Rice Research Institut - Filipinas
Tainan 3	International Rice Research Institut - Filipinas
Vary lava 014 A	Estação Agronômica Nacional — Portugal
Vary lava vola 069 A	Estação Agronômica Nacional — Portugal

A coleta de panículas, para os estudos da viabilidade do pólen, foi efetuada em 10 plantas, ao acaso, da coleção de variedades de arroz do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

Realizou-se estudos referentes a coloração, medições de diâmetro e germinação de grãos de pólen em meio de cultura.

Para avaliar a viabilidade dos grãos de pólen pelo método da coloração e medições do diâmetro, foram preparadas lâminas com grãos de pólen, recém coletados, de panículas que apresentavam as anteras pendentes nas flores superiores. Foi utilizado como corante o carmin acético a 2%, segundo a técnica de FELDMAN (6). Foram feitas 10 lâminas de cada variedade sendo contados 3.485 a 15.558 grãos de pólen, de cada variedade, dependendo da quantidade obtida.

As contagens de grãos de pólen coloridos e incolores foram feitas em 10 campos por lâmina, em microscópio com objetiva de 10 X.

Para cada uma das variedades em estudo, foram feitas medições do diâmetro de 100 grãos de pólen coloridos e 10 grãos de pólen incolores. O menor número de grãos de pólen incolores medidos foi devido a estes aparecerem com menor frequência. As medições foram realizadas utilizando-se uma ocular micrométrica OKNOR da Leitz, com objetiva de 10 X.

Nos testes de germinação de grãos de pólen, usaram-se 2 meios de cultura (HASKELL & WILLS 7 e HOLDEN 8). O pólen maduro foi semeado sobre as lâminas contendo os meios de cultura, sendo estas colocadas em câmara úmida, dentro de placas de Petri. Foram usadas 3 repetições, em cada meio de cultura, para cada variedade. A temperatura ambiente variou entre 12,9° e 35,5° C, por falta de condições apropriadas para controle. A coloração das lâminas foi feita com o mesmo corante utilizado no teste anterior. O material foi examinado após 4, 8 e 24 horas, para a contagem de grãos de pólen germinados.

## RESULTADOS

Os resultados das observações realizadas são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Porcentagem de coloração e medições de diâmetro dos grãos de polen das variedades de arroz.

Variedades	Nº de grãos de polen	Grãos de polen coloridos %	Variação em diâmetro dos grãos de polen (u)		Média do diâmetro dos grãos de polen (u)	
			coloridos	incoloros	coloridos	incoloros
EEA - 201	7.361	96,82	34-52	29-41	41,1 ± 0,29	35,9 ± 1,26
EEA - 301	6.461	96,44	32-49	26-35	40,2 ± 0,35	29,6 ± 1,70
EEA - 404	7.148	96,50	28-50	27-36	40,1 ± 0,47	32,1 ± 0,95
EEA - 405	3.485	96,30	28-52	29-37	40,3 ± 0,43	34,3 ± 0,90
EEA - 406	4.436	96,05	30-54	29-34	40,5 ± 0,43	31,3 ± 0,58
Japones chumbo	3.665	97,76	21-55	26-34	40,1 ± 0,58	31,4 ± 0,78
Seleção 388	4.745	98,90	29-49	27-37	39,2 ± 0,42	33,5 ± 0,88
Chianmung 242	8.539	98,41	33-48	27-37	42,5 ± 0,31	32,8 ± 1,04
Doçgya 6-2-2	14.956	99,02	30-46	22-37	40,3 ± 0,27	31,1 ± 1,60
Fujiminori	8.681	98,37	33-46	28-40	39,6 ± 0,32	33,0 ± 1,46
Fukey	7.619	99,14	32-51	28-41	41,0 ± 0,45	34,2 ± 1,44
IR 8	11.903	97,61	32-50	22-36	41,8 ± 0,34	30,0 ± 1,44
Peta	7.963	98,53	33-44	28-38	39,2 ± 0,28	32,3 ± 1,19
Reimei	8.611	98,73	34-54	34-42	43,3 ± 0,30	38,3 ± 0,76
Taichung N 1	8.088	97,19	29-37	29-43	41,0 ± 0,33	36,7 ± 1,43
Tainan 3	10.963	98,01	32-45	22-34	41,0 ± 0,20	29,3 ± 1,76
Vary lava 014 A	15.558	98,34	29-48	28-34	39,0 ± 0,32	30,6 ± 0,72
Vary lava vola 069 A	13.175	93,87	32-48	24-36	39,4 ± 0,31	30,7 ± 1,03

Analisando-se a tabela 2, pode-se constatar que a porcentagem de coloração foi superior a 90 para todas as variedades estudadas.

O diâmetro dos grãos de pólen coloridos, em média, foi sempre maior do que o diâmetro dos grãos de pólen incolores. A amplitude de variação em diâmetro, também foi maior para os grãos de pólen coloridos.

Não foi observada relação entre o diâmetro e a porcentagem de grãos de pólen coloridos.

Durante as medições do diâmetro dos grãos de pólen, observou-se que, em geral, os grãos de pólen coloridos apresentaram-se esféricos enquanto que os incolores mostraram-se alongados.

A germinação dos grãos de pólen em meio de cultura não foi obtida, apesar das várias tentativas feitas, com ambos os meios utilizados.

## DISCUSSÃO

A alta porcentagem de grãos de pólen coloridos observada, indica alta viabilidade do pólen de todas as variedades. A viabilidade do pólen superior a 90%, parece refletir meiose altamente regular e um índice meiótico também superior a 90%. Variedades de trigo possuindo índice meiótico superior a 90% foram consideradas por LOVE (13), como estáveis, não trazendo problemas para o fitotecnista. Aplicando-se às variedades de arroz estudadas as conclusões de LOVE (13), para trigo, parece possível considerá-las igualmente estáveis.

Admitindo-se que pelo teste da coloração pode-se obter um índice da viabilidade dos grãos de pólen, conforme YAO et alii (23) e HASKELL & WILLS (7), e comparando-o com os resultados de medições do diâmetro concluiu-se que os últimos dados não apresentaram relação direta com a viabilidade. Portanto, sugere-se que somente o diâmetro dos grãos de pólen não deve ser usado como característica indicadora da viabilidade, em arroz.

A falta de relação entre o diâmetro e a porcentagem de grãos de pólen coloridos evidenciou que ocorreram diferenças de variedade para variedade, além daquela existente dentro de cada variedade quanto ao diâmetro dos grãos de pólen. Isto foi facilmente constatado observando-se que as variedades Seleção 388 e Fukey 71, as quais deram maior porcentagem de grãos de pólen colorido, ficaram respectivamente em 7.º e 6.º lugares quanto a média em diâmetro. O diâmetro dos grãos de pólen, portanto, também não serviu como característica para a identificação das variedades.

A não germinação dos grãos de pólen em meio de cultura, poderia ser atribuída às seguintes causas:

- a) Dificuldades inerentes a germinação dos grãos de pólen de gramineas e principalmente de espécies de autofecundação, segundo WALLACE & KARBASSI (22).
- b) Deficiência dos meios de cultura utilizados, uma vez que, segundo HASKELL & WILLS (7), os grãos de pólen deveriam germinar, normalmente, dentro de 4 horas.

JOHRI & VASIL (9) concluíram que as exigências de meio para a germinação *in vitro*, variam consideravelmente dependendo das espécies envolvidas. Enquanto a água destilada ou um meio simples de sacarose promoveu excelente germinação e crescimento do tubo polínico em algumas espécies, para outras a presença de substâncias

adicionais foi absolutamente necessário. PFAHLER (17), trabalhando com milho, observou que acrescentando ao meio de cultura uma combinação de 0,03g de nitrato de cálcio e 0,001g de ácido bórico obtinha maior germinação e os tubos polínicos cresciam mais.

c) Falta de controle da temperatura, considerando que não foi possível obter-se a temperatura ótima constante que, segundo NOGUCHI, 1933 (apud CHANDRARATNA 3) varia entre 31° e 32° C. No entanto, considerando-se a variação de temperatura utilizada e a variação de temperatura dentro da qual o pólen de arroz germina, deduz-se que este não foi um fator de capital importância no presente trabalho.

Em resumo, a deficiência dos meios de cultura utilizados parece ser a melhor explicação para a não germinação dos grãos de pólen, uma vez que as dificuldades inerentes a germinação dos grãos de pólen de gramíneas podem ser, em parte, explicadas por este fator.

### CONCLUSÕES

Nos estudos realizados com grãos de pólen de variedades de arroz chegou-se às seguintes conclusões:

1. Pelo teste da coloração, todas as variedades estudadas apresentaram-se semelhantes e com alta viabilidade dos grãos de pólen.

2. Não houve relação entre o diâmetro e a porcentagem dos grãos de pólen coloridos.

3. Não foi conseguida a germinação dos grãos de pólen, provavelmente devido a deficiência dos meios de cultura utilizados.

### LITERATURA CITADA

- 1 — BAIR, R.A. & LOOMIS, W.E. — The germination of maize pollen. *Science*, 94: 168-169, 1941.
- 2 — BREWBAKER, J.L. & KWACK, B.K. — Essential role of calcium ion on pollen germination and pollen tube growth. *Amer. Jour. Bot.*, 50: 859-865, 1963.
- 3 — CHANDRARATNA, M.F. — **Genetics and Breeding of Rice**. Longsman, Green and Co. Ltd., London, 1964, 389 p.
- 4 — CHANG, TE-Tzu — Present knowledge of rice genetics and cytogenetics. *Tech. Bull.*, 1, IRRRI, Philippines, 1964.
- 5 — DUARTE, L.S.N. — Comportamento cromossômico de algumas variedades de arroz (*Oryza sativa* L.). *Pesquisas Agropecuárias brasileiras*, 1: 263-268, 1966.
- 6 — FELDMAN, M. — Fertility of interspecific F1 hybrid and hybrid derivatives involving tetraploid species of *Aegilops* section *Pleionathera*. *Evolution*, 19 (4): 556-562, 1965.
- 7 — HASKELL, G. & WILLS, A.B. — **Primer of chromosomes**. Oliver and Boyd, London, 1968, 180 p.
- 8 — HOLDEN, J.H.W. — Species relationships in *Avenae*. *Chromosome*, 20: 75-124, 1966.
- 9 — JOHRI, B.M. & VASIL, I.K. — Physiology of pollen. *Bot. Rev.*, 27: 325-381, 1961.

- 10 — JONES, J.W. & LONGLEY, A.E. — Sterility and aberrant chromosome number in Caloro and other varieties of rice. *Jour. Agr. Res.*, 62: 381-399, 1941.
- 11 — KUANG, H.H. & TU, D.S. — Studies on the fertile percentage in varietal crosses of rice hybrids. *Agron. Jour.*, 23: 190, 1935.
- 12 — KUWADA, Y. — A cytological study of *Oryza sativa* L. *Bot. Mag.*, 24: 267-281, 1910.
- 13 — LOVE, R.M. — Estudos citológicos preliminares de trigos Rio-grandenses. Circ. n.º 74, Secção de Informações e Publicidade Agrícola, S.A., Porto Alegre, 1949.
- 14 — LUZ, N.K., GUIMARÃES, F.F. & DULL, V.F. — Estudos sobre a fertilidade do pólen de batata americana (*Solanum tuberosa* L.). *Agronomia Sulriograndense*, III (1): 17-22, 1958.
- 15 — MENDES, A.J.T. — Observações citológicas em *Coffea*. XII — Uma nova forma tetraplóide. *Bragantia*, 9 (1-4): 25-34, 1949.
- 16 — PFAHLER, P.L. — “In vitro” germination of rye (*Secale cereale* L.) pollen. *Crop. Sc.*, 5: 587-598, 1965.
- 17 — ——— — “In vitro” germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen. I. Calcium and boron effects. *Can. Jour. Bot.*, 45: 839-845, 1967.
- 18 — RAMANUJAN, S. — Male sterility in rice. *Madras Agric. Jour.*, 23: 190, 1935.
- 19 — ——— & PARTHASARATHY, N. — An asynaptic mutant in rice. *Proc. Ind. Acad. Sci. Sect. B*, 2: 80-87, 1935.
- 20 — SEN, B. & VERMA, G. — Studies on the pollen grain of crops plants. Maize (*Zea mays* L.) III. Effects of boron in combination with phenoxy compounds, starch and of water extracts of pollen grains on elongation of pollen tubes. *Proc. 45th. Ind. Sci. Congr. part IV*: 33-34, 1958.
- 21 — VASIL, I.K. — Pollen germination in some Gramineae: *Pennisetum thyphoideum*. *Nature*, 187: 1134-1135, 1960.
- 22 — WALLACE, A.T. & KARBASSI, P. — Germination of oat (*Avena byzantina* C. Koch.) pollen on artificial media. *Crop Sci.*, 8 (4): 506-507, 1968.
- 23 — YAO, S.Y., HENDERSON, M.T. & YODON, N.E. — Cryptic structural hybridity as a probable cause of sterility in intervarietal hybrids of cultivated rice, *Oryza sativa* L. *Cytologia*, 23: 46-55, 1958.